

Caracterização molecular de *Potyvirus* que infectam maracujazeiro (*Passiflora* sp.) no estado da Bahia

Alessandra Oliveira Barbosa¹; Emanuel Felipe Medeiros Abreu²; Cristiane de Jesus Barbosa³

¹Estudante de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, bolsista IC-CNPq; ²Analista da Embrapa Mandioca e Fruticultura; ³Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: biologia.tafnes@yahoo.com.br, emanuel@cnpmf.embrapa.br, barbosa@cnpmf.embrapa.br

Inúmeras doenças afetam a cultura do maracujazeiro no Brasil, causando grandes prejuízos de ordem econômica, sendo que a virose do endurecimento dos frutos é uma das mais limitantes à produção. Essa doença sempre esteve associada a uma única espécie de *Potyvirus*, o *Passionfruit woodiness virus* (PWV). Porém, estudos conduzidos ao longo dos anos demonstraram que mais duas espécies de *Potyvirus*, o *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) e o *East asian passiflora virus* (EAPV) também podem causar a mesma doença. Diante desse cenário objetivou-se estudar a variabilidade genética dos diferentes isolados de CABMV que infectam a cultura do maracujazeiro no estado da Bahia. Amostras de maracujá foram coletadas no Banco de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizada no município de Cruz das Almas, BA. O RNA total foi extraído com o protocolo de extração do TRIZOL (Invitrogen) e utilizado na síntese do cDNA viral, por meio do kit comercial M-MLV Reverse Transcriptase (Invitrogen). As reações de PCR foram conduzidas utilizando o kit comercial Taq DNA Polymerase (Invitrogen) e diferentes combinações de oligonucleotídeos foram utilizadas para amplificar fragmentos de tamanhos variados (CABMV2R/F; CABMV 7011R/CABMV4170F; CABMV7011R/CABMV1673F; CABMV7011R/CABMV_NEW). Os primers utilizados foram avaliados nas temperaturas de 50°C, 52°C, 57°C e 63°C. Os produtos das amplificações foram então clonados com o kit pGEM-T Easy (Promega) e encaminhados para sequenciamento pela Macrogen Inc. (Seul, Coreia do Sul). Os nucleotídeos (nt) e as sequências de aminoácidos (aa) obtidas do sequenciamento foram alinhadas usando o programa ClustalW. A análise filogenética foi realizada com o programa Mega 5.1 usando o modelo Kimura para estimar distâncias genéticas. Uma árvore filogenética foi obtida utilizando o algoritmo de máxima verossimilhança com 1000 bootstrap repetições. Os primers mencionados na reação de PCR foram validados, e somente os pares CABMV2R/CABMV4170F com um amplicon de 997pb e o CABMV7011R/CABMV_NEW com amplicon de 1200pb, foram capazes de amplificar um fragmento do genoma do vírus, adequado para as análises de variabilidade genética. As sequências obtidas dos isolados do CABMV foram caracterizadas e corresponderam à região codificante de parte da proteína de Inclusão Cilíndrica (CI) e a sequência parcial do gene da proteína 6K2. As sequências de aa e nt revelaram identidade elevada, variando de 91 a 99% e 84 a 99%, respectivamente, demonstrando baixa variabilidade genética entre os isolados coletados. A análise filogenética confirmou que os isolados de CABMV encontrados são substancialmente próximos do isolado de CABMV encontrado no Zimbábue, formando um clado separado dos demais vírus da família *Potyviridae*.

Palavras-chave: maracujá; CABMV; variabilidade genética