



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE
PERNAMBUCO**

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

**Estudo da diversidade viral em maracujazeiro e outras
espécies de plantas no estado do Acre**

Grenville Antonio Souza dos Santos

**Recife - PE
2021**

GRENVILLE ANTONIO SOUZA DOS SANTOS

ESTUDO DA DIVERSIDADE VIRAL EM MARACUJAZEIRO E OUTRAS ESPÉCIES DE PLANTAS NO ESTADO DO ACRE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Blawid

**RECIFE-PE
JANEIRO - 2021**



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n – Dois Irmãos 52171-900 Recife, PE - Brasil
Fone: (81) 3320.6205 / E-mail: coordenacao.pgfitopat@ufrpe.br



ATA DA REUNIÃO DA COMISSÃO JULGADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO
Eng. Agrônomo GRENVILLE ANTÔNIO SOUZA DOS SANTOS

Aos **22 dias do mês de janeiro** do ano de **2021**, às **09:00** horas, sob a presidência do **Profª. Drª. Rosana Blawid**, em sessão por vídeo conferência, reuniu-se a Comissão Julgadora da Defesa de Dissertação do aluno **GRENVILLE ANTÔNIO SOUZA DOS SANTOS**, do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia – PPGF, visando à obtenção do título de **Mestre em Fitopatologia**, assim constituída:

- Profª. Drª. Rosana Blawid (Presidente)
- Profª. Drª. Alessandra de Jesus Boari
- Prof. Dr. Jonas Alberto Rios

Iniciados os trabalhos, o candidato submeteu-se à defesa de sua Dissertação, intitulada: **“Estudo da diversidade viral em maracujazeiro e outras espécies de plantas no estado do Acre”**. Terminada a defesa, procedeu-se ao julgamento dessa prova, cujo resultado foi o seguinte:

Profª. Drª. Alessandra de Jesus Boari
Prof. Dr. Jonas Alberto Rios
Profª. Drª. Rosana Blawid (Presidente)

APROVADO
APROVADO
APROVADO

Apurados os resultados, cujas comprovações foram enviadas via e-mail à Coordenação do PPGF devido à pandemia do COVID-19, verificou-se que o candidato foi habilitado, tendo ciência que, somente fará jus ao título de **“Mestre em Fitopatologia”**, após ter cumprido todos os requisitos exigidos pelo Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia no prazo de 60 dias a partir desta data. Terminados todos os trabalhos e nada mais havendo a tratar, eu, José Romildo Nunes Angeiras, secretário do PPGF, planejei e executei a presente ata, que vai por mim assinada, pelo Presidente da Comissão Julgadora e pelo Coordenador do Programa.

Recife, 22 de janeiro de 2021.

Profª. Drª. Rosana Blawid (Presidente)

Prof. Dr. Marco Aurélio Siqueira da Gama

Secretário José Romildo Nunes Angeiras



Emitido em 22/01/2021

ATA Nº Ata de Grenville/2021 - CFITO-CPPGSE (11.01.29.03.08)
(Nº do Documento: 37)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 25/01/2021 10:18)

JOSE ROMILDO NUNES ANGEIRAS

ASSISTENTE EM ADMINISTRACAO

DEPA (11.01.04)

Matrícula: 1532812

(Assinado digitalmente em 26/01/2021 11:38)

MARCO AURELIO SIQUEIRA DA GAMA

COORDENADOR CURS/POS-GRADUACAO - TITULAR

CFITO-CPPGSE (11.01.29.03.08)

Matrícula: 2126762

(Assinado digitalmente em 29/01/2021 10:09)

ROSANA BLAWID

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DEPA (11.01.04)

Matrícula: 1866462

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sigs.ufrpe.br/documentos/> informando seu número: 37
, ano: 2021, tipo: ATA, data de emissão: 25/01/2021 e o código de verificação: 679fb93e31

**A Deus, a meus pais,
por seu amor, carinho e cuidado
Dedico**

AGRADECIMENTOS

Durante a nossa jornada nessa vida, aprendi que tudo é um processo de amadurecimento, onde vamos nos tornando pessoas melhores em todos aspectos. Olhar para tudo o que acontece ao nosso redor, as pessoas, lugares, o conhecimento e experiências adquiridas, são de fundamental importância durante a nosso processo de se tornar um ser humano melhor.

Pela jornada acadêmica agradeço primeiramente a Deus, fonte de inspiração, força, que sempre me manteve em pé para seguir perante os desafios. A minha família que apesar da distância, sempre estiveram presentes espiritualmente, sempre acreditando no meu potencial, me dando força e incentivo de nunca desistir.

Agradeço a Universidade Federal Rural de Pernambuco, na pessoa da professora Rosana Blawid, juntamente com todos os integrantes do laboratório de fitovirologia, que sempre acreditaram no potencial mútuo um do outro, permitindo o nosso crescimento como pesquisadores, abrindo nossa mente para novas descobertas.

A Darcy Martins que com seu cafezinho fazerem que os dias fossem mais alegres, aos colegas Júnior Souza, Tatiane Santos, Alejandro Risco, José Ailton e Gessyka Rodrigues meu abraço fraterno.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO GERAL.....	
1.1 A CULTURA DO MARACUJAZEIRO - ASPECTOS AGRONÔMICOS.....	2
1.2 VÍRUS QUE INFECTAM O MARACUJAZEIRO.....	3
1.3. FAMÍLIA POTYVIRIDAE.....	6
1.3.1 ORGANIZAÇÃO GENÔMICA	7
1.3.2 EXPRESSÃO GÊNICA E FUNÇÃO DAS PROTEÍNAS VIRAIS DOS POTYVÍRUS.....	9
1.3.3 TRANSMISSÃO.....	11
1.3.4 SINTOMAS E SINAIS	12
1.4. FAMÍLIA GEMINIVIRIDAE.....	14
1.4.1 ORGANIZAÇÃO GENÔMICA DO GÊNERO BEGOMOVIRUS.....	16
1.4.2. MOLÉCULAS SATÉLITES.....	19
1.4.3 REPLICAÇÃO VIRAL.....	20
1.4.4 SINTOMATOLOGIA.....	21
1.5 GÊNERO CILEVIRUS	22
1.5.1 ORGANIZAÇÃO GENÔMICA	22
1.5.2 TRANSMISSÃO.....	23
1.5.3 SINTOMATOLOGIA.....	23
1.6 FAMILIA CAULIMOVIRIDAE	24
1.6.1 ORGANIZAÇÃO GENÔMICA	25
1.6.2 REPLICAÇÃO.....	26
1.6.3 INTEGRAÇÃO GENÔMICA	26
1.6.4 SINTOMATOLOGIA.....	27
1.7 SEQUENCIAMENTO DE ÚLTIMA GERAÇÃO (<i>NEXT-GENERATION SEQUENCING-HTS</i>)	27
1.8 SEQUENCIAMENTO ILLUMINA	29
1.9 BIOINFORMÁTICA APLICADA A MONTAGEM DE VÍRUS	31
REFERÊNCIAS.....	33
CAPÍTULO 2: ESTUDO DA DIVERSIDADE VIRAL NAS PEQUENAS ÁREAS PRODUÇÕES DE MARACUJÁ NO ESTADO DO ACRE.....	59
INTRODUÇÃO.....	61
MATERIAL E MÉTODOS.....	63
COLETA.....	63
SEQUENCIAMENTO ILLUMINA	63
ANÁLISE DE BIOINFORMÁTICA.....	64
ANÁLISE FILOGENÉTICA.....	65

RESULTADOS	66
CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DA METAGENÔMICA VIRAL COM KAIJU	66
TRIMAGEM DOS <i>READS</i> E ADAPTADORES	66
MONTAGEM DE <i>CONTIGS</i> E ANÁLISE DE TBLASTX.....	67
MONTAGEM “ <i>DE NOVO</i> ” DE GENOMAS VIRAIS E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR	70
PARARETROVÍRUS	72
POTYVÍRUS	73
CILEVÍRUS.....	75
BEGOMOVÍRUS	78
DISCUSSÃO	82
REFERÊNCIAS	85
CONCLUSÕES GERAIS	89
ANEXOS.....	91

RESUMO GERAL

Dentro da família Passifloraceae, a espécie *Passiflora edulis* (maracujá amarelo) é a mais consumida no mundo, sendo o Brasil o maior produtor mundial. Apesar disso, a produção brasileira apresenta baixa produtividade por hectare e é afetada pela falta de tecnificação do cultivo, insumos, logísticas de escoamento de produção e por doenças, principalmente as de origem viral. Dentre os vírus que infectam o maracujá, os potyvírus, begomovírus, cilevírus e badnavírus são os maiores causadores de doenças e podem comprometer até em 100% a produção. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho consistiu na detecção e caracterização genômica de fitovirose presentes em espécies de *Passiflora cincinnata*, *Passiflora edulis*, *Citrus* sp., *Pueraria* sp., *Sida* sp. e *Cucumis sativus*. Para tanto, espécies de plantas foram coletados das áreas de cultivo do Acre, devidamente identificadas e armazenadas em cloreto de cálcio para posteriormente serem submetidas ao sequenciamento em larga escala (HTS - *High-Throughput Sequencing*) na plataforma disponível no Instituto Leibniz, DSMZ, Alemanha (Coleção Alemã de Microorganismos e Cultura de Células, GmbH). As amostras foram agrupadas em cinco *pools* de amostras (GS1 - *Passiflora edulis*, GS2 – *Passiflora edulis*, *Passiflora cincinnata*, GS3 – *Passiflora edulis*, *Passiflora cincinnata*, *Cucumis sativus*, GS4 - *Passiflora edulis* e GS5 – *Sida* sp., *Pueraria* sp. *Citrus* sp., *Citrus limon*), onde 10 bibliotecas Nextera, *forward* e *reverse*, foram submetidas ao sequenciamento em massa. Como resultado, os *reads* gerados foram primeiramente classificados taxonomicamente pela plataforma online Kaiju, e um total de 0,1%, 0,2%, 0,2%, 0,7% e 1% de *reads* foram classificados como virais nos respectivos *pools* GS1, GS2, GS3, GS4 e GS5. Os parâmetros de qualidade do sequenciamento foram verificados pelo programa FastQC v. 0.72, e a trimagem dos *reads* de baixa qualidade e adaptadores foram realizados com o software Trimmomatic v. 0.39. Os *contigs* foram montados pelo programa SPAdes v. 3.12, e em seguida foi realizada uma pesquisa com a ferramenta tBLASTx (Geneious v. 11.0) contra uma biblioteca RefSeq viral construída manualmente de sequências do *GenBank*. Os *contigs* com maiores identidades a espécies virais de plantas foram separados e os genomas foram montados por meio da estratégia do *de novo assembly*. Dois genomas completos de um putativo novo badnavírus (Badnavírus - ACRE 1 e Badnavírus - ACRE 3), um potyvírus (papaya ringspot virus - PRSV) de um cilevírus (passion fruit green spot virus - PfGSV) e dois begomovírus (sida micrantha mosaic virus - SiMMV e bean bushy stunt virus - BeBSV) foram montados. Três ORFs foram preditas do genoma do novo badnavírus ACRE 1 e ACRE 3. A ORF1 consiste em 276 nt (ACRE 1) e 282

nt (ACRE 3), respectivamente, em comprimento, e putativamente codificam para um peptídeo com massa molecular calculada em cerca de 10 kDa. Um domínio transmembranar (V₃₈YSLQAITLTLPLIL₅₆) foi encontrado no peptídeo. A ORF2 consiste em 408 nt (~16 kDa) e faz sobreposição em quatro nucleotídeos com a ORF3. A ORF3 (5.928 nt) codifica putativamente para uma proteína de 1.975 aa (~228 kDa). Cinco motivos foram encontrados na poliproteína: proteína de movimento, motivo de ligação ao DNA “dedo de zinco”, de protease do tipo *aspartyl*, RT-LTR e de RT-RNaseH. Análises com BLASTp utilizando a sequência de aminoácidos da poliproteína putativamente codificada pela ORF3 mostraram identidade de cerca de 53% (87% de cobertura) com uma sequência de blackberry virus F (número de acesso: YP_009229919) encontrada nos Estados Unidos (EUA). A sequência completa de PRSV consiste em 10,308 nt e possui uma ORF que codifica uma poliproteína de 9.882 nt (3.293 aa, ~373.7 kDa). Pesquisa por BLASTn utilizando a sequência completa de PRSV revelou a maior identidade de 76,24% a nível de nt com uma sequência de PRSV isolada de *Carica papaya* Marado1. A capa proteica (CP) de PRSV consiste em 849 nt (283 aa, ~32 kDa) e revelou uma identidade máxima de 93,3% a nível de aminoácido com uma sequência parcial de CP de PRSV isolada da Índia, que infecta *Luffa acutangula* (*Cucurbitaceae*), seguida de 86,4% com uma sequência parcial de CP do Japão isolado de *Trichosanthes cucumeroides*. Uma árvore filogenética Bayesiana da CP foi gerada e esta sequência formou um grupo isolado entre isolados de PRSV, que infectam o mamão e isolados de potyvírus que infectam espécies de abrobrinha italiana. O genoma completo de um cilevírus também foi montado. O RNA-1 é constituído de 8.868 nt, excluindo a cauda poli-A, e possui duas ORFs, uma que codifica para a RNA-polimerase dependente de RNA (RdRp) (7521 nt, 2506 aa, ~286 kDa) e a outra para a capa proteica (p29-proteína P2, 774 nt, 257 aa, ~28.5 kDa). A RdRp é 94,6% (99% cobertura) idêntica a nível de nucleotídeo com uma sequência do RNA-1 de PfGSV isolado de Brasília-DF (BSB1). Por último, dois genomas completos de begomovírus foram encontrados nas amostras de plantas daninhas/invasoras dos campos de maracujá. O DNA-A de SiMMV consiste em 2.676 nt, enquanto o DNA-B consiste em 2641 nt. Análises com BLASTn utilizando a sequência nucleotídica completa do DNA-A revelaram as mais altas porcentagens de identidade de 94,5% e 92,6% com sequências de DNA-A e DNA-B, respectivamente, de SiMMV isolada de *Sidastrum micranthum* no Mato Grosso do Sul em 2007 (Nº de acesso: HM585433, HM585434). A CP mostrou ser 96,81% idêntica à nível de aminoácido com a CP de SiMMV detectada em 2010 de plantas de *Sida* sp. (Nº de acesso: AQT01431). Além disso, duas sequências completas (DNA-A e DNA-B) foram montadas, que revelaram ser similares a sequências não publicadas, mas disponíveis no GenBank (bean bushy stunt virus - BeBSV; Nº

dos acessos: MN414067, MN414068). Análise com BLASTn usando a sequência de nucleotídeos completa do DNA-A (2.578 nt) revelou a maior porcentagem de identidade de 93,1% com o DNA-A de bean bushy stunt virus (BeBSV), isolado de feijão comum na Argentina, seguido de 83,4% de identidade com o DNA-A de pepper leafroll virus isolado do Peru de *Capsicum baccatum* var. *pendulum* em 2009. Já a sequência completa do DNA-B de BeBSV revelou ser 92,7% idêntico a nível de nucleotídeo com o DNA-B de BeBSV da Argentina, seguido de 74,0% (61% de cobertura) com o DNA-B de abutilon mosaic virus (Nº de acesso: FN434439) isolado da Bahia em 2007. Em resumo, este estudo revelou os principais vírus de plantas encontrados em amostras coletadas na região produtora de maracujá no estado do Acre através de análise de sequenciamento em larga escala, e contribui para a caracterização da diversidade viral presente nos campos de produção da cultura do maracujazeiro no Brasil.

