



**VARIABILIDADE GENÉTICA DE CILEVIRUS DE IMPORTÂNCIA AGRONÔMICA:  
POLIMORFISMO DO EXTREMO 5' DO RNA2 DE PASSION FRUIT GREEN SPOT VIRUS**

Isabela Guarnieri Furiato Garofalo **Leão**<sup>1</sup>; Juliana **Freitas-Astúa**<sup>2</sup>; Pedro L. **Ramos-González**<sup>3</sup>

**Nº 21818**

**RESUMO** – O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá (*Passiflora spp.*). A cultura é atingida pelo definhamento precoce e a pinta verde do maracujazeiro, duas doenças relatadas pela primeira vez no Brasil na década de 90 e que são causadas pelo cilevirus passion fruit green spot virus (PfGSV, genoma dividido em duas moléculas de fita simples de RNA (+)). A infecção pelo PfGSV produz necrose intensa nos ramos, manchas cloróticas nas folhas, e lesões anelares verdes nos frutos. A caracterização de cinco isolados do PfGSV evidenciou um acentuado polimorfismo na região 5' do RNA2 deste vírus quando comparado a outros membros do gênero Cilevirus. A principal divergência é a presença de um marco de leitura aberto órfão (do inglês, “orphan ORF”) que poderia ter influência na fisiopatologia das doenças causadas. Este trabalho visa aprofundar no grau de polimorfismo do extremo 5' do RNA2 de PfGSV através das análises de 20 isolados de PfGSV e amplificação por RT-PCR com iniciadores específicos. Após a amplificação do extremo 5' do RNA2 os fragmentos estão sendo sequenciados pelo método de Sanger. O genoma total de um dos isolados, detectado em plantas de orquídeas, está sendo obtido pela técnica de sequenciamento massivo de alta performance. As sequências obtidas serão analisadas por pacotes de bioinformática visando revelar a prevalência dos “orphan ORF” e a possível correlação entre eles e a sintomatologia das doenças causadas.

**Palavras-chaves:** cilevirus, doenças do maracujazeiro, sequenciamento Sanger, sequenciamento de alto rendimento.

1 Autora, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas, UAM, São Paulo-SP; [isabelagarofalo@gmail.com](mailto:isabelagarofalo@gmail.com).

2 Coorientadora: Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA; Instituto Biológico de São Paulo.

3 Orientador: Instituto Biológico de São Paulo, São Paulo-SP; [plrq1970@gmail.com](mailto:plrq1970@gmail.com).



**ABSTRACT** – Brazil is the world's largest producer of passion fruit (*Passiflora* spp.). The crop is affected by passion fruit green spot and passion fruit sudden death, two diseases firstly reported in Brazil in the 1990s, which are caused by the passion fruit green spot virus (PfGSV, two (+) single-stranded RNA molecules). PfGSV infection produces intense necrosis on the branches, chlorotic spots on the leaves, and green ring lesions on the fruits. When compared with other members of the genus *Cilevirus*, the 5' region of the RNA2 of PfGSV shows a high polymorphism. The presence of an orphan open reading frame (ORF) that could influence the pathophysiology of the caused diseases is the main distinguishing feature. This work aims to shed light on the polymorphism of the 5' end of RNA2 of PfGSV through the analysis of 20 PfGSV isolates. After the amplification of the 5' end of the RNA2, using specific primers, the fragments are being sequenced by the Sanger method. Besides, the total genome of one of the isolates, detected in orchid plants, is being obtained by high-throughput sequencing. The sequences will be analyzed by bioinformatics packages, and the presence of the "orphan ORF" and its putative causal relationship with the produced diseases will be evaluated.

**Keywords:** cilevirus, Passion fruit disease, Sanger sequencing, high-throughput sequencing.