

Análise preliminar da diversidade genética do *Papaya meleira virus 2*, PMeV-2

Alfrio Jose da Cruz Neto¹, Eduardo Chumbinho de Andrade², AlessandraSelbachSchnadelbach³, Cristiane de Jesus Barbosa²

¹Estudante de Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: alirioneto@hotmail.com; ²Pesquisador(a) da Embrapa Mandioca e Fruticultura, e-mails: eduardo.andrade@embrapa.br; cristiane.barbosa@embrapa.br; ³Professora da Universidade Federal da Bahia, e-mail: alessandra.schnadelbach@gmail.com

A meleira do mamoeiro é uma das principais viroses que acomete a cultura do mamoeiro no Brasil, principalmente, na região do extremo sul da Bahia, onde está concentrada cerca de 49% da produção nacional. O agente etiológico da meleira é o *Papaya meleira virus* (PMeV), caracterizado por possuir partícula isométrica, e genoma composto por uma molécula de RNA fita dupla (dsRNA) de aproximadamente 8,8 Kb. Os sintomas observados em plantas infectadas são caracterizados por uma exsudação espontânea do látex nos frutos, que oxida, dando o aspecto melado ao fruto. Recentemente, foi identificado um segundo vírus associado a plantas com sintomas de meleira em plantios no Espírito Santo. O vírus, denominado *Papaya meleira virus 2* (PMeV-2), possui genoma de RNA fita simples (ssRNA) com tamanho aproximado de 4,5Kb, encapsidado pela capa protéica do PMeV. O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética preliminar entre nove isolados oriundos do Extremo Sul da Bahia e Rio Grande do Norte com base na sequêncida da proteína de replicação (RdRp). Para isso, foram coletados amostras de látex em plantas sintomáticas para meleira. O RNA total foi extraído do látex utilizando o reagente Qiazol, de acordo com as instruções do fabricante, e ressuspendido em 25µl de água livre de nucleases. O RNA total foi utilizado em reações de transcrição reversa (RT) para síntese da fita de DNA complementar (cDNA). Para a reação de RT foram utilizados 1 µg do RNA total, 1 µl de olinucleotídeos randômicos (50 µg/µg) e 1 µl de dNTP mix (10mM). O RNA foi desnaturado a 95 °C por 3 min e imediatamente resfriado em gelo por 2 min. Em seguida foi adicionado 4µl de MgCl₂ (25mM), 2 µl tampão 10X (500 mM Tris pH 8.3; 750 mM KCL; 50 mM DTT; 30 mM MgCl₂), 2 µl DTT (0,1 M), 1 µl inibidor de RNA (40 U/µL), 1µl M.MLV (200U). As amostras foram incubadas a 25°C por 10min, 42° C por 50 min e 95°C para inativação da enzima. Para reação de PCR foram utilizados 3 µl de oligonucleotídeo específicos para o gene da replicase (PMeV-2 RdRp) (10 µM), 50 µl de mastermix 2x (Ambion), 2,5 µl do cDNA e água para um volume final de 100 µl. Os produtos da amplificação foram visualizados em gel de agarose a 1%. Os fragmentos amplificados foram purificados e sequenciados. As amostras foram comparadas entre si utilizando o programa Clustal W e comparadas com sequências similares no banco de dados (GenBank), utilizando o programa Blastn. As sequências de aminoácidos foram inferidas com auxílio da ferramenta ExpASy. As árvores filogenéticas foram construídas com o Clustal W de acordo com o método de Neighbour-Joining. As análises comparativas das sequências dos nove isolados indicaram um grau de identidade entre as sequências de nucleotídeos de 95 a 99%. Verificaram-se também níveis de identidade variando de 88 a 100% para as sequências de aminoácidos da RdRp. Esses dados ressaltam o alto grau de conservação entre os isolados analisados. Quando comparadas à sequência de aminoácidos da RdRp do *Papaya virus Q* (PpVQ) e *Papaya meleira virus – Mexico* (PMeV-Mx), pertencentes ao gênero Umbravirus, os níveis de homologia variaram de 64-76% e 63-72%, respectivamente. Vale ressaltar que estes resultados são preliminares. Ações estão sendo conduzidas visando o sequenciamento de um maior número de isolados em diferentes áreas produtoras de mamão para estudo satisfatório da diversidade genética do PMeV-2.

Significado e impacto do trabalho: A identificação de um novo vírus associado à meleira do mamoeiro é determinante para o melhor entendimento sobre a doença, aprimoramento dos métodos diagnósticos e controle mais eficiente da meleira.