Palavras-chaves: Virômica, HTS, Maracujá, Acre

GENERAL ABSTRACT

Within the *Passifloraceae* family, *Passiflora edulis* (yellow passion fruit) is the most consumed species in the world, with Brazil being the world's largest producer. Despite this fact, Brazilian production has low productivity per hectare and is affected by the lack of technology, inputs, production flow logistics and diseases, especially those of viral origin. Among the viruses that infect passion fruit, potyviruses, begomoviruses, cileviruses and badnaviruses are the main cause of diseases and can compromise up to 100% of the production. In this sense, the objective of this work consisted in the detection and genomic characterization of plant viruses infecting passion fruit and weeds in small production areas in the State of Acre. For this purpose, passion fruit and weed leaves present with possible viral symptoms were collected from the Acre cultivation areas, and properly identified and stored in calcium chloride to be subsequently subjected to High-throughput sequencing (HTS) at the available platform at the Leibniz Institute - DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Culture GmbH, Germany). Samples were grouped into five pools (GS1, GS2, GS3, GS4 and GS5), where ten Nextera libraries (*forward* and *reverse*) were subjected to large-scale sequencing. As a result, the generated *reads* were first taxonomically classified using the online platform Kaiju, and a total of 0.1%, 0.2%, 0.2%, 0.7% and 1% of *reads* were classified as viral in the pools GS1, GS2, GS3, GS4 and GS5, respectively. Parameters for sequencing quality were verified using FastQC v. 0.72, and trimming of low quality *reads* and adapters were performed with Trimmomatic v. 0.39. Contigs were assembled using SPAdes v. 3.12, and a tBLASTx searchers (Geneious v. 11.0) were performed against a viral RefSeq library built from GenBank sequences. The contigs with the greatest identities for a certain plant virus species were separated into a file and de novo assembly was used to assemble whole viral genomes. Two complete genomes of a putative new badnavirus (Badnavirus - ACRE 1 and Badnavirus - ACRE 3), a potyvirus (papaya ringspot virus - PRSV), a cilevirus (passion fruit green spot virus - PfGSV) and two begomovirus (sida micrantha mosaic virus- SiMMV and bean bushy stunt virus - BeBSV) were assembled. Three ORFs were predicted from the genome of the new ACRE 1 and ACRE 3 badnavirus. ORF1 consists of 276 nt in length (ACRE 1) and 282 nt (ACRE 3), respectively, which putatively coded for a peptide with a molecular mass of about 10 kDa. A transmembrane domain (V38YSLQAITLTLLPILFLIL56) was found on the peptide. ORF2 consists of 408 nt (~ 16 kDa) and overlaps four nucleotides with ORF3. ORF3 (5.928 nt) putatively encodes a 1975 aa protein (~ 228 kDa). Five motifs were found in the polyprotein: movement protein, DNA binding motif “zinc finger”, aspartyl protease, RT-LTR and RT-RNaseH. Ana

BLASTp using the complete amino acid sequence of the polyprotein putatively encoded by ORF3 showed an identity of about 53% (87% coverage) with a sequence of *Blackberry virus F* (accession number: YP_009229919) found in the United States (USA). The complete PRSV sequence consists of 10,308 nt and has an ORF encoding a 9,882 nt polyprotein (3,293 aa, ~ 373.7 kDa). BLASTn search using the complete PRSV sequence revealed the highest identity of 76.24% with a PRSV sequence isolated from *Carica papaya* Marado1. PRSV CP consists of 849 nt (283 aa, ~ 32 kDa) and revealed the highest amino acid identity of 93.3% with a partial PRSV CP sequence isolated from India, which infects *Luffa acutangula* (*Cucurbitaceae*), followed by 86.4% with a partial CP sequence from Japan isolated from *Trichosanthes cucumeroides*. A Bayesian phylogenetic tree from the CP was generated and this sequence formed an isolated group among PRSV isolates, which infect papaya and potyvirus isolates that infect species of Zucchini. In addition, the complete genome of a cilevirus has also been assembled. The RNA-1 consists of 8868 nt, excluding the poly-A tail, and has two ORFs, one that codes for the RdRp (7521 nt, 2506 aa, ~ 286 kDa) and the other for the coat protein (p29-protein P2, 774 nt, 257 aa, ~ 28.5 kDa). The RdRp ORF is 94.6% (99% coverage) identical at the nucleotide level with a sequence of RNA-1 from PfGSV isolated from Brasília-DF (BSB1). Finally, two complete begomovirus genomes were found in the weed samples from the passion fruit fields. SiMMV's DNA-A consists of 2676 nt, while DNA-B consists of 2641. Analyzes with BLASTn using the complete nucleotide sequence of DNA-A revealed the highest percentages of identity of 94.5% and 92.6% with sequences of DNA-A and DNA-B, respectively, of SiMMV isolated from *Sidastrum micranthum* in Mato Grosso do Sul in 2007 (Accession No.: HM585433, HM585434). The CP showed to be 96.81% identical at the amino acid level with the SiMMV CP detected in 2010 in plants of *Sida* sp. (Accession no.: AQT01431). In addition, two complete sequences (DNA-A and DNA-B) were assembled, which proved to be similar to unpublished sequences, but available on GenBank (bean bushy stunt virus - BeBSV; Accession No.: MN414067, MN414068). BLASTn analysis using the complete DNA-A nucleotide sequence (2578 nt) revealed the highest identity of 93.1% with the DNA-A isolated from common beans in Argentina (BeBSV), followed by 83.4% of identity with the DNA-A of *Pepper leafroll virus* isolated from Peru from *Capsicum baccatum* var. *pendulum* in 2009. The complete BeBSV DNA-B nucleotide sequence was found to be 92.7% identical with the BeBSV DNA-B found in Argentina, followed by 74.0% (61% coverage) with the DNA -B of abutilon mosaic virus (Accession number: FN434439) isolated from Bahia in 2007. In summary, this study revealed the main plant viruses found in samples collected from passion fruit producing areas in the State of Acre, through high-throughput sequencing analysis,

and contributes to the characterization of viral diversity in passion fruit production fields in Brazil.

Keywords: Viromic, HTS, Passionfruit, Acre

CAPÍTULO I

Introdução Geral

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO GERAL

1.1 A CULTURA DO MARACUJAZEIRO - ASPECTOS AGRONÔMICOS

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá com área colhida de 42.731 hectares, e produção de 602.651 toneladas (t) (IBGE, 2019). Somente a região Nordeste detém 62,3% da produção, destacando-se como a maior região produtora do país. Embora a produção seja considerada relativamente alta, em torno de 13,50 t/ha, o rendimento pode atingir até 65 t/ha, o que é considerada baixa (MELETTI *et al.*, 2000). Segundo Freitas e Oliveira Filho (2003) um dos grandes entraves para o aumento da produtividade do cultivo do maracujá se deve à falta suficiente de irrigação e a de polinização realizada pela abelha mamangava (*Xylocopa* spp.). A cultura do maracujá acarreta impactos sociais positivos. Embora seja uma cultura de pequenas propriedades (3 a 4 hectares), gera de 3 a 4 empregos diretos, e ocupa entre a 7ª e a 8ª posição na cadeia produtiva. E apesar de ser uma cultura de alto valor aquisitivo por utilizar grandes quantidades de insumos, ainda assim é uma cultura de grande rentabilidade (FURLANETO *et al.*, 2011; MELETTI, 2011).

Originada na América tropical (Brasil, Colômbia, Peru, Equador, Bolívia e Paraguai), o maracujazeiro (*Passiflora* spp.) pertence à família Passifloraceae, composta por 12 gêneros. Estima-se que existam 500 espécies do gênero descritas no mundo, das quais 150 são nativas do Brasil. No Brasil, 90% dos pomares são compostos pela espécie *Passiflora edulis* Sims (maracujazeiro-azedo de casca amarela ou roxa) (FALEIRO; JUNQUEIRA, 2016). O cultivo do maracujá desenvolve-se em altitudes entre 100 e 900 m, temperatura média de 23 a 25°C, umidade relativa baixa, e precipitação de 800 a 1.700 mm por ano. O clima influencia a cultura. Intensas chuvas no período de floração são prejudiciais à cultura por “estourar” o grão de pólen. Ventos frios interferem no vingamento dos frutos e ventos quentes e secos causam murchamento e diminuem a qualidade e a quantidade dos frutos. Os solos considerados ideais são os arenosos ou levemente argilosos, profundos, bem drenados com pH variando entre 5 e 6. (COSTA *et al.*, 2008; MARQUES *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2006). O maracujazeiro caracteriza-se por ser uma árvore semi-lenhosa de rápida frutificação, hábito de crescimento trepadeira, chegando 5 a 10 m de altura, necessitando de tutores chamados espaldeiras (do tipo T, latada ou caramanchão, ou Cruz, vertical com um ou dois fios de arame). Seu sistema radicular pode ser axial ou pivotante com maior concentração na camada entre 0 a 45 cm do solo. As folhas são simples, alternadas com formas variadas, e brácteas foliares bem desenvolvidas, e presença de gavinhas. É uma planta perene, mas em cultivos comerciais possui duração de um a seis anos de vida (FALEIRO; JUNQUEIRA, 2016). O maracujazeiro floresce vários meses por ano, sendo influenciado pelo fotoperíodo, temperatura e irrigação, que podem

alongar o período de produção, e interferir na qualidade do fruto (ATAÍDE *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2019).

1.2 VÍRUS QUE INFECTAM O MARACUJAZEIRO

Os vírus de plantas causam prejuízos de milhões de dólares por ano, podendo comprometer de 70 a 100% da produção agrícola. Das fitoviroses que são hospedeiras do maracujazeiro encontradas no Brasil destacam-se os seguintes vírus: o potyvírus cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV), que causa o endurecimento dos frutos do maracujazeiro, encontrado nos estados do Distrito Federal, Minas Gerais, Goiás (ANJOS *et al.*, 2001), Pernambuco, Paraíba, Sergipe (NASCIMENTO *et al.*, 2004), e Ceará (MAIA *et al.*, 2017); os geminivírus, passion fruit chlorotic mottle virus (PCMoV), encontrado no Mato Grosso do Sul (FONTENELE *et al.*, 2018), o passion fruit severe leaf distortion virus (PSLDV) na Bahia (FERREIRA *et al.*, 2010), e o melochia yellow mosaic virus (MeYMV) relatado no Mato Grosso do Sul (SPADOTTI *et al.*, 2019); o cucumber mosaic virus (CMV), pertencente ao gênero *Cucumovirus*, relatado no Sergipe (GIORIA *et al.*, 2002); e o passion fruit yellow mosaic virus (PFYMV), do gênero *Tymovirus*, relatado no Rio de Janeiro (CRESTANI *et al.*, 1986), além do passion fruit green spot virus (PfGSV), do gênero *Cilevirus*, relatado nos estados de São Paulo, Distrito Federal, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Sergipe, Bahia, Rondônia e Maranhão (KITAJIMA *et al.*, 2003; MORAES *et al.*, 2006, RAMOS-GONZÁLEZ *et al.*, 2020). A Tabela 1 descreve os principais vírus encontrados até a atualidade no maracujazeiro.

Tabela 1 - Descrição dos principais vírus encontrados na literatura infectando o maracujazeiro.

Gênero	Vírus	Hospedeiras	País	Literatura
<i>Potyvirus</i>	Bean yellow mosaic virus	<i>Passiflora caerulea</i>	Itália	Parrella (2009)
	Passiflora foetida virus Y	<i>Passiflora edulis</i>	Japão	Nakasato <i>et al.</i> , (2020)
	Cowpea aphid-borne mosaic virus	<i>Passiflora edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	Brasil (CE, PE, PB, SE, BH, SC, DF)	Nicolini <i>et al.</i> , (2011)

	East Asian Passiflora virus	<i>Passiflora edulis</i>	Japão, Taiwan, Coreia do Sul	Fukumoto <i>et al.</i> , (2012); Chong <i>et al.</i> , (1996)
	Passiflora chlorosis virus	<i>Passiflora edulis</i>	Alemanha	Ochwo-ssemakula <i>et al.</i> , (2012)
	Passiflora foetida virus Y	<i>Passiflora foetida</i>	Austrália	Parry <i>et al.</i> , (2004)
	Passiflora virus Y	<i>Passiflora foetida</i>	Austrália	Coutts <i>et al.</i> , (2011)
	Passionfruit Vietnam virus	<i>Passiflora edulis</i>	Vietnã	Xie <i>et al.</i> , (2019)
	Passion fruit woodiness virus	<i>Passiflora edulis</i> , <i>Passiflora caerulea</i>	Austrália, Uganda	Fukumoto <i>et al.</i> , (2013); Webster <i>et al.</i> , (2007)
	Telosma mosaic virus	<i>Passiflora</i> sp.	Taiwan, China	Chiemsombat <i>et al.</i> , (2014); Yan <i>et al.</i> , (2019)
	Turnip mosaic virus	<i>Passiflora</i> sp.	Turquia, China	Sevik (2019); Chen <i>et al.</i> , (2021)

	Ugandan Passiflora virus	<i>Passiflora edulis</i>	Uganda	Ochwo-ssemakula, (2012)
	Uraria mosaic virus	<i>Passiflora sp.</i>	Japão	Nakasato <i>et al.</i> , (2020)
	Watermelon mosaic virus F	<i>Passiflora edulis</i>	Estados Unidos	Watanabe <i>et al.</i> , (2016)
<i>Begomovirus</i>	Cotton leaf curl Multan virus	<i>Passiflora edulis</i>	China	Tang <i>et al.</i> , (2020)
	Euphorbia leaf curl virus	<i>Ageratum conyzoides</i> , <i>Passiflora edulis</i>	Taiwan, Coreia do Sul, China, Estados Unidos	Cheng <i>et al.</i> , (2014)
	Passion fruit chlorotic mottle virus	<i>Passiflora edulis</i>	Brasil (MS)	Fontenele <i>et al.</i> , (2018)
	Passion fruit severe leaf distortion virus	<i>P. edulis f.</i> <i>flavicarpa</i>)	Brasil (BH)	Ferreira <i>et al.</i> , (2010)
	Sida Mottle Alagoas virus	<i>Passiflora edulis f.</i> <i>flavicarpa</i>	Brasil	Mituti <i>et al.</i> , (2018)
	Melochia yellow mosaic virus	<i>Passiflora sp.</i>	Brasil (<u>MS</u>)	Spadotti <i>et al.</i> , (2019)
<i>Tymovirus</i>	Passion fruit yellow mosaic virus	<i>Passiflora sp.</i>	Brasil (RJ), Colômbia	Crestani <i>et al.</i> , (1986); Moraes <i>et al.</i> , (2006)

<i>Cucumovirus</i>	Cucumber mosaic virus	<i>Passiflora</i> sp.	Brasil (SE)	Gioria <i>et al.</i> , (2002)
<i>Cilevirus</i>	passion fruit green spot virus	<i>Passiflora</i> sp.	Brasil	Kitajima <i>et al.</i> , (2003)
<i>Roymovirus</i>	<i>Passiflora edulis</i> symptomless virus	<i>Passiflora edulis</i>	Israel	Jover -gil <i>et al.</i> , (2018)
<i>Polerovirus</i>	Cucurbit aphid-borne yellows virus	<i>Passiflora</i> sp.	Brasil	Vidal <i>et al.</i> , (2018); Kitajima <i>et al.</i> , (2020)
<i>Carlavirus</i>	<i>Passiflora</i> latent virus	<i>Passiflora edulis</i>	Israel	Jover-gil <i>et al.</i> , (2018)

1.3. FAMÍLIA POTYVIRIDAE

Os potyvírus apresentam uma taxonomia bem definida entre os vírus de planta. Entretanto, somente o uso de métodos biológicos (gama de hospedeiros e sintomatologia) não deve ser levado em consideração como únicos critérios de classificação taxonômica com o objetivo de diferenciar espécies e subgrupos de potyvírus (BLANCO-URGOITI *et al.*, 1996; JOVER-GIL *et al.*, 2018).

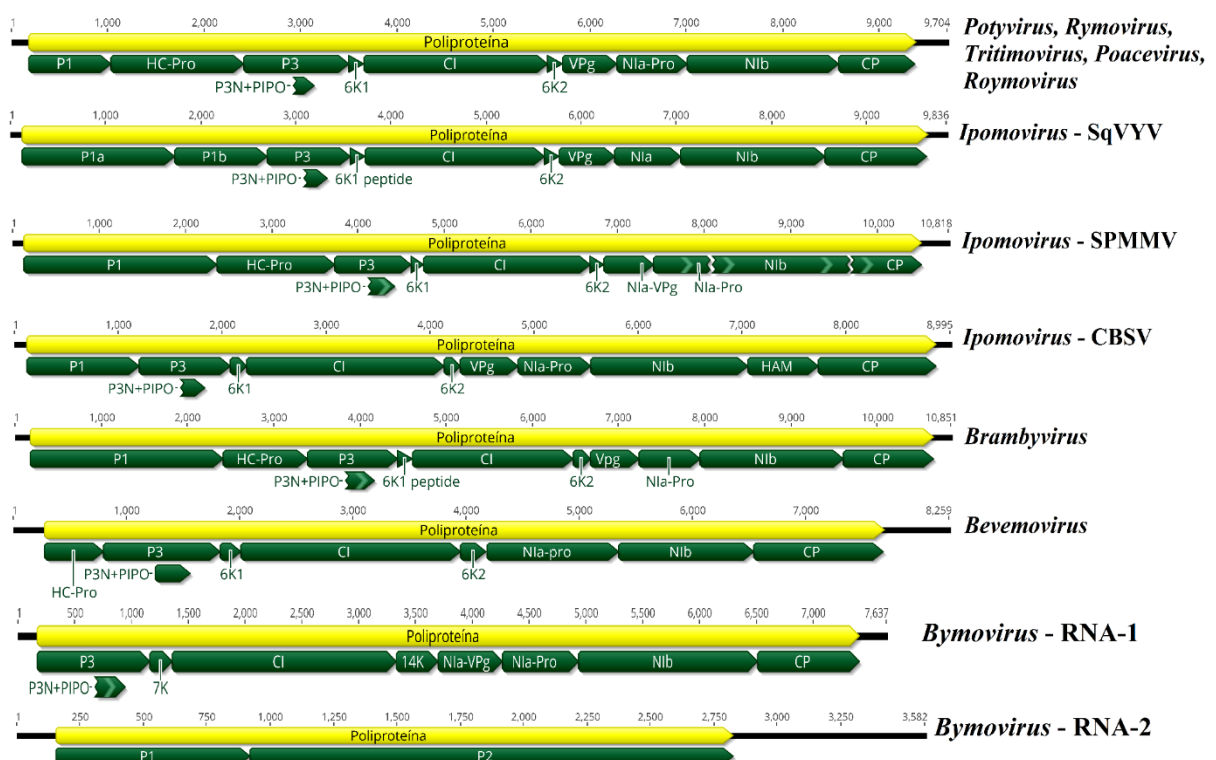
A espécie-tipo do gênero *Potyvirus* é o *Potato virus Y*, que foi descoberto em 1971 (HOUSTON, 1971; POLDER *et al.*, 2019). Em 1971, o grupo foi classificado como *Potato virus Y group* contendo 12 espécies de vírus. Em 1975, quatro anos depois, o status taxonômico mudou para o grupo *Potyvirus*. Somente no ano de 1993 foi criada a família *Potyviridae* com os gêneros *Bymovirus*, *Potyvirus* e *Rymovirus*. Em 1998 foi incluído na taxonomia dos potyvírus os gêneros *Ipomovirus*, *Macluravirus* e *Tritimovirus*. Em 2009, 2011 e 2017, os gêneros *Brambyvirus*, *Poacevirus*, e, *Bevemovirus* e *Roymovirus* foram criados, respectivamente. Em 2018, a família *Potyviridae* foi incluída no domínio *Riboviria* e em 2019 ocorreu a maior modificação na taxonomia dos potyvírus com a criação do Reino *Orthornavirae*, Filo *Pisuviricota*, Classe *Stelpaviricetes*, Ordem *Patatavirales*, além de dois gêneros *Arepavirus* e *Celavirus*. (ICTV, 2020). Portanto, atualmente a família *Potyviridae* é

uma das maiores famílias de vírus de plantas com 12 gêneros (*Arepavirus*, *Bevemovirus*, *Brambyvirus*, *Bymovirus*, *Celavirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus*, *Poacevirus*, *Potyvirus*, *Roymovirus*, *Rymovirus*, *Tritimovirus*) e 228 espécies, que infectam uma ampla gama de hospedeiros, tanto plantas monocotiledôneas como dicotiledôneas. (ADAMS *et al.*, 2005; WYLIE *et al.*, 2017).

