

## **Estudo *in silico* de sítios de restrição enzimática de genes da proteína capsidial e análise de diversidade genética de *Apple chlorotic leaf spot virus* em fruteiras de semente e caroço**

Elisandra Triches da Cunha<sup>1</sup>; Osmar Nickel<sup>2</sup>; Thor Vinícius Martins Fajardo<sup>2</sup>

Cultivares comerciais de macieiras são infectadas por 3 espécies principais de vírus: *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV), *Apple stem grooving virus* (ASGV) e *Apple stem pitting virus* (ASPV), geralmente em infecções complexas. O objetivo do estudo foi caracterizar a diversidade genética de genes da proteína capsidial (CP) de isolados de ACLSV. O estudo *in silico* de sítios de restrição enzimática, princípio da técnica de *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), foi conduzido visando-se caracterizar isolados virais de ocorrência regional em fruteiras de caroço e semente. Esta caracterização de CPs permite a estimativa da distância genética e o agrupamento entre isolados, contribuindo com a caracterização biológica. Foram incluídos na análise isolados de nectarineira cv. Armking (Vacaria, RS) e de macieiras de várias origens. Os fragmentos de DNA contendo os genes da CP do ACLSV, com 582 nucleotídeos (nt), foram previamente amplificados a partir de RNA total extraído com o kit "RNeasy Plant Mini" (Qiagen). Na RT-PCR foram utilizados os pares de oligonucleotídeos 7365r (5'CTAAATGCAAAGATCAGTCGAC3') e 6784s (5'ATGGCAGCAGTTCTGAATTTG3'). Os fragmentos de DNA foram eluídos do gel, clonados e os plasmídeos recombinantes foram sequenciados. As sequências obtidas, juntamente com aquelas de outros isolados disponíveis no Genbank, foram utilizadas para obter perfis de restrição enzimática virtuais com as enzimas Apol, Bccl, EcoRI e HindIII no software pDRAW32, originando uma matriz binária a partir da qual foi construída uma matriz de distância genética com o software MEGA 6.0 (UPGMA). A análise dos fragmentos de restrição indicou grande variabilidade genética e a formação de dois grupos: Grupo A, incluindo os isolados M232, Fuji Select, Nectarina Armking e o isolado tipo (GenBank NC\_001409) e Grupo B, incluindo os isolados M228, M230, Fuji Suprema e o isolado brasileiro de ACLSV, BR1 (EF138602). Os Grupos A e B apresentaram menores variações de distância genética, 0,21 e 0,13, respectivamente. Os demais isolados do estudo a ex. do M220 (KT183386) se agruparam diferentemente com distâncias genéticas superiores a 0,22.

Apoio financeiro: Embrapa-SEG, MP3, Projeto 03.13.05.007

<sup>1</sup> Graduanda em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS, Bento Gonçalves, RS. Bolsista de Iniciação Científica PIBIC CNPq. E-mail: elis.sweet.rose@hotmail.com

<sup>2</sup> Pesquisadores da Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, CEP 95701-008, Bento Gonçalves, RS. E-mails: osmar.nickel@embrapa.br, thor.fajardo@embrapa.br