1.3.1 ORGANIZAÇÃO GENÔMICA

Alguns membros da família *Potyviridae* se distinguem quanto a sua organização genômica, os vírus pertencentes ao gênero *Brambyvirus* possuem um domínio AlkB na proteína P1, sendo a P1 maior que outros membros da família (REVERS; GARCÍA, 2015; WYLIE *et al.*, 2017), enquanto os pertencentes ao gênero *Macluravirus* apresentam ausência da P1 (LAN *et al.*, 2018). Os genomas dos vírus pertencentes ao gênero *Poacevirus* apresentam a região 5' UTR maior que os demais membros da família (MORADI *et al.*, 2018) e são transmitidos por ácaros. Os *Bymovirus* são os únicos bipartidos da família *Potyviridae*. O RNA-1 apresenta a ausência da proteína HC-Pro e a presença das proteínas 7K e 14K e o RNA-2 possui a proteína P2 (ROLLAND *et al.*, 2017). Alguns exemplos das representações das organizações genômicas de vírus pertencentes à família *Potyviridae* estão descritas na Figura 1 (adaptado de REVERS; GARCÍA, 2015).

Figura 1 - Representação da organização genômica de alguns vírus pertencentes à família *Potyviridae*.

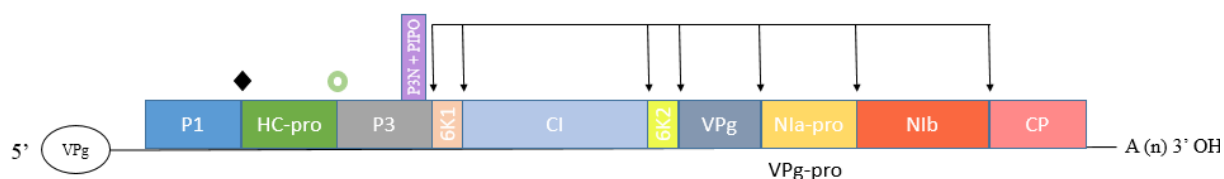


Descrição genômica de membros da família Potyviridae. As ORFs são representadas como caixas divididas por linhas pretas. A ORF da PIPO é indicada como uma área listrada abaixo da região P3. A proteína terminal (VPg) é representada como uma elipse. As características que não são compartilhadas por todos os potyvírus são destacadas por diferentes cores: HC-Pro em azul, P1/P1b em cinza e em preto, respectivamente e proteínas codificadas pelo RNA-2 de bymovírus em amarelo. A proteína extra HAM do ipomovírus cassava brown streak virus (CBSV) e o domínio AlkB do brambyvírus Blackberry virus Y, em rosa. SPMMV: Sweet potato mild mottle virus, CVYV: Cucumber vein yellowing virus, SqVYV: Squash vein yellowing virus. Revers e García (2015).

A morfologia das partículas dos vírus da família Potyviridae é do tipo flexível ou filamentosos, podendo ser monopartido (para maioria dos gêneros) ou bipartido (*Bymovirus*). Os monopartidos possuem partículas que variam de 11-15 nm de diâmetro e 650-900 nm de comprimento e um genoma com um tamanho entre 8-12 kpb. Para o bipartido, a partícula maior tem 500-600 nm de comprimento, diâmetro de 11-15 nm e o genoma consiste em 7,5 a 8,0 kpb. A partícula menor possui 250-300 nm de comprimento e genoma de 3,5 a 4,0 Kpb. O RNA genômico é envolvido pela CP com aproximadamente 2,200 cópias de um peptídeo de cerca de 34 kDa, arranjadas como uma hélice envolvendo o genoma (ADAMS *et al.*, 2005; WYLIE *et al.*, 2017).

A maioria dos potyvírus sequenciados possui uma única ORF grande (*Open reading frame*), em português - Quadro/Fase de Leitura Aberta, que é codificada em uma poliproteína de 340 a 370 kDa. Esta é clivada por proteases em *cis* e *trans* gerando 10 proteínas com múltiplas funções: P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, VPg, NIa-Pro, NIb, e a CP. Incorporada no códon da P3 existe uma ORF chamada de PIPO (*Pretty interesting Potyviridae ORF*). O mecanismo de deslizamento da RNA polimerase (-1 frameshift) na sequência GAA AAA A na região da P3 é responsável pelo transcrito que codifica a proteína P3N-PIPO (CHAI *et al.*, 2020; KING *et al.*, 2012; WU *et al.*, 2007;). Além da PIPO, a PISPO foi identificada em potyvírus em trabalhos realizados por MINGOT *et al.* 2016 e RODAMILANS *et al.* 2015 e descreveram o genoma do vírus que infecta a batata doce, o sweet potato feathery mottle virus (SPFMV), que contém duas ORFs mais curtas, que são parte do quadro -1 de leitura: a P1N-PISPO, de 230 códon, e a P3N-PIPO, de 66 códon, localizados nas regiões P1 e P3, respectivamente (RODAMILANS *et al.*, 2015; MINGOT *et al.*, 2016). Nos potyvírus a proteína VPg é ligada covalentemente à extremidade 5' do RNA viral e possuem na região 3'-terminal uma cauda Poli-A (Figura 2) (ADAMS *et al.*, 2005; CHENG *et al.*, 2017; RODAMILANS *et al.*, 2015; URCUQUI-INCHIMA *et al.*, 2001).

Figura 2 - Mapa genômico de um membro típico do gênero *Potyvirus* com sítios de clivagens



Organização genômica de um membro típico da família *Potyvirus*. VPg, proteína ligada ao genoma viral na região 5'; P1-Pro, protease viral P1; HC-Pro, *Componente-Helper protease*; P3, proteína P3; PIPO, *pretty interesting protein*, 6K1, proteína 6 kDa 1; CI, proteína de inclusão citoplasmática; 6K2, proteína de 6kDa 2; VPg; NIa-Pro, proteína de inclusão nuclear-proteinase; Nib, proteína de inclusão nuclear (RdRp); CP, proteína da capa protéica. Sítios de clivagem: (◆) P1-pro, HC-pro (●) e NIa-pro (↓) indicados na figura.

1.3.2 EXPRESSÃO GÊNICA E FUNÇÃO DAS PROTEÍNAS VIRAIS DOS POTYVÍRUS

A poliproteína sintetizada pelos potyvírus é autoclivada por proteínas codificadas pelo vírus: P1, HC-Pro e NIa-Pro. Sendo que a P1 e HC-Pro a clivagem é em *cis*. A NIa atua na própria clivagem em *cis* e seis clivagens em *trans* (DOLJA, *et al.*, 1994). A HC-Pro tem função na transmissão por afídeo, movimento sistêmico, sinergismo com outros vírus, desenvolvimento de sintomas e supressão do silenciamento gênico, podendo variar de tamanho de 56 kDa a 58 kDa (ESKELIN *et al.*, 2011; ROJAS, *et al.* 1997; URCUQUI-INCHIMA, *et al.*, 2001). A proteína P1 atua como protease, é responsável pela sintomatologia, e modula a replicação viral e resposta de defesa do hospedeiro (SHI *et al.*, 2007; VOZÁROVÁ *et al.* 2017), e tem massa molecular (MW) variando de 32 kDa a 64 kDa de acordo com a espécie e gênero. A proteína P3 (38 kDa) atua na patogenicidade (LIN *et al.*, 2011), interage com a PIPO para favorecer o movimento viral (CHAI *et al.*, 2020; LIN *et al.* 2011), e a replicação (CUI *et al.*, 2017; LAN *et al.*, 2018), e associam-se as vesículas de 6K2 na ligação do complexo viral de replicação do genoma (GRANGEON *et al.*, 2013). Cui e Wang (2016) mostraram que a 6K1 é necessária para a replicação viral e é importante na fase de infecção precoce. A proteína CI é responsável pela formação dos corpos de inclusão citoplasmática, e é envolvida na função de ATPase/RNA helicase e no movimento célula-célula (MOVAHED *et al.*, 2017; MURPHY. *et al.*, 1996). A sua massa molecular foi estimada em 70 kDa. A VPg funciona como um *primer* para a replicação (CHENG; WANG, 2016; ESKELIN *et al.*, 2011; GALLO *et al.*, 2018; SAHA; MÄKINEN, 2020) e está envolvida na supressão do silenciamento gênico. A massa molecular de VPg pode variar de 21 kDa a 24 kDa (MURPHY *et al.*, 1996; RAJAMÄKI *et al.*, 2014) e está envolvido no processo de replicação viral (LÖHMUS *et al.*, 2016; PUUSTINEN; MÄKINEN, 2004) e interage com fatores de iniciação da tradução (DUNOYER *et al.*, 2004; WU *et al.*, 2020). Com massa molecular de cerca de 49 kDa, a proteína NIa (VPg-Pro) é composta por dois domínios: o domínio VPg na região N-terminal e a proteinase na região C-

terminal. A NIa-Pro é a principal proteinase dos potyvírus e processa a poliproteína em *cis* e *trans* para produzir produtos funcionais (GONG *et al.*, 2020; URCUQUI-INCHIMA *et al.*, 2001; ZHENG *et al.*, 2008). A proteína NIb possui cerca de 58 kDa e é responsável pelos corpos de inclusões nucleares além de possuir função de RNA polimerase dependente de RNA e está envolvida no processo de replicação (PUUSTINEN *et al.*, 2004; SHEN *et al.*, 2020).

A proteína da capa proteica (CP) contém massa molecular estimada que varia de 28 kDa a 40 kDa e está envolvida no movimento viral, amplificação do genoma e na transmissão pelo vetor (HOFIUS *et al.*, 2007; QIU *et al.*, 2018; ZHENG *et al.*, 2017). De acordo com o critério molecular para demarcação a nível de espécie dos potyvírus, a CP ou a ORF que codifica para a poliproteína devem apresentar pelo menos 82% de identidade a nível de aminoácido e 76% a nível de nucleotídeo.

Incorporado no cístron da proteína P3 existe uma pequena ORF formada pelo deslizamento da polimerase que codifica a proteína P3N-PIPO, PIPO (*Pretty Interesting Potyviridae ORF*). A P3N-PIPO localiza-se nos plasmodesmas e interage com a proteína CI. Portanto, estudos indicam que o movimento célula-célula dos potyvírus envolvem as proteínas P3N-PIPO, CI, a CP e o RNA genômico viral (CHUNG *et al.*, 2008; WEI *et al.* 2008), funções estas descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Propriedades das diferentes proteínas codificadas pelo genoma de potyvírus e literatura encontrada.

Proteínas	Funções	Literatura
P1-Pro	Protease, sintomatologia	Revers, <i>et al.</i> , (2015); Shakir <i>et al.</i> , (2019); Verchot <i>et al.</i> , (1995).
HC-Pro	Protease, transmissão por afídeo, movimento sistêmico, supressão de silenciamento gênico	Chandrika Ray, <i>et al.</i> , (2016); Kim <i>et al.</i> , (2020); Thornbury <i>et al.</i> , (1985).
P3	Patogenicidade	Cui <i>et al</i> (2018); Klein <i>et al.</i> , (1994); Wei, <i>et al.</i> (2008).
6K1	Infecção viral e infecção precoce	Cui, <i>et al.</i> , (2018); Ivanov <i>et al.</i> (2014); Nigam <i>et al.</i> , (2019).
CI	Corpos de inclusão, ATPase/RNA helicase e movimento célula-célula	Gibbs <i>et al.</i> , (2020); Ivanov <i>et al.</i> (2014); Laín <i>et al.</i> , (1991).
6K2	Ligação do complexo viral	Figueira <i>et al.</i> , (2019); Restrepo <i>et al.</i> , (1990); Zhang <i>et al.</i> , (2019).
VPg	<i>Primer</i> de iniciação para replicação viral	Schaad <i>et al.</i> , (1997); Wylie <i>et al.</i> , (2017); Walter <i>et al.</i> , (2019).
NIa-Pro	Interação proteína-proteína	Carrington <i>et al.</i> , (1987); Gong <i>et al.</i> , (2020); Jiang <i>et al.</i> , (2011).

Nlb	Corpos de inclusão e RNA polimerase dependente de RNA	Hong <i>et al.</i> , (1996); Revers, <i>et al.</i> , (2015); Shen <i>et al.</i> , (2020).
CP	Movimento viral, amplificação do genoma e transmissão do vetor	Atreya <i>et al.</i> , (1991); Chandran <i>et al.</i> , (2016); Gallo <i>et al.</i> , (2018)
PIPO/PISPO	Patogenicidade e expressão de sintomas	Chung <i>et al.</i> , (2008); Chai <i>et al.</i> , (2020)

1.3.3 TRANSMISSÃO

Os fitovírus podem ser transmitidos mecanicamente com a utilização de substâncias abrasivas (celite, pó de carborundum), enxertia, transplântio, mudas, sementes e vetores, podendo ser: ácaros, insetos, nematóides, fungos e protozoários do solo. A maioria dos vetores virais são insetos como cigarrinhas, cochonilhas, pulgões, tripses, moscas-brancas e besouros (GALLET *et al.*, 2018; KITAJIMA *et al.*, 2004; LEONETTI *et al.*, 2018).

Durante o processo de alimentação, o inseto ao entrar em contato com a planta infectada adquire o vírus e o transmite à planta sadia durante a alimentação seguinte. A transmissão viral por meio de inseto vetor é caracterizada em relação a localização do vírus no vetor, o tempo necessário de aquisição, a retenção, passagem transtadial e transovarial, período de latência e incubação podendo o modo ser do tipo não-circulativo (não-persistente, semi-persistente), e Circulativo (persistente) do tipo circulativo propagativo ou circulativo não-propagativo (BRAULT *et al.*, 2003; NG *et al.*, 2006). O tempo de aquisição viral (tempo necessário para o vetor se alimentar e adquirir vírus o suficiente para transmissão) no modo de transmissão do tipo não-persistente, o vetor leva entre segundos a minutos para adquirir o vírus, ao passo que, no modo semi-persistente este tempo pode variar de minutos a horas. Nesses modos de transmissão o vetor se torna virulífero e ao picar duas ou três plantas consecutivamente o vetor perde a capacidade de transmitir o vírus, e, portanto, o tempo de retenção é curto (HOGENHOUT *et al.*, 2008; LIU *et al.*, 2015). Na transmissão persistente circulativa-propagativa, o vírus pode replicar e circular dentro do inseto, além de se tornar virulífero por toda a vida, enquanto no modo circulativo não-propagativo o vírus não replica no inseto vetor, além de normalmente não acontecer a passagem transovarial. (FARJARD *et al.*, 2019; GADHAVE *et al.*, 2020; GALLET *et al.*, 2018; KITAJIMA *et al.*, 2004; LU *et al.*, 2019).

A transmissão de membros dos gêneros *Potyvirus* e *Macluravirus* é realizada por pulgões de forma não-persistente (BERGER *et al.*, 2005; PIERO *et al.*, 2006). Os vírus pertencentes aos gêneros *Rymovirus*, *Poacevirus* e *Tritimovirus* são transmitidos por ácaros de forma semi-persistente (FERMIN, 2018; GADHAVE *et al.*, 2020). Os bymovírus tem como vetor os Cercozoários (FERMIN, 2018; GADHAVE *et al.*, 2020); e os ipomovírus são transmitidos por mosca-branca (*Bemisia tabaci*) (VALLI *et al.*, 2006). Os vírus dos gêneros

Brambyvirus, *Bevemovirus* e *Roymovirus* possuem vetores desconhecidos. Os vírus da família *Potyviridae* podem ser transmitidos por inoculação mecânica, enxertia (MCKERN *et al.*, 2008) e por sementes (ADAMS *et al.*, 2011; JOSSEY *et al.*, 2013; REVERS; GARCÍA, 2015).

A proteína HC-Pro é importante no processo de transmissão, e do movimento viral sistêmico na planta hospedeira (CRONIN *et al.*, 1995; KASSCHAU *et al.*, 1997; KIM *et al.*, 2020). Existem duas estratégias de ligação do vírus ao estilete do pulgão. A estratégia envolvendo a CP, que interage com os locais de ligação no estilete de pulgões, ao passo que a estratégia auxiliar a HC-Pro atua como uma ponte “ponte molecular” reversível entre a CP e os receptores dos pulgões (FROISSART *et al.*, 2002). A HC-Pro possui dois motivos conservados, um na região N-terminal (KITC) e outro na C-terminal (PTK). O motivo KITC interage com proteínas da cutícula do estilete e o motivo PTK interage com a CP (PIRONE *et al.*, 1996). Especificamente o motivo DAG, identificado na região N-terminal da CP interage com o motivo PTK, favorecendo o processo de transmissão (BLANC *et al.*, 1998; VALLI *et al.* 2018). Resumindo, o modelo do tipo “bridge” ou “ponte” é conhecido, no qual os motivos PTK e DAG determinam a interação de HC-Pro e CP, enquanto o motivo KITC atua na interação do vírus com o estilete do pulgão (DIETZGEN *et al.*, 2016; RUIZ-FERRER *et al.*, 2005).

1.3.4 SINTOMAS E SINAIS

Os sintomas mais comuns de potyvirose são de mosaico, mosqueado, lesões necróticas, clareamento de nervuras, lesões cloróticas, epinastia, bolhosidade e redução da área foliar. (RIASCOS CHICA *et al.*, 2018; SHUKLA *et al.*, 1994). Os potyvírus podem ainda apresentar sinais típicos de infecção tais como o aparecimento de corpos de inclusão citoplasmática do tipo cata-vento (Figura 3) (CI) (EDWARDSON *et al.*, 1984; WYLIE *et al.*, 2017) ou típicos de inclusões nucleares cristalinas (NI), que são formadas pela expressão excessiva das proteínas NIa e NIb (Figura 4) (RODRIGUEZ-CEREZO *et al.* 1997).

Figura 3- Corpos de inclusão citoplasmática do tipo cata-vento.

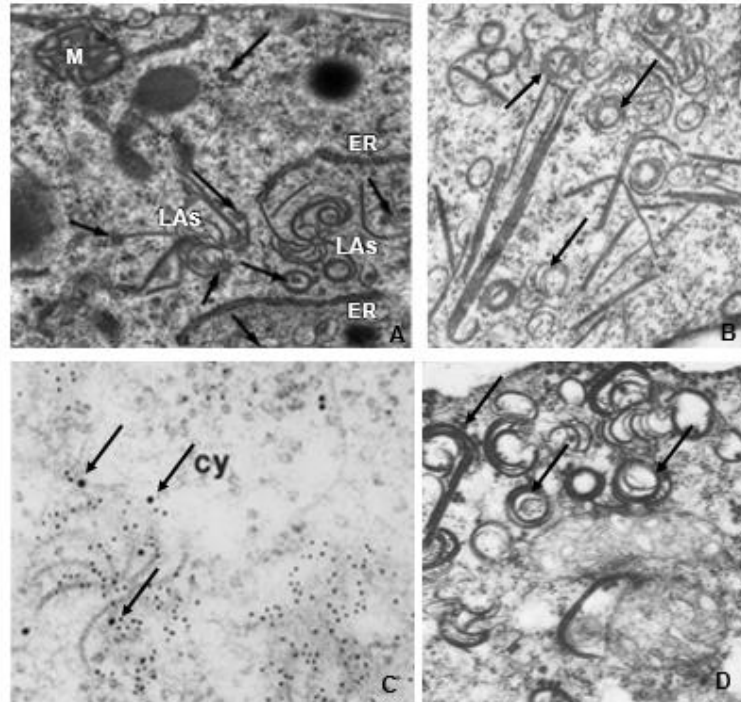
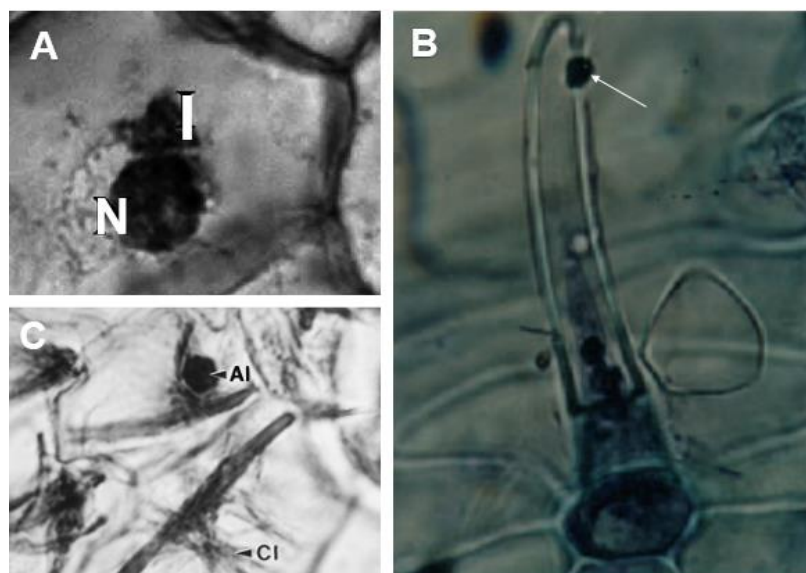


Figura de microscopia eletrônica mostrando as inclusões citoplasmática do tipo cata-vento se desintegrando (indicados pela seta), alguns sendo conectados ao retículo endoplasmático (ER). CW = parede celular, LAs = inclusões de catavento, M = mitocôndria (A) (ROBERTS *et al.* 1998). Inclusões cilíndricas por Watermelon mosaic virus (B) (EDWARDSON *et al.*, 1984). Detecção de proteínas de corpos de inclusão em cataventos destacados da parede celular. cy = citoplasma (C, D) (RODRIGUEZ-CEREZO *et al.* 1997).

Figura 4 - Corpos de inclusão citoplasmática cristalinas.

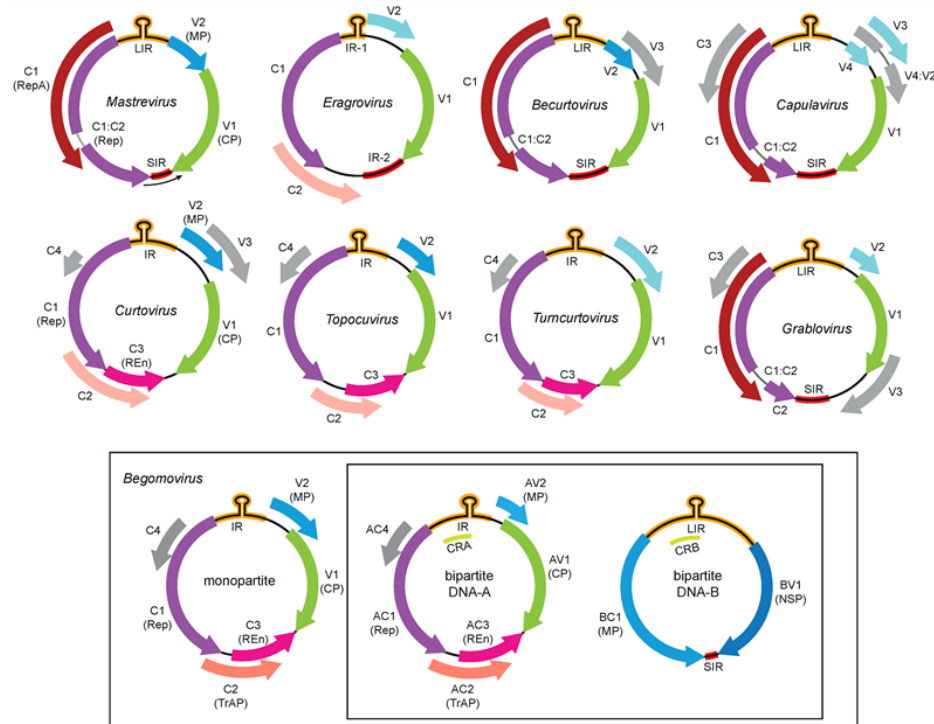


Corpos de inclusão citoplasmática do tipo cristalina em microscopia eletrônica causado pelo *Colombian datura virus* (CDV); N (núcleo), I (inclusão citoplasmática) (A) (CHELLEMI *et al.*, 2011). Tricoma com inclusão citoplasmática causada pelo Bean rugose mosaic comovirus (B) (KOGOVŠEK *et al.*, 2011). Micrografia de luz de corpos de inclusão na epiderme de folhas de melancia nuclear cristalina alongada (NI), inclusões cilíndricas massivas (CI) (C) (PURCIFULL *et al.*, 1998).

1.4. FAMÍLIA GEMINIVIRIDAE

Pertencente ao Filo *Cressdnaviricota*, Classe *Repensiviricetes*, Ordem *Geplafuvirales* a família *Geminiviridae* corresponde a uma das maiores famílias virais contendo mais de 485 espécies distribuídos em nove gêneros (*Becurtovirus*, *Capulavirus*, *Curtovirus*, *Eragrovirus*, *Grablovirus*, *Mastrevirus*, *Topocuvirus*, *Turncurtovirus* e *Begomovirus*) (ICTV, 2020) (Figura 5).

Figura 5 - Organização genômica dos vírus pertencentes a família *Geminiviridae*.



Organização genômica dos respectivos membros da família *Geminiviridae* com suas respectivas ORFs. DNA-A: sentido viral (V), V1 (Capa Proteica, CP), V2 (Proteína de Movimento, MP) e complementar (C), C1 (Replicase, Rep), C2 (Ativador Transcricional, TrAP), C3 (Potenciador da Replicação, REn) e C4 e sítio de replicação, região intergênica (IR). DNA-B: sentido viral (V), BV1 (Proteína de Transporte Nuclear, NSP), sentido complementar (C), BC1 (Proteína do Movimento, MP), (ICTV, 2020).

Os geminivírus possuem capsídeo viral geminado, variando entre 18 nm de diâmetro e 30 nm de comprimento podendo o genoma ser monopartido (uma molécula de DNA, DNA-A) ou bipartido (duas moléculas, DNA-A e DNA-B). O genoma de DNA é circular de fita simples (ssDNA). Cada molécula apresenta cerca de 2500-3000 nucleotídeos (nt) que são encapsidados por uma proteína que se arranja em 22 capsômeros formando dois icosaedros com característica geminada (BROWN *et al.*, 2015; ROJAS, 1993).

Os vírus do gênero *Begomovirus* são transmitidos pelo vetor *Bemisia tabaci* (ISLAM *et al.*, 2018). As cigarrinhas (*Circulifer haematoceps*, entre outros) transmitem membros dos gêneros *Becurtovirus*, *Curtovirus*, *Mastrevirus* e *Turncurtovirus* (KRABERGER *et al.*, 2017;

PEINADO JÚNIOR *et al.*, 2018; QIAO *et al.*, 2020), já os membros dos gêneros *Grabovirus* e *Topocuvirus* são transmitidos por gafanhotos (*Locusta migratoria*) (SUN *et al.*, 2020). Espécies distintas de afídeos (*Aphis craccivora*) transmitem os membros do gênero *Capulavirus* (SUSI *et al.*, 2019), conforme descrito na Figura 6.

Figura 6 - Representação gráfica dos gêneros pertencentes à família Geminiviridae, vetores, hospedeiros, distribuição e números de espécies.

Gêneros	Begomovirus	Curtovirus	Mastrevirus	Topocuvirus	Bercovirus	Eragrovirus	Turncurvovirus	Capulavirus	Grabovirus	Sem classificação
										
Vetor	 <i>Bemisia Tabaci</i> Fonte: Stephen Ausmus	 <i>Circulifer tenellus</i> Fonte: A.C. Magyarosy, USA.	 Leafhoppers Fonte: hydrobuilder.com	 Treehoppers <i>Micranthus</i> sp. Fonte: treehoppers.insect.museum.org	 <i>Circulifer haemotoceps</i> Fonte: Jack Clark/AgStock	Não identificado	 <i>Circulifer haemotoceps</i> Fonte: Jack Clark/AgStock	 <i>Aphis craccivora</i> Fonte: agrolink.com.br	 <i>Spizistilus festinus</i> Fonte: Molly Jacobson	
Hospedeiro	Dicotiledóneas	Dicotiledóneas	Monocotiledóneas e Dicotiledóneas	Dicotiledóneas	Dicotiledóneas	Monocotiledóneas e Eragrostis curvula	Dicotiledóneas (família: Brassicaceae)	Dicotiledóneas	Vitis vinifera	
Distribuição	NW e OW	NW e OW	OW	NW	NW e OW	OW	OW	OW	NW	
Nº de espécies	424	3	41	1	3	1	4	4	4	

Família *Geminiviridae* com suas respectivas organizações genômicas, vetores, hospedeiros e número de espécies.

Os begomovirus são transmitidos em sua maioria por insetos tais como cigarrinhas, moscas-branca e afídeos de modo circulativo não-propagativo. Muitos dos mecanismos de transmissão estão estabelecidos, porém, não completamente esclarecidos, como por exemplo, a forma de penetração nas células do hospedeiro e o escape de sistemas de defesa de degradação da planta (WANG, 2020). A transmissão circulativa envolve interações complexas entre o vetor e o vírus em que barreiras devem ser transpassadas pelo vírus, como a passagem por células epiteliais e a proteção contra o sistema de defesa do inseto. A maioria dos estudos de transmissão das geminivirose estão voltados ao gênero *Begomovirus*. Resumidamente, quando o inseto se alimenta de uma planta infectada, o vírus é transportado pelo intestino médio para entrar na hemolinfa, até infectar às glândulas salivares primárias para então serem secretadas na saliva e continuar o processo infeccioso (COLVIN *et al.*, 2006; CZOSNEK *et al.*, 2017).

No processo de transmissão dos begomovirus a CP se mostra fator fundamental e determinante na circulação do vírus no corpo do inseto (CZOSNEK *et al.*, 2017). A supressão ou suporte da transmissão viral está condicionada a interação com diversas proteínas presentes no vetor, tais como GroEL, HSP16, HSP70, ciclofilina B, colágeno, VAPB (proteína membrana associada à vesícula), vitelogenina, cadeia pesada de clatrina (Rab5), *Knottin-1*, entre outras proteínas (MORIN *et al.*, 2000; SAHU E PRASAD, 2015). Por exemplo, a proteína

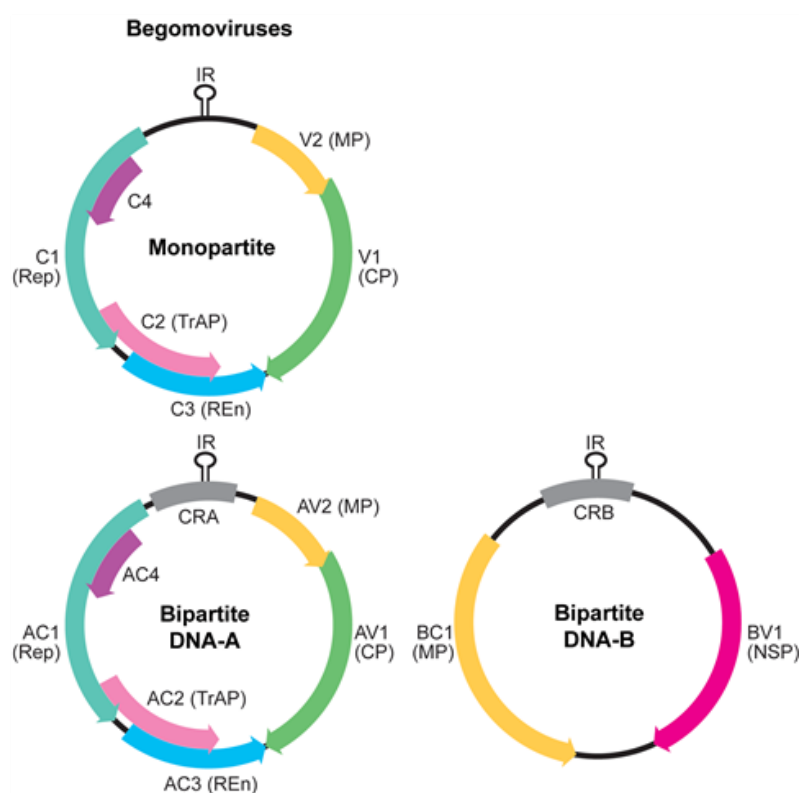
GroEL expressa pelos endossimbiontes *Hamiltonella* ou *Arsenophonus* se liga a CP protegendo-a de degradação (BELLO *et al.*, 2020; SU *et al.*, 2013). A transmissão vertical de tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) é mediada pela interação entre a glicolipofosfoproteína vitelogenina presente na mosca-branca e a CP viral (LESHKOWITZ *et al.*, 2006; WEI *et al.*, 2017). A transmissão viral depende da interação específica entre proteínas virais e do vetor. Em contraste aos geminivírus, os nanovírus e babuvírus podem ser transmitidos por mais de uma espécie de afídeos e estudos mostram uma baixa especificidade da transmissão pelo vetor (ANHALT E ALMEIDA 2008; MANDAL *et al.*, 2010). Por último, estudos revelam que o tráfego intracelular viral é mediado pelo processo de endocitose dependente de clatrina, que facilita a entrada dos begomovírus nas células do intestino médio, e posterior transporte para os endossomos iniciais em um processo envolvendo a Rab5 (PAN *et al.*, 2017; UCHIBORI *et al.*, 2013; SHIVAPRASAD, 2020; VINOTH KUMAR).

1.4.1 ORGANIZAÇÃO GENÔMICA DO GÊNERO BEGOMOVIRUS

Os begomovírus constituem de um genoma de DNA circular fita simples (ssDNA), podendo ser monopartido ou bipartido. Os monopartidos possuem um componente viral (DNA-A), enquanto os bipartidos possuem dois segmentos virais, as moléculas A e B (DNA-A e DNA-B). As partículas são de morfologia icosaédrica geminadas, e são transmitidas por moscas-brancas do complexo *Bemisia tabaci* de maneira circulativa para dicotiledôneas (ADAMS *et al.*, 2005; SURUTHI *et al.*, 2018). O DNA-A no sentido viral possui a ORF AV1/V1, que codifica para a proteína do capsídeo (CP) viral (CANTÚ-IRIS *et al.*, 2019; GARDINER *et al.*, 1988) e a AV2/V2, que está envolvida no movimento viral. No sentido complementar existem quatro ORFs. A AC1/C1 codifica a Rep, proteína iniciadora da replicação viral (KOONIN E ILYINA, 1992; PEI *et al.*, 2020), a AC2/C2 codifica a proteína TrAP, que é ativadora da transcrição de genes tardios (ROSHAN *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2003). A AC3/C3 codifica a proteína REn, que é uma proteína que potencializa a expressão viral (CASTILLO *et al.*, 2003; KAMAL *et al.*, 2019), e a AC4/C4 é responsável na severidade de sintomas para begomovírus monopartidos, e no movimento viral (CARLUCCIO *et al.*, 2018; FONDONG 2019; JUPIN *et al.*, 1984), sendo que sua presença não é necessária para que ocorra infecção de begomovírus bipartidos (MAR *et al.*, 2017). O DNA-B possui duas ORFs, uma no sentido viral, a BV1, que codifica a proteína NSP (*Nuclear shuttle protein*) e atua no transporte do DNA viral do núcleo para o citoplasma da célula (BORNANCINI *et al.*, 2020; NOUEIRY *et al.*, 1994), e outra no sentido complementar, a BC1, que codifica para a proteína de movimento (MP) (ETESSAMI *et al.*, 1988; SOHRAB; HAQ, 2020). Os componentes DNA-A e DNA-B possuem uma região

comum (RC) de aproximadamente 200 pb com alta identidade de sequência nucleotídica (entre 80-100%) entre membros da mesma espécie (FAUQUET *et al.*, 2005; FIALLO-OLIVÉ; NAVAS-CASTILLO, 2020; HARRISON 1985). Esta região contém nove nucleotídeos, TAATATT|AC, altamente conservado responsáveis pelo reconhecimento da proteína Rep e sítio de início da replicação via círculo rolante. A RC também contém elementos *cis* (*iterons*, CA, TATA e G-box) envolvidos nos processos de replicação e transcrição viral (BRIDDON, 2010; BROWN *et al.*, 2015; EAGLE, 1994; EAGLE, 1997; QADIR *et al.*, 2019). A Figura 7 e a Tabela 3 são as representações gráficas dos genomas virais.

Figura 7 - Representação do genoma viral de begomovírus dos tipos monopartido e bipartido



Representação esquemática da organização genômica de begomovírus monopartido e bipartido. A transcrição ocorre de modo bidirecional a partir da região comum (RC). Nos begomovírus bipartidos, a molécula A que é homóloga aos monopartidos codifica de cinco a seis proteínas, sendo que no sentido viral a AV1/V1 codifica para a proteína da capa proteica (CP) e a AV2/V2 para a proteína do movimento (MP). No sentido complementar a AC1/C1 codifica para a Rep, a AC2/C2 para o ativador de transcrição (TrAP), a AC3/C3 para o potencializador de replicação viral (REn), e a AC4/C4, que atua na expressão dos sintomas e movimento viral. O componente B codifica duas proteínas: a BC1 no sentido complementar (proteína de movimento) e a BV1, no sentido viral e codifica para a proteína de transporte nuclear (NSP) (ZERBINI *et al.*, 2017).

Tabela 3 - Propriedades das diferentes proteínas codificadas pelo genoma de begomovírus e literatura encontrada

ORF	Proteína	Função	Literatura
-----	----------	--------	------------

AV1/V1	CP	Capa proteica (CP)	Lacatus e Sunter (2008); Pan <i>et al.</i> , (2017); Xu <i>et al.</i> , (2019).
AV2/V2	MP	Proteína associada ao movimento sistêmico na planta	Chowda-reddy <i>et al.</i> , (2008); Priyadarshini <i>et al.</i> , (2011); Pei <i>et al.</i> , (2020).
AC1/C1	Rep	Regulação da replicação e transcrição do DNA viral	Gregorio-jorge <i>et al.</i> , (2010); Shen <i>et al.</i> , (2018); Wang <i>et al.</i> , (2020).
AC2/C2	TrAP	Fator de transcrição que atua nos promotores do sentido viral	Cantú-iris <i>et al.</i> , (2019); Rajeswaran <i>et al.</i> , (2007); Saeed <i>et al.</i> , (2015).
AC3/C3	REn	Amplificação da replicação viral	Li <i>et al.</i> , 2020; Snehi <i>et al.</i> , (2011); Yadava <i>et al.</i> , (2010).
AC4/C4	AC4	Expressão dos sintomas e movimento viral	Chen <i>et al.</i> , (2019); Kulshreshtha <i>et al.</i> , (2019); Ramesh <i>et al.</i> , (2007).
BC1	MP	Proteína de movimento	Martínez-marrero <i>et al.</i> , (2020); Radhakrishnan <i>et al.</i> , (2008).
BV1	NSP	Transporte do DNA através do envelope nuclear	Martins <i>et al.</i> , (2020); Sanchez-chavez <i>et al.</i> , (2020); Zorzatto <i>et al.</i> , (2015).

Já os nanovírus que possuem genoma de ssDNA replicam com mecanismo semelhante ao ciclo rolante, e possuem também uma estrutura de *hairpin* com sequência TAGTATT↓AC (DI MATTIA *et al.*, 2020; GRONENBORN, 2018). Acredita-se que estas moléculas de DNA viral que infectam eucariontes possuem um ancestral comum com bacteriófagos, ou de plasmídeos bacterianos e que sua evolução ocorreu de modo paralelo aos nanovírus e geminivírus (BRIDDON *et al.*, 2018; KOONIN E ILYINA, 1992; TIMCHENKO *et al.*, 2000).

Análises filogenéticas utilizando sequências pertencentes ao gênero *Begomovirus* inferem a existência de dois grupos: os begomovírus do “Velho Mundo” (Europa, Ásia e África) e os begomovírus do “Novo Mundo” (Américas) (BRIDDON *et al.*, 2010). Os begomovírus do “Velho Mundo” são em sua maioria monopartidos e são geralmente acompanhados de DNA satélites, enquanto os begomovírus do Novo Mundo apresentam maior frequência de genomas bipartidos. No entanto, existem exceções, por exemplo, o tomato chlorotic mottle virus – ToCMoV, que é um vírus bipartido, consegue causar infecção sistêmica, mesmo na ausência do DNA-B (CARMO *et al.*, 2017; FONTENELLE *et al.*, 2007).

Os begomovírus possuem relativamente alta variabilidade genética devido a relativamente altas taxas de recombinação, mutação, e pseudorecombinação (troca de segmentos virais inteiros). As taxas de mutação atingem valores similares aos vírus de RNA

(10^{-3} a 10^{-4}) (DUFFY E HOLMES, 2009; SILVA *et al.*, 2011). No Brasil existem relatos de begomovírus compostos pelos mais diversos tipos de recombinantes como por exemplo, os begomovírus monopartidos encontrados em batata doce, entre outros (ALBUQUERQUE *et al.*, 2012; BORNANCINI *et al.*, 2020; BROWN *et al.*, 2015; LIMA *et al.*, 2017; PASSOS *et al.*, 2017; QUADROS *et al.*, 2019).

1.4.2. MOLÉCULAS SATÉLITES

Os begomovírus monopartidos podem estar associados a DNA satélites pertencentes às famílias *Tolecusatellitidae* (gêneros *Betasatellite* e *Deltasatellite*) e *Alphasatellitidae* (subfamílias *Geminialphasatellitinae* e *Nanoalphasatellitinae*) (ICTV, 2020). Os DNAs satélites estão envolvidos na patogenicidade, expressão de sintomas e supressão do silenciamento gênico (KAMAL *et al.*, 2019; NAWAZ-UL-REHMAN *et al.*, 2009). Os betasatélites (também conhecidos como DNA-β) possuem metade do tamanho do genoma do vírus auxiliar (~1.360 nt), não apresentam identidade nucleotídica parecida com os vírus auxiliares, e necessitam destes para replicação, movimento na planta e transmissão pelo inseto vetor encontrando-se amplamente difundido no velho mundo (BRIDDON *et al.*, 2003; BRIDDON *et al.*, 2008; SHAKIR *et al.*, 2019).

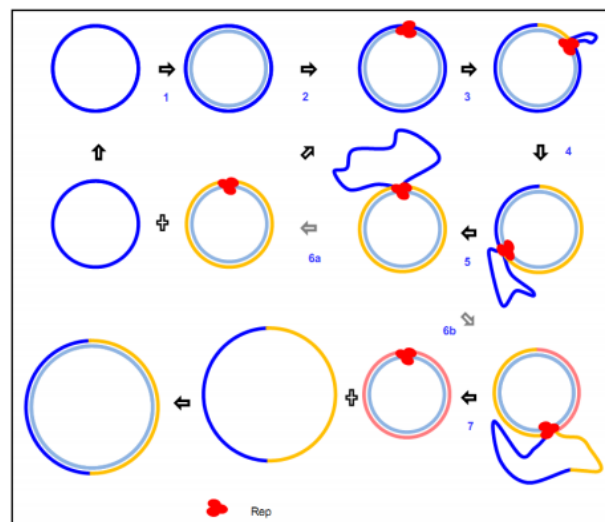
Os alfasatélites podem estar associados a geminivírus ou nanovírus. Os associados a geminivírus possuem metade de uma molécula dos begomovírus (~1.375 nt) e uma ORF, que codifica uma proteína Rep similar aos nanovírus (MANSOOR *et al.*, 1999), uma região rica em adenina (“A-rich region”) e uma estrutura em forma de “hairpin” com a sequência TAGTATTAC (BRIDDON *et al.*, 2003; VENKATARAMAN; SELVARAJAN, 2019). Em contraste, os alfasatélites associados aos nanovírus possuem tamanhos em torno de 1.100 nt, e não possuem uma região rica em adenina.

Os alfasatélites são capazes de replicar na planta hospedeira, porém necessitam de begomovírus auxiliares para movimentação e transmissão pelo inseto vetor (GRONENBORN *et al.*, 2018; SAUNDERS *et al.*, 2000). Embora a maioria dos DNAs satélites estejam associados aos begomovírus monopartidos do velho mundo, no Brasil alfasatélites foram associados a dois begomovírus infectando plantas daninhas, euphorbia mosaic virus e cleome leaf crumple virus, e, estas plantas apresentaram a presença de estruturas genômicas típicas de alfasatélites (PAPROTKA *et al.*, 2010). Em resumo, moléculas satélites estão em sua maioria associadas a begomovírus monopartidos, que são encontrados em sua maioria no velho mundo (Oriente), e poucas moléculas satélites foram encontradas no Brasil até o presente momento (SILVA *et al.*, 2011).

1.4.3 REPLICAÇÃO VIRAL

A replicação dos begomovírus inicia-se quando o vírus é desencapsidado liberando a fita simples de DNA (ssDNA) no citoplasma. A fita simples ligada a proteína CP (complexo CP-ssDNA) é importada para o núcleo da célula hospedeira, onde a replicação viral ocorre com a ajuda da polimerase do hospedeiro para a formação de fita dupla de DNA (dsDNA). Primeiramente são expressos os genes que codificam as proteínas envolvidas na replicação e transcrição (Rep, TrAP e REn) (ALBUQUERQUE *et al.*, 2012). A replicação ocorre por duas vias: replicação por círculo rolante (“*rolling circle replication*” – RCR), Figura 8, e a replicação dependente de recombinação (*recombination-dependent replication* - RDR). Na RCR a proteína Rep se liga e cliva uma das fitas de DNA, no sítio de replicação viral (TAATATT↓AC), que se encontra em uma estrutura em forma de grampo “*hairpin*” dentro da região intergênica. A “forma replicativa” (RF) serve como molde para sucessivas sínteses de ssDNA. (HULL 2014).

Figura 8 - Replicação por círculo rolante nos begomovirus.



Rolling circle replication (Replicação por Círculo Rolante - RCR). Passo 1: A fita simples de DNA (ssDNA), em azul, é convertida em fita dupla (dsDNA) por meio da polimerase do hospedeiro. Passo 2: A Rep (Replication Associated Protein, em vermelho) é expressa e se liga no sítio de ligação de origem de replicação. Passos 3, 4 e 5: A replicação é então iniciada formando uma segunda fita de DNA, para então a fita mais antiga ser liberada. Passo 6a: o monomérico gerado pode ser liberado e ser encapsidado ou servir como molde para mais ciclos de replicação. Passos 6a e 7: monômeros ou dímeros de ssDNA formados podem ser convertidos para dsDNA através da DNA polimerase do hospedeiro para que novos ciclos de replicação ocorram. (MARTIN *et al.*, 2011).

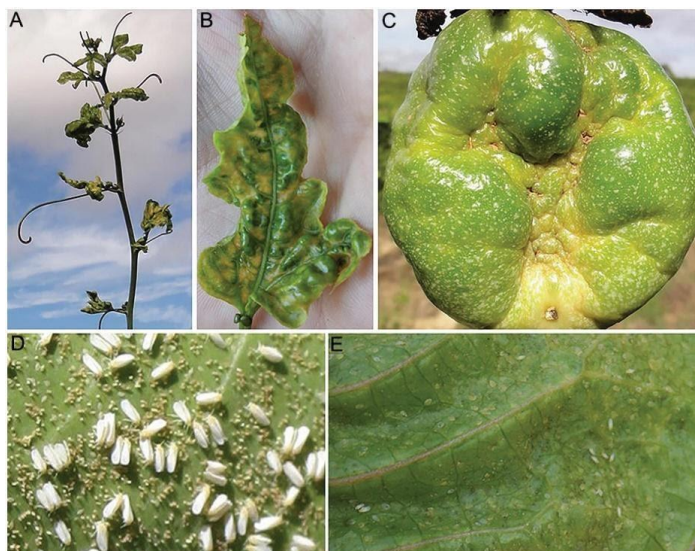
Com a descoberta do abutilon mosaic virus (AbMV) e da identificação de mecanismos intermediários de replicação viral que não podem ser explicados por círculo rolante foi proposta outro modelo de replicação, a dependente de replicação - RDR (JESKE, 2009). Posteriormente este mecanismo foi identificado em outros begomovírus indicando ser um mecanismo

conservado para os begomovírus (PREISS *et al.*, 2003). A RDR ocorre através de uma interação de uma molécula de ssDNA incompleta com um DNA circular covalentemente fechado (*covalently closed circular* - cccDNA), dentro de um sítio de recombinação homólogo. O cccDNA atua como molde e base para a síntese de ssDNA completo. Esta fita servirá como molde para a síntese da fita complementar (JESKE *et al.*, 2001). A relativa alta taxa de recombinação encontrada nos vírus pertencentes à família *Geminiviridae* é justificada pelo mecanismo de replicação por recombinação, pois uma vez dentro do núcleo, e especialmente em casos de infecção mista onde podem acontecer a troca de sequências virais (DAVINO *et al.*, 2009).

1.4.4 SINTOMATOLOGIA

Os sintomas causados por begomovírus variam de acordo com a espécie do vírus, isolado, estado fisiológico da planta e condições ambientais (MACEDO *et al.*, 2014). A infecção ocasionada pelos begomovírus pode resultar em folhas com mosaico amarelo forte, amarelecimento nerval ou interneval, encarquilhamento, redução do tamanho foliar, enrugamento, nanismo, e flores com abscisão floral (Figura 9). As plantas infectadas podem ser habitadas naturalmente pelo inseto vetor, a mosca-branca (*Bemisia tabaci* Gennadius) (CHAUHAN *et al.*, 2018; INOUE-NAGATA, 2016; MACEDO *et al.*, 2020; MUBIN *et al.*, 2020; SILVA *et al.* 2006; ZHAO *et al.*, 2018). Os sintomas ocasionados por begomovírus monopartidos incluem deformação foliar, encrespamento e clorose internerval difusa sendo também transmitido pelo inseto vetor, mosca-branca (Figura 9) (ALBUQUERQUE *et al.*, 2012; FIALLO-OLIVÉ *et al.*, 2020).

Figura 9 - Sintomas causados pela infecção da espécie *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV) em maracujazeiro.



Sintomatologia causada pela espécie *Passionfruit severe leaf distortion virus* (PSLDV) em maracujazeiro (A, B e C), vetor *Bemisia tabaci* (D e E). Rodrigues *et al.*, (2019).

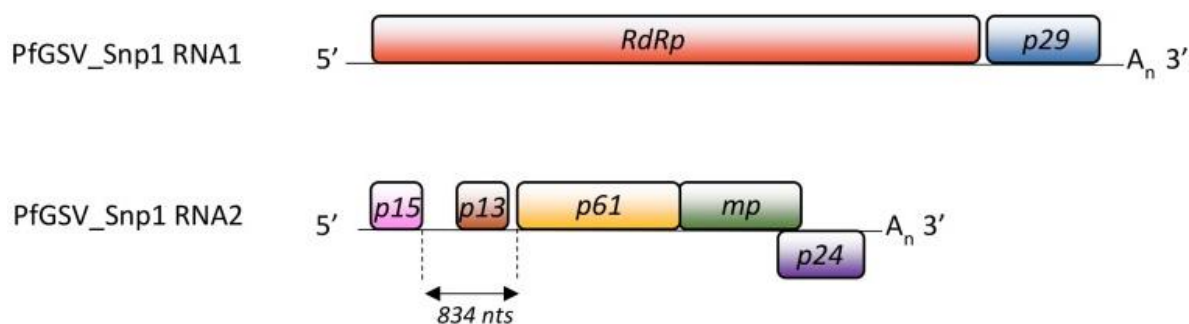
1.5 GÊNERO CILEVIRUS

Na década de 1990, o cultivo do maracujazeiro no município de Vera Cruz, São Paulo, foi incentivado em resposta aos altos preços do café. A cultura serviria como uma fonte alternativa de renda para agricultores da região. Na safra de 1994/1995 um surto de uma nova doença destruiu os pomares de maracujá (KITAJIMA *et al.*, 2003). A nova doença batizada de mancha verde teve indícios de etiologia viral, além do envolvimento do ácaro *Brevipalpus phoenicis*. O vírus foi provisoriamente chamado de passion fruit green spot virus (PfGSV) (KITAJIMA *et al.*, 2003; RAMOS-GONZÁLEZ *et al.*, 2020) e classificado como pertencente à família *Kitaviridae*, gênero *Cilevirus*. Atualmente o PfGSV encontra-se amplamente distribuído nos seguintes estados: DF, MG, RJ, SE, BA, RO e MA (KITAJIMA *et al.*, 2003; MORAES *et al.*, 2006).

1.5.1 ORGANIZAÇÃO GENÔMICA

Pertencente à família *Kitaviridae*, o gênero *Cilevirus* possui vírus com partículas baciliformes e não-envelopadas que encapsidam duas moléculas de RNA de fita simples de senso positivo (ICTV, 2019). O *Citrus leprosis virus C* (CiLV-C) é a espécie tipo do gênero e possui uma estrutura de *cap* na região 5' e uma cauda poli-A na região 3'. O RNA 1 é constituído de cerca de ~9 kb e possui duas ORFs. A ORF1 codifica a RdRp e apresenta domínios conservados de metil transferase, helicase, RNA polimerase dependente de RNA. A ORF2 codifica a proteína de capsídeo com massa molecular de ~29 kDa (FREITAS-ASTÚA *et al.*, 2018; LEASTRO *et al.*, 2020; RAMOS-GONZÁLEZ *et al.* 2020). O RNA2 de ~5 kb tem cinco ORFs que codificam proteínas com função não muito esclarecidas. A p15 está envolvida no mecanismo de replicação, juntamente com os produtos das ORFs p61 e p24. A mp codifica a proteína de movimento (MP). As ORFs p15 e p61 são separadas por um trecho de ~1000 nts conhecido como região intergênica (IR) (LEASTRO *et al.*, 2018; LEASTRO *et al.*, 2020; RAMOS-GONZÁLEZ *et al.* 2020). A Figura 10 mostra a representação gráfica dos genomas de PfGSV e CiLV-C.

Figura 10 - Representação gráfica do genoma de PfGSV RNA-1 e RNA-2 retirado de RAMOS-GONZÁLEZ *et al.* 2020.



Representação da organização genômica de PfGSV com o RNA-1 com a RdRp, p29 e uma cauda poli-A na região 3' e o RNA-2 com a p15, p61, mp, p24 e calda poli A na região 3'.

1.5.2 TRANSMISSÃO

Com mais de 280 espécies descritas na família *Tenuipalpidae*, o ácaro *B. phoenicis* é o vetor de PfGSV e sua transmissão é de forma circulativa (RAMOS-GONZÁLEZ *et al.*, 2020; TASSI *et al.*, 2017). Os insetos possuem tonalidade marrom-avermelhada com corpo achatado e está presente em todo globo (MESA *et al.*, 2009).

Beard *et al.* (2015) concluíram que *B. phoenicis* é na verdade um complexo de oito espécies compostos de *B. phoenicis sensu*, *B. azores* Beard & Ochoa, *B. feresi* Ochoa & Beard, *B. ferraguti* Ochoa & Beard, *B. hondurani* Evans, *B. papayensis* Baker, *B. phoenicis* (Geijskes) *sensu stricto*, *B. tucuman* Ochoa & Beard, e *B. yothersi* Baker. O ácaro se torna virulífero através da alimentação de tecidos infectados, sendo que 4h de alimentação são suficientes para que os ácaros *B. yothersi* inoculam os cilevírus (ALBERTI *et al.*, 2014; TASSI *et al.* 2017).

1.5.3 SINTOMATOLOGIA

As fitoviroses transmitidas pelo ácaro *Brevipalpus* apresentam sintomas locais, tais como: folhas com manchas cloróticas, anelares, necróticas; presença de manchas verdes em folhas senescentes, nos frutos e raramente nas flores (KITAJIMA *et al.*, 2010; MELZER *et al.*, 2013). O PfGSV causa no maracujazeiro sintomas de manchas verdes de 2 a 5 mm de diâmetro em frutos maduros. As manchas podem ser uniformemente verdes ou com uma depressão necrótica central. Manchas verdes surgem em folhas senescentes cloróticas ou ao longo das nervuras podendo ser isoladas ou não. Embora as manchas depreciem o valor de mercado, a mesma não altera a qualidade da fruta. Na haste ocorre o surgimento de lesões necróticas podendo coalescer e cingir a haste. A ausência de fotoassimilados provoca a morte da planta e, eventualmente, a destruição de todo o pomar. (KITAJIMA *et al.*, 1997; KITAJIMA *et al.*, 2003; RAMOS-GONZÁLEZ *et al.*, 2020; ROY *et al.*, 2013).

1.6 FAMÍLIA CAULIMOVIRIDAE

A família *Caulimoviridae* é composta por vírus sem envelope com genoma de dsDNA não-covalentemente fechado circular de 7,1-9,8 kpb, e possuem uma fase de transcriptase-reversa no ciclo de replicação. A morfologia dos vírions podem ser isométricos (gêneros *Caulimovirus*, *Cavemovirus*, *Petuvirus*, *Rosadnavirus*, *Solendovirus* e *Soymovirus*), ou baciliforme (gêneros *Badnavirus* e *Tungrovirus*). Entretanto, até o presente momento não há dados disponíveis sobre a morfologia dos gêneros *Dioscavirus* e *Vaccinivirus* (DE KOCHKO *et al.*, 1988).

Conhecidos por infectarem plantas tropicais como inhame, banana, cacau, tomate entre outros, os badnavírus são pararetrovírus com capacidade de integração ao genoma do hospedeiro, sem a necessidade da codificação da proteína integrase, podendo se replicar ativamente como sequências endógenas de pararetrovírus (*Endogenous Pararetroviral Sequences* - EPRVs), causando perdas econômicas que variam de 10% a 90%. Estão amplamente distribuídos em regiões tropicais e temperadas da África, América do Sul e Norte, Ásia, Austrália e Europa (GEERING *et al.*, 2012; GAYRAL; ISKRA-CARUANA, 2009). Os badnavírus possuem partículas de 120 e 150 nm de comprimento e 30 nm de diâmetro. O genoma consiste em uma molécula de DNA circular aberta de fita dupla de 7200–9200 pb, dependendo da espécie, com pelo menos três estruturas de leitura aberta (ORFs) que é traduzido do transcrito de RNA de comprimento maior que o genoma. São encontrados no citoplasma e às vezes nos vacúolos.

Os badnavirus infectam monocotiledôneas e dicotiledôneas e seus sintomas variam de acordo com o hospedeiro, espécies de vírus e condições ambientais. Em geral os sintomas incluem manchas cloróticas ou estrias necróticas, deformação das folhas e redução comprimento do entrenó que leva ao nanismo das plantas. O resurgimento de sintomas pode ocorrer quando as plantas são submetidas a estresses abióticos como mudança de temperatura e esgotamento de nutrientes. A infecção por badnavírus por plantas propagadas vegetativamente é frequentemente detectada, constituindo desta forma, um importante meio de transmissão. No entanto, espécies tais como *Commelina yellow mottle virus* (ComYMV), *Kalanchoe top-spotting virus* (KTSV), *Piper yellow mottle virus* (PYMoV), *Cacao swollen shoot virus* (CSSV), e *Taro bacilliform virus* (TaBV) são transmitidos de modo semi-persistente por pulgões. O primeiro relato da ocorrência de transmissão de sementes (até 40%) foi com KTSV (HEARON; LOCKE, 1984). Da mesma forma, a transmissão por semente por PYMoV foi relatada em 2010 na pimenta-do-reino (HAREESH; BHAT, 2010; DEESHMA; BHAT, 2014) e de TaBV em 2005 no taro (DEVITT; EBENEBE, 2005).

1.6.1 ORGANIZAÇÃO GENÔMICA

A ORF I dos badnavírus é constituído por 399 a 927 pb dependendo da espécie e de um peptídeo de cerca de 23 kDa, que foi mostrado ser associado ao vírion (CHENG; LOCKHART; OLSZEWSKI, 1996). A ORF II é a menor, variando de 312 a 561 pb. Em cocoa swollen shoot virus (CSSV), a proteína codificada pela ORF II foi identificada como uma proteína de ligação ao ácido nucleico (JACQUOT; HAGEN; JACQUEMOND, 1996); para commelina yellow mottle virus (ComYMV), também foi mostrado que se liga ao capsídeo do vírus (MEDBERRY; LOCKHART; OLSZEWSKI, 1990; CHENG; LOCKHART; OLSZEWSKI, 1996). ORF III varia de 5100 a 6000 bp em comprimento. Codifica uma poliproteína que é clivada em quatro a cinco produtos (proteína do capsídeo, protease aspartato, reversa transcriptase, RNase H e uma putativa proteína de movimento célula-a-célula) (MEDBERRY; LOCKHART; OLSZEWSKI, 1990; JACQUOT; HAGEN; JACQUEMOND, 1996; HOHN; FÜTTERER, 1997). A clivagem desta poliproteína em suas subunidades funcionais é realizada pela protease aspártica. A proteína de revestimento inclui um motivo "Cys", como encontrado na maioria dos elementos de transcrição reversa, e um segundo motivo Cys (CX2CX11CX2CX4CX2C) encontrado apenas em membros dos gêneros (HOHN; FÜTTERER, 1997).

Algumas espécies de badnavírus têm ORFs adicionais: *Piper yellow mottle virus*, *Bougainvillea spectabilis chlorotic vein banding virus* (BsCVBV), *Dioscorea bacilliform SN virus* (DBSNV), *Grapevine Roditis leaf discoloration-associated virus* (GRLDaV), *Taro bacilliform virus* (TaBV) e *Yacon necrotic mottle virus* (YNMoV) (HANY *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2003) têm uma ORF adicional. O CSSV e o pagoda yellow mosaic associated virus (PYMAV) têm duas ORFs adicionais (HAGEN *et al.*, 1993; WANG *et al.*, 2014); citrus yellow mosaic virus (CYMV) e o Taro bacilliform CH virus (TaBCHV) têm três (BORAH, JOHNSON, SAI-GOPAL, 2009; KAZMI *et al.*, 2015); e dracaena mottle virus (DrMV) e rubus yellow net virus (RYNV) possuem quatro ORFs adicionais. Dois dos últimos estão posicionados na fita antisense (SU *et al.*, 2007; KALISCHUK *et al.*, 2013). Não se sabe se essas ORFs são expressas, nem qual poderia ser sua função. As transcrições de pararetrovírus vegetais têm cerca de 600 nt de comprimento de um transcrito líder altamente estruturado, contendo vários ORFs curtos com potencial para formar uma grande estrutura do tipo *stem-loop* conhecida por ser inibitória da tradução. A formação desta estrutura faz com que a primeira longa ORF se aproxime espacialmente da próxima ORF mais curta que termina de 5-10 nt a montante deste elemento estrutural estável. Este elemento é desviado pelo ribossomo de varredura e leva à tradução da primeira ORF longa (FÜTTERER; KISS-LÁSZLÓ; HOHN,

1993; RYABOVA; HOHN, 2000). A conservação desses elementos sugere a conservação deste mecanismo denominado por *shunt* (pulo) *ribossômico* nos badnavírus (POOGGIN *et al.*, 1999).

1.6.2 REPLICAÇÃO

A replicação de badnavírus se inicia quando a fita dupla de DNA marca o início da síntese de DNA de fita positiva e negativa por transcrição reversa dentro do capsídeo do vírus (HOHN; ROTHNIE, 2013). Como resultado o DNA é transferido para o núcleo, onde as descontinuidades são reparadas e minicromossomos são formados pela associação do DNA superenrolado covalentemente fechado com proteínas histonas (HULL, 2001). Uma região intergenômica de 631 a 1.177 pb de comprimento inclui um promotor e um sinal de poliadenilação. O DNA minicromossômico é transcrito por meio da RNA dependente de DNA codificado pelo hospedeiro, criando um RNA terminalmente redundante que atua como pré-genoma e RNA mensageiro policistrônico. A redundância é criada ignorando o sinal de poliadenilação na fita circular de DNA durante o primeiro encontro com a RNA polimerase e reconhecendo-a no segundo encontro (SANFAÇON; HOHN, 1990). Em seguida, o RNA pré-genômico é convertido de volta em dsDNA por meio da transcriptase reversa. Síntese de fita simples, o DNA no sentido (-) é iniciado por tRNAm^{et} e do DNA sentido (+) por produtos de clivagem ricos em purinas deixados após a digestão de RNase H do RNA pré-genômico (MEDBERRY; LOCKHART; OLSZEWSKI, 1990; HOHN; ROTHNIE, 2013).

1.6.3 INTEGRAÇÃO GENÔMICA

Os badnavírus podem se integrar no genoma do hospedeiro por meio de recombinação ilegítima, e sua presença não está necessariamente associado à infecção. No entanto, essas cópias podem dar origem a infecção viral sistêmica por eventos de recombinação, induzida por estresse abiótico como temperatura, água, nutrientes, feridas, luminosidade, enxerto e processos de reprodução, como cruzamentos, processos *in vitro* de cultura de tecidos (DALLOT *et al.*, 2001; CÔTE *et al.*, 2010; BORAH *et al.*, 2013) e cruzamentos interespecíficos (LHEUREUX *et al.*, 2003). Espécies tais como *Banana streak OL virus* (BSOLV), BSGFV, *Banana streak IM virus* (BSIMV) (CHABANNES *et al.*, 2013; GAYRAL *et al.*, 2008) (gênero *Badnavirus*), *Tobacco vein clearing virus* (gênero: *Cavemovirus*) (LOCKHART, MENKE, DAHAL, 2000) e *Petunia vein clearing virus* (gênero: *Petuvirus*) são conhecidos por gerar infecções epissomais em certas plantas híbridas em resposta a estresses abióticos (RICHERT-PÖGGELER, *et al.*, 2003). A presença de vírus endógenos representa um novo desafio para o diagnóstico correto, a taxonomia, o transporte seguro de germoplasmas e o gerenciamento de doenças causadas por badnavírus. Métodos como hibridização de sondas virais, hibridização do

tipo Southern através do uso de sondas virais, PCR do tipo imunocaptura (IC), técnicas de amplificação por círculo rolante (RCA) e o sequenciamento do genoma da planta devem ser empregados no intuito de diferenciar formas episomais integradas do vírus.

1.6.4 SINTOMATOLOGIA

As plantas associadas a sintomas por caulimovírus compreendem: clareamento de nervuras, estrias, mosaico, manchas necróticas, linhas e manchas cloróticas, nanismo, enrolamento da folha, má formação foliar e enrolamento de folíolos (KING, et al., 2012). Em suma, a maioria dos sintomas causado por badnavírus estão associados a deformações foliares. De acordo com os isolados, estado fisiológico do hospedeiro e condições ambientais, o quadro sintomatológico pode se alterar. Por exemplo, isolados de BSV variam de linhas cloróticas fracas à necrose de folhas emergentes a morte total e/ou morte prematura de plantas dependendo das condições ambientais e fisiológicas da planta (GEERING *et al.*, 2005; JACKSON, 1978; LONGWORTH, 1963; RODONI *et al.*, 1994; VISWANATHAN *et al.*, 1996).

Certos badnavírus também podem produzir infecções assintomáticas como SCBV e CSSV em certas variedades de cana-de-açúcar e cacau (GEIJSKES *et al.*, 2002; MULLER *et al.*, 2001), além de causarem sintomas em outras partes do hospedeiro como BSVs que produzem estrias no pseudocaule, variando de amarelo a marrom a preto (LOCKHART, 1986); DaBV causa descoloração da polpa do tubérculo do inhame (descrito como "mancha marrom interna" (HARRISON; ROBERTS, 1973) e alguns isolados de CSSV induzem o "inchaço" nos brotos (LONGWORTH, 1963) e raízes (MULLER; SACKKEY, 2005; POSNETTE, 1947).

1.7 SEQUENCIAMENTO DE ÚLTIMA GERAÇÃO (*NEXT-GENERATION SEQUENCING-HTS*)

Desde a descoberta do DNA em 1953 (WATSON *et al.*, 1953) existiu a necessidade de desenvolver novas tecnologias que permitissem entender a complexidade e diversidade de genomas. A primeira síntese de sequências de ácido nucléico ocorreu entre 1964 e 1965 quando Robert Holley determinou a sequência completa de 77 ribonucleotídeos de tRNA-alanina de *Saccharomyces cerevisiae* (HOLLEY *et al.*, 1964; HOLLEY *et al.*, 1965).

O sequenciamento de ácidos nucleicos foi evoluindo ao longo do tempo e diferentes metodologias e plataformas foram estabelecidas e divididas em técnicas que foram classificadas em de primeira, segunda e terceira geração (BARBA *et al.*, 2014; SLATKO *et al.*, 2018). O sequenciamento tradicional que conhecemos foi desenvolvido na década de 70. Os sequenciadores de primeira geração se baseiam no método de sequenciamento enzimático por

meio de didesoxinucleotídeos desenvolvidos por Sanger em 1977 (LIU *et al.*, 2012; MCCOMBIE *et al.*, 2019; SANGER *et al.*, 1977); a segunda geração de sequenciadores são capazes de realizar leituras de milhões a bilhões de pares de bases em uma única corrida por meio de amplicons separados espacialmente (GALLO *et al.*, 2017; PAREEK *et al.*, 2011) e, por último os sequenciadores de terceira geração permitem a leitura direta de sequências de ácidos nucleicos longos (LOMAN *et al.*, 2015).

No sequenciamento de DNA de primeira geração iniciado por Sanger (1977), o DNA é fragmentado aleatoriamente, clonado em plasmídeos de alto número de cópias, e células de *Escherichia coli* são transformadas com plasmídeos. A região clonada é amplificada usando a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase, *Polymerase Chain Reaction*). Durante os ciclos de PCR, didesoxirribonucleotídeos marcados com fluorescência (ddNTP) são incorporados na posição terminal da sequência. Os fragmentos de DNA são então separados por capilaridade eletroforética de alta resolução por gel de acrilamida. No final da corrida o marcador fluorescente é excitado por um laser argônio e o espectro de emissão é capturado pelo sequenciador. Leituras de comprimentos de aproximadamente 1.000 pares de bases são obtidos com uma precisão de 99,999% (XU, 2019). No entanto, o custo elevado no sequenciamento de genomas completos (*whole-genome sequencing*) levou ao desenvolvimento de técnicas de sequenciamento de segunda geração (BECK *et al* 2016; GARRIDO-CARDENAS *et al.*, 2017; MCGINN; GUT, 2013).

O sequenciamento de segunda geração envolve três passos básicos: (i) a preparação de bibliotecas, (ii) o sequenciamento e, (iii) análises de dados. De forma sucinta, primeiramente ácidos nucleicos extraídos são fragmentados e ligados a adaptadores e *barcodes* específicos. Bibliotecas são construídas e selecionadas para a amplificação clonal *in vitro* de fragmentos de DNA por PCR via emulsão, ou por ponte (*Bridge PCR*), e por último o sequenciamento é realizado através da imobilização de ácido nucleico em fase sólida multiplexada de acordo com as diferentes plataformas disponíveis. Com base nos diferentes métodos usados para imobilizar o DNA em um substrato sólido, três tecnologias foram comercializadas: (i) o pirosequenciamento de alto rendimento utilizando grânulos (*beads*) (454 *Pyrosequencing*), (ii) o sequenciamento por ligação utilizando grânulos (SOLiD, *Applied Biosystem*) e (iii) o sequenciamento por síntese em substrato de vidro (ILLUMINA) (MARGULIES *et al.*, 2005; LIU *et al.*, 2012). Entretanto, como desvantagens o HTS resulta em leituras (*reads*) relativamente curtas e a montagem de genomas que possuem muitas sequências repetitivas, às vezes maiores que as leituras do HTS, é dificultada no processo de *assembly*, resultando em uma montagem incorreta e presença de *gaps*. Além disso, as metodologias de segunda geração

ainda são dependentes da PCR, e, portanto, regiões ricas em GC são ineficientes amplificadas por PCR (DIJK VAN *et al.*, 2018; FUMIAN *et al.*, 2019; MASSART *et al.*, 2019).

Passados mais de 50 anos, hoje a técnica de sequenciamento de última geração (NGS ou HTS) (*Next-Generation Sequencing* ou *High-Throughput Sequencing*) corresponde a um conjunto de tecnologias com intuito de sequenciar o DNA e RNA com rapidez, eficiência e baixo custo. O HTS diferencia inicialmente do método de Sanger, pelo fato de realizar leituras em massa de DNA, com comprimentos que variam entre 25 e 400 pb, enquanto Sanger, sequências de 300 a 750 pb são geradas em uma única corrida. Atualmente, plataformas de sequenciamento HTS podem realizar leituras que chegam a 50 kpb (BEHJATI *et al.*, 2013; SLATKO *et al.* 2018).

A terceira geração de sequenciadores caracteriza-se por serem sequenciadores de cadeia longa, onde as moléculas de DNA/RNA são sequenciadas diretamente sem o viés ocasionado pela PCR, de modo único e em tempo real, que diferentemente do HTS de segunda geração em que o sequenciamento é pausado após a incorporação de uma base, por fluorescência (PacBio, *Pacific Bioscience*) ou por corrente elétrica (Nanopore) (DIJK VAN *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2012). Apesar de atualmente a tecnologia ocasionar relativamente baixas taxas de erro, evitando amplificação associada a problemas de polarização, média de intensidade, fases ou sincronização, a tecnologia ainda é considerada relativamente cara. A primeira metodologia de leitura longa lançada comercialmente foi o sequenciamento em tempo real de uma única molécula (SMRT), oferecida pela tecnologia PacBio (DIJK VAN *et al.*, 2018; EID *et al.*, 2009).

O HTS tornou-se um método eficiente empregado em várias áreas, tais como: diagnose, proteômica, transcriptômica, metagenômica, estudo populacional, mutação, variabilidade genética, dentre outros (ADAMS *et al.*, 2009; BARBA *et al.*, 2014). Dentro da virologia vegetal o sequenciamento em massa de vírus plantas têm sido empregado para a descoberta e montagem de vírus de RNA e DNA, viroides, no estudo funcional do RNA, no silenciamento gênico, e em estudos das relações patógeno-hospedeiro, dentre outros. Além disso, na área da virologia de plantas, técnicas alternativas vêm sendo adotadas para o aumento de sequências virais em bibliotecas de sequenciamento, como exemplo o emprego da técnica de amplificação por círculo rolante (RCA), que visa o aumento sequências virais de DNA de begomovírus e nanovírus no meio. (BARBA *et al.*, 2014; HADIDI *et al.*, 2016; NAVARRO *et al.*, 2009).

1.8 SEQUENCIAMENTO ILLUMINA

O sequenciamento realizado pela antiga empresa Solexa, adquirido pela companhia Illumina (São Diego, CA, EUA) em 2007, é atualmente o mais utilizado e aceito pelo mercado,

especialmente devido a geração de dados de relativamente alta qualidade (baixas taxas de erros) e custos aceitáveis (IBABA E GUBBA, 2020; JONGHE *et al.*, 2018). A empresa Illumina detêm várias plataformas de sequenciamento, tais como: *Hiseq 2000*, *Hiseq 1000*, *Genome Analyzer lx*, *Hiseq 2500*, que podem gerar resultados de *output* de até 600, 300, 95 e de 120 GB de dados por corrida, respectivamente, entre outros sequenciadores (HODZIC *et al.*, 2017; MACLOT *et al.*, 2020).

O processo de sequenciamento da plataforma Illumina se inicia quando ácidos nucleicos são fragmentados aleatoriamente, e adaptadores são ligados a extremidade 5' e fixados em uma superfície de clonagem dividida em linhas chamada de *flow cells*, deixando assim a extremidade 3' livre para servir de iniciação para o sequenciamento desses fragmentos (MALIOGKA *et al.*, 2018). Assim que ocorre a imobilização dos fragmentos por meio de hibridização, o ciclo de PCR é iniciado. Os oligonucleotídeos são espaçados na lâmina de modo que o DNA, após ser submetido a rodadas repetidas de amplificação, se organiza em *clusters* clonais consistindo em cerca de 1000 cópias de cada fragmento. Cada lâmina de vidro pode suportar milhões de reações de agrupamento paralelas. No processo de anelamento, o fragmento forma uma estrutura tipo "ponte", ocorrendo a extensão e formação de uma fita complementar, também do tipo "ponte". No processo de desnaturação ocorre a separação e a linearização dos fragmentos. Os ciclos são repetidos cerca de 35 vezes, gerando aproximadamente 1000 cópias de cada fragmento, formando *clusters* de sequenciamento. O processo está representado na Figura 11. (MEDINI *et al.*, 2008; RAVI *et al.*, 2018; SLATKO *et al.*, 2018).

Figura 11 - Esquema de um sequenciamento do tipo Illumina

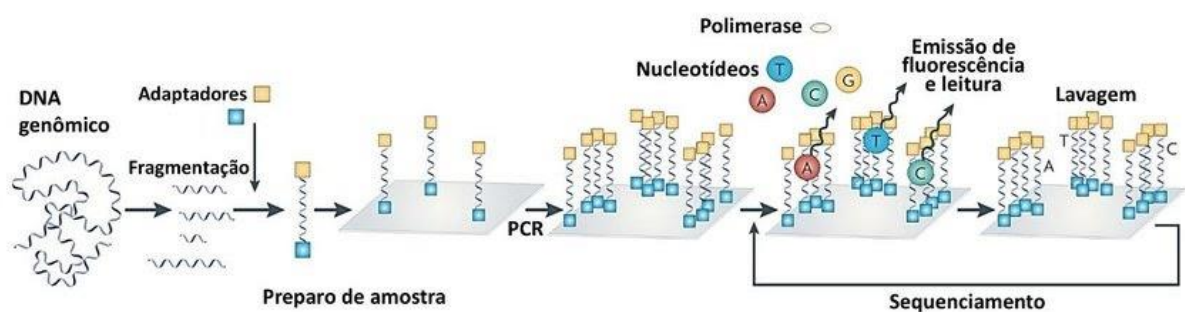


Figura esquemática do sequenciamento Illumina. Primeiramente o DNA genômico é fragmentado e os adaptadores são ligados às extremidades e fixados a uma superfície sólida, onde ocorre a PCR *fold-back* e ancorado os *primers*. Múltiplos ciclos de amplificação em fase sólida seguido por desnaturação cria *clusters* de ~ 1.000 cópias de DNA de fita simples. O sequenciamento é realizado sequencialmente usando iniciadores de DNA polimerase e os nucleotídeos são marcados com fluoróforo. Após a incorporação de um nucleotídeo, a imagem é capturada e a identidade da primeira base é registrada. Os terminadores e fluoróforos são então removidos e a incorporação, detecção e as etapas de identificação são repetidas. O comprimento médio de leitura é atualmente varia de 50 a 100 bp. Retirado de MEDINI *et al.*, 2008.

1.9 BIOINFORMÁTICA APLICADA A MONTAGEM DE VÍRUS

Após o sequenciamento, as análises de bioinformática devem ser realizadas para montagem de genoma viral (verificação de qualidade de sequenciamento, trimagem de adaptadores, montagem de *contigs*, extensão e montagem de genomas). Uma primeira análise superficial da classificação taxonômica dos *reads* de dados de metagenômica pode ser verificada através do software Kaiju (<http://kaiju.binf.ku.dk/>) (MENZEL *et al.*, 2016), que permite utilizar sequências de nucleotídeos completas ou sequências de proteínas não-redundantes (*nr*) disponíveis no banco de dados do NCBI. O Kaiju se tornou uma ferramenta rápida, de fácil acesso (com interface gráfica) em que encontra o alinhamento máximo usando a transformação *Burrows-Wheeler*. O Kaiju não utiliza uma metodologia de comparação baseada em *k-mers* que deixam parte dos *reads* não-classificados, apesar de serem metodologias de alta velocidade (ONDOV, 2011). Em seguida, a qualidade dos *reads* gerados devem ser analisados. O software mais utilizado atualmente é o FastQC v. 11.9, que foi desenvolvido pelo grupo de bioinformática do Babraham Institute (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>) (ALBERT, 2014). O software FastQC é escrito em Java e pode ser usado de modo *online*, onde um conjunto de dados individualmente ou grupos de dados podem ser analisados ao mesmo tempo. O programa exibe vários relatórios em um painel unificado com gráficos de tamanhos e qualidade dos *reads*, erros ao longo do sequenciamento, presença de contaminações, entre outros (GDULA *et al.*, 2019; WINGETT; ANDREWS, 2018).

Após a verificação da qualidade dos *reads*, caso seja necessário, a trimagem dos terminais 3' deve ser realizada por meio do software Trimmomatic v.0.39 (<http://www.usadellab.org/cms/?page=trimmomatic>) (BOLGER *et al.* 2014; ZHAO *et al.*, 2017), surge como uma ferramenta para retirada (trimagem) dos adaptadores e sequências de baixa qualidade. Os *contigs* são montados através de montadores como o SPAdes (BANKEVICH *et al.*, 2012), MEGAHIT (GARCÍA-LÓPEZ *et al.*, 2015; LI *et al.* 2016) e Velvet (SMITH 2016; ZERBINI 2018). Uma vez montados os *contigs*, estes são comparados a um banco de dados de referência viral utilizando ferramentas de procura tais como BLAST, tBLASTX, eUBLAST (BUCHFINK *et al.*, 2015). A montagem de genomas pode ser realizada utilizando-se genomas de referência ou a partir da montagem *de novo*. Algumas *pipelines* de bioinformática para a montagem e descobrimento de novas sequências virais foram publicados por Blawid *et al.* (2017), Akinyemi *et al.*, (2016), Zheng *et al.*, (2017).

O objetivo geral deste trabalho consiste no estudo da diversidade viral em plantações de maracujá na região de pequenas produções no estado do Acre. Para tanto, folhas de *Passiflora*

sp. sintomáticas e assintomáticas, bem como plantas invasoras nas áreas produtoras foram coletadas, classificadas e submetidas ao sequenciamento de última geração (HTS).

REFERÊNCIAS

- ADAMS, M. J.; ANTONIW, J. F.; FAUQUET, C. M. Molecular criteria for genus and species discrimination within the family Potyviridae. **Archives of Virology**, v. 150, n. 3, p. 459–479, 2005. doi: 10.1007/s00705-004-0440-6.
- ADAMS, M. J.; ZERBINI, M.; FRENCH, R. C.; RABENSTEIN, F.; STENGER, D. C.; VALKONEN, J. 2011. **Family Potyviridae**. In King, A. M. Q., ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. (eds.), The International Committee on the Taxonomy of Viruses, 9th Report. Elsevier/Academic Press, London. p. 1069-1089.
- ALBERTI, G.; ANDRADE, D. D. E. DE; GARITA, L. C.; KITAJIMA, E. W. Anatomy and Fine structure of Brevipalpus mites (Tenuipalpidae) - Economically important plant-virus vectors - Part 3: Digestive System. **Zoologica**, Germany, v. 160, p. 67–94, 2014.
- ALBUQUERQUE, L. C.; INOUE-NAGATA, A. K.; PINHEIRO, B.; RESENDE, R. O.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. Genetic diversity and recombination analysis of sweepoviruses from Brazil. **Virology Journal**, v. 9, 2012. doi: 10.1186/1743-422X-9-241.
- ANHALT, M. D.; ALMEIDA, R. P. P. Effect of temperature, vector life stage, and plant access period on transmission of Banana bunchy top virus to banana. **Phytopathology**, USA, v. 98, n. 6, p. 743–748, 2008. doi: 10.1094/PHYTO-98-6-0743.
- ANJOS, J. R. N. DOS; JUNQUEIRA, N. T. V.; CHARCHAR, M. J. D'ÁVILA. Incidência e Distribuição do Vírus do Endurecimento dos Frutos do Maracujazeiro no Cerrado do Brasil Central. **Documentos**, v. 30, n. 1–17, 2001.
- ATAÍDE, E. M.; OLIVEIRA, J. C.; RUGGIERO, C. Florescimento e frutificação do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea*. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 34, n. 1, p. 377–381, 2012. doi: ISSN 0100-2945.
- ATREYA, P. L.; ATREYA, C. D.; PIRONE, T. P. Amino acid substitutions in the coat protein result in loss of insect transmissibility of a plant virus. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 88, n. 17, p. 7887–7891, 1991. doi: 10.1073/pnas.88.17.7887.
- BANKEVICH, A.; NURK, S.; ANTIPOV, D.; GUREVICH, A. A.; DVORKIN, M.; KULIKOV, A. S.; LESIN, V. M.; NIKOLENKO, S. I.; PHAM, S.; PRJIBELSKI, A. D.; PYSHKIN, A. V.; SIROTKIN, A. V.; VYAHHI, N.; TESLER, G.; ALEKSEYEV, M. A.; PEVZNER, P. A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. **Journal of Computational Biology**, USA, v. 19, n. 5, p. 455-77, 2012. doi: 10.1089/cmb.2012.0021.
- BAKER, C.A.; JONES, L. A new potyvirus found in *Passiflora incense* in Florida. **Plant Disease**, v. 91, p. 227, 2007. doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-2-0227A>.
- BEARD, J. J.; OCHOA, R.; BRASWELL, W. E.; BAUCHAN, G. R. *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) species complex (Acari: Tenuipalpidae) - A closer look. **Zootaxa**. v. 3944, p. 66, 2015. doi: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3944.1.1>.

BERGER, P. H. *et al.* **Family Potyviridae**. In: Fauquet CM *et al.* (ed). Virus taxonomy. San Diego: Elsevier Academic, p. 819 – 841, 2005.

BHAT A. I.; HOHN, T.; SELVARAJAN, R. Badnaviruses: The Current Global Scenario. **Viruses**, USA, v. 8, n. 177, p. 1-29, 2016. doi: 10.3390/v8060177

BLANC, S.; AMMAR, E. D.; GARCIA-LAMPASONA, S.; DOLJA, V. V.; LLAVE, C.; BAKER, J.; PIRONE, T. P. Mutations in the potyvirus helper component protein: Effects on interactions with virions and aphid stylets. **Journal of General Virology**, v. 79, n. 12, p. 3119–3122, 1998. doi: 10.1099/0022-1317-79-12-3119.

BLANCO-URGOITI, B.; SÁNCHEZ, F.; DOPAZO, J.; PONZ, F. A strain-type clustering of potato virus Y based on the genetic distance between isolates calculated by RFLP analysis of the amplified coat protein gene. **Archives of Virology**, v. 141, p. 2425–2442, 1996. doi: <https://doi.org/10.1007/BF01718641>.

BORAH, B. K.; JOHNSON, A. M. A.; SAI-GOPAL, D. V. R.; Dasgupta, I. Sequencing and computational analysis of complete genome sequences of Citrus yellow mosaic badnavirus from acid lime and pummelo. **Virus Genes**. v. 39, p. 137–140, 2009. doi: 10.1007/s11262-009-0367-9.

BORAH, B. K.; SHARMA, S.; KANT, R.; JOHNSON, A. M.; SAIGOPAL, D. V.; DASGUPTA, I. Bacilliform DNA-containing plant viruses in the tropics: commonalities within a genetically diverse group. **Mol Plant Pathol**, UK, v. 14, n. 8, p. 759-71, 2013. doi: 10.1111/mpp.12046.

BORNANCINI, V. A.; IRAZOQUI, J. M.; FLORES, C. R.; VAGHI MEDINA, C. G.; AMADIO, A. F.; LÓPEZ LAMBERTINI, P. M. Reconstruction and characterization of full-length begomovirus and alphasatellite genomes infecting pepper through metagenomics. **Viruses**, v. 12, n. 2, 2020. doi: 10.3390/v12020202.

BRAULT, V.; UZEST, M.; MONSION, B.; JACQUOT, E.; BLANC, S. Aphids as transport devices for plant viruses. **Comptes Rendus - Biologies**, v. 333, n. 6–7, p. 524–538, 2003. doi: 10.1016/j.crv.2010.04.001

BRIDDON, R. W.; BROWN, J. K.; MORIONES, E.; STANLEY, J.; ZERBINI, M.; ZHOU, X.; FAUQUET, C. M. Recommendations for the classification and nomenclature of the DNA- β satellites of begomoviruses. **Archives of Virology**, v. 153, n. 4, p. 763–781, 2008. doi: 10.1007/s00705-007-0013-6.

BRIDDON, R. W.; MARTIN, D. P.; ROUMAGNAC, P.; NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVÉ, E.; MORIONES, E.; LETT, J. M.; ZERBINI, F. M.; VARSANI, A. Alphasatellitidae: a new family with two subfamilies for the classification of geminivirus- and nanovirus-associated alphasatellites. **Archives of Virology**, v. 163, n. 9, p. 2587–2600, 2018. doi: <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3854-2>.

BRIDDON, R. W.; PATIL, B. L.; BAGEWADI, B.; NAWAZ-UL-REHMAN, M. S.; FAUQUET, C. M. Distinct evolutionary histories of the DNA-A and DNA-B components of bipartite begomoviruses. **BMC Evolutionary Biology**, v. 10, n. 1, 2010. doi: 10.1186/1471-2148-10-97.

BRIDDON, R. W.; BULL, S. E.; AMIN, I.; MANSOOR, S.; BEDFORD, I. D.; RISHI, N.; SURENDER S SIWATCH, S. S.; ZAFAR, Y.; ABDEL-SALAM, A. M.; MARKHAM, P. G. Diversity of DNA β , a satellite molecule associated with some monopartite begomoviruses. **Virology**, v. 312, n. 1, p. 106–121, 2003. doi: 10.1016/j.virol.2004.03.041.

BROWN, J. K. *et al.* Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. **Archives of virology**, v. 160, n. 6, p. 1593–1619, 2015. doi: 10.1007/s00705-015-2398-y.

CANTÚ-IRIS, M.; PASTOR-PALACIOS, G.; MAURICIO-CASTILLO, J. A.; BAÑUELOS-HERNÁNDEZ, B.; AVALOS-CALLEROS, J. A.; JUÁREZ-REYES, A.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.; ARGÜELLO-ASTORGA, G. R. Analysis of a new begomovirus unveils a composite element conserved in the CP gene promoters of several Geminiviridae genera: Clues to comprehend the complex regulation of late genes. **Plos One**, USA, v. 14, n. 1, p. 1–24, 2019. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210485>.

CARLUCCIO, A. V.; PRIGIGALLO, M. I.; ROSAS-DIAZ, T.; LOZANO-DURAN, R.; STAVOLONE, L. S-acylation mediates Mungbean yellow mosaic virus AC4 localization to the plasma membrane and in turns gene silencing suppression. **Plos Pathogens**, v. 14, n. 8, p. 1–26, 2018. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007207>.

CARRINGTON, J. C.; DOUGHERTY, W. G. Small Nuclear Inclusion Protein encoded by a plant potyvirus genome is a protease. v. 61, p. 2540–2548, 1987. doi: 10.1128/JVI.61.8.2540-2548.1987.

CARRINGTON, J. C.; HALDEMAN, R.; DOLJA, V. V.; RESTREPO-HARTWIG, M. A. Internal cleavage and trans-proteolytic activities of the VPg-proteinase (Nia) of tobacco etch potyvirus in vivo. **Journal of Virology**, USA, v. 67, n. 12, p. 6995–7000, 1993. doi: 10.1128/JVI.67.12.6995-7000.1993.

CASTILLO, A. G.; COLLINET, D.; DERET, S.; KASHOGGI, A.; BEJARANO, E. R. Dual interaction of plant PCNA with geminivirus replication accessory protein (REn) and viral replication protein (Rep). **Virology**, v. 312, n. 2, p. 381–394, 2003. doi: 10.1016/s0042-6822(03)00234-4.

CHABANNES, M.; BAURENS, F. C.; DUROY, P. O.; BOCS, S.; VERNEREY, M. S.; RODIER-GOUD, M.; BARBE, V.; GAYRAL, P.; ISKRA-CARUANA, M. L. Three infectious viral species lying in wait in the banana genome. **J. Virol**, USA, v. 87, p. 8624–8637, 2013. doi: 10.1128/JVI.00899-13.

CHABANNES, M.; GABRIEL, M.; AKSA, A.; GALZI, S.; DUFAYARD, J. F.; ISKRA-CARUANA, M. L.; MULLER, E. Badnaviruses and banana genomes: a long association sheds light on Musa phylogeny and origin. **Mol Plant Pathol**, UK, v. 22, n. 2, p. 216–230, 2021. doi: 10.1111/mpp.13019.

CHAI, M.; WU, X.; LIU, J.; FANG, Y.; LUAN, Y.; CUI, X.; ZHOU, X.; WANG, A.; CHENG, X. P3N-PIPO Interacts with P3 via the Shared N-Terminal Domain To Recruit Viral Replication Vesicles for Cell-to-Cell Movement. **Journal of Virology**, USA, v. 94, n. 8, p. 1–18, 2020. doi: 10.1128/JVI.01898-19.

CHANDRAN, V.; GAJJERAMAN, P. Molecular diversity analysis of Pretty Interesting Potyviridae ORF (PIPO) coding region in Indian isolates of Sugarcane streak mosaic virus. **Sugar Tech**, v. 18, n. 2, p. 214–221, 2016. doi: <https://doi.org/10.1007/s12355-015-0376-z>.

CHANDRIKA R. C. V.; HEMA, M. Cis-proteolytic activity of a recombinant nuclear inclusion a (NIa) proteinase from Sugarcane Streak Mosaic Virus, a member of the genus Poacevirus in the family Potyviridae. **Molecular Genetics, Microbiology and Virology**, v. 31, n. 2, p. 102–108, 2016. doi: <https://doi.org/10.3103/S0891416816020038>.

CHEN, K.; KHATABI, B.; FONDONG, V. The AC4 protein of a cassava geminivirus is required for virus infection. **Molecular Plant Microbe Interaction**, v. 32, p. 865–875, 2019. doi: 10.1094/MPMI-12-18-0354-R.

CHEN, L. J.; ZHANG, X. X.; LU, Y. L.; AN, Y. X. First report of turnip mosaic virus on yellow passion fruit in China. **Disease Note**, 2021. DOI 10.1007/s42161-020-00734-9. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00734-9>. Acesso em 18 jan. 2021.

CHENG, C. P.; LOCKHART, B. E.; OLSZEWSKI, N. E. The ORF I and II Proteins of Commelina yellow mottle virus are virion-associated. **Virology**, v. 223, p. 263–271, 1996. doi: 10.1006/viro.1996.0478.

CHENG, X.; WANG, A. The Potyvirus Silencing Suppressor Protein VPg Mediates Degradation of SGS3 via Ubiquitination and Autophagy Pathways. **Journal of Virology**, USA, v. 91, n. 1, p. 01478–16, 2017. doi: 10.1128/JVI.01478-16.

CHENG, Y. H.; DENG, T. C.; CHEN, C. C.; CHIANG, C. H.; CHANG, C. A. First report of Euphorbia leaf curl virus and papaya leaf curl Guangdong virus on passion fruit in Taiwan. **Plant Disease**, v. 98, n. 12, p. 1746, 2014. doi: 10.1128/JVI.01478-16.

CHIEMSOMBAT, P.; PRAMMANEE, S.; PIPATTANAWONG, N. Occurrence of Telosma mosaic virus causing passion fruit severe mosaic disease in Thailand and immunostrip test for rapid virus detection. **Crop Protection**, v. 63, p. 41–47, 2014. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.04.023>.

CHINGANDU, N.; KOUAKOU, K.; AKA, R.; AMEYAW, G.; GUTIERREZ, O. A.; HERRMANN, H. W.; BROWN, J. K. The proposed new species, cacao red vein virus, and three previously recognized badnavirus species are associated with cacao swollen shoot disease. **Virology Journal**, v. 14, n. 1, p. 199, 2017. doi: 10.1186/s12985-017-0866-6.

CHONG, Y. H.; CHENG, Y. H.; CHENG, H. W.; HUANG, Y. C.; YEH, S. D. The virus causing passionfruit woodiness disease in Taiwan is reclassified as East Asian passiflora virus. **Journal of General Plant Pathology**, UK, v. 84, n. 3, p. 208–220, 2018. doi: 10.1007/s10327-018-0777-4.

CHOWDA-REDDY, R. V.; ACHENJANG, F.; FELTON, C.; ETAROCK, M. T.; ANANGFAC, M. T.; NUGENT, P.; FONDONG, V. N. Role of a geminivirus AV2 protein putative protein kinase C motif on subcellular localization and pathogenicity. **Virus Research**, v. 135, n. 1, p. 115–124, 2008. doi: 10.1016/j.virusres.2008.02.014.

CHUNG, B. Y.; MILLER, W. A.; ATKINS, J. F.; FIRTH, A. E. An overlapping essential gene in the Potyviridae. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, USA, v. 105, n.15, p. 5897–5902, 2008. doi: 10.1073/pnas.0800468105.

COLVIN, J.; OMONGO, C. A.; GOVINDAPPA, M. R.; STEVENSON, P. C.; MARUTHI, M. N.; GIBSON, G.; SEAL, S. E.; MUNIYAPPA, V. Host-Plant viral infection effects on arthropod-vector population growth, development and behaviour: Management and epidemiological implications. **Advances in Virus Research**, v. 67, n. 06, p. 419–452, 2006. doi: 10.1016/S0065-3527(06)67011-5.

COSTA, A. DE F. S. DA; COSTA, A. N. DA; VENTURA, J. A.; FANTON, C. J.; LIMA, I. DE M.; CAETANO, L. C. S.; SANTANA, E. N. DE. Recomendações técnicas para o cultivo do maracujazeiro. **Incaper - Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural**, p. 56, 2008.

CÔTE, F. X.; GALZI, S.; FOLLIOT, M.; LAMAGNÈRE, Y.; TEYCHENEY, P. Y.; ISKRA-CARUANA, M. L. Micropropagation by tissue culture triggers differential expression of infectious endogenous Banana streak virus sequences (eBSV) present in the B genome of natural and synthetic interspecific banana plantains. **Mol. Plant Pathol.** v. 11, p. 137–144, 2010. doi: 10.1111/j.1364-3703.2009.00583.x

COUTTS, B. A.; KEHOE, M. A.; WEBSTER, C. G.; WYLIE, S. J.; JONES, R. A. C. Indigenous and introduced potyviruses of legumes and Passiflora spp. from Australia: Biological properties and comparison of coat protein nucleotide sequences. **Archives of Virology**, v. 156, n. 10, p. 1757–1774, 2011. doi: 10.1007/s00705-011-1046-4.

CRESTANI, O. A; KITAJIMA, M. T. L.; MARINHO, V. L. A. Passion fruit yellow mosaic virus, a new tymovirus found in Brazil. **Phytopathology**, USA, v. 76, p. 951–955, 1986. doi: 10.1094/Phyto-76-951.

CRONIN, S.; VERCHOT, J.; HALDEMAN-CAHILL, R.; SCHAAD, M. C.; CARRINGTON, J. C. Long-distance movement factor: A transport function of the Potyvirus Helper Component Proteinase. **The Plant Cell**, USA, v. 7, n. 5, p. 549, 1995. doi: 10.1105/tpc.7.5.549.

CUI, H.; WANG, A. Plum Pox Virus 6K1 protein is required for viral replication and targets the viral replication complex at the early stage of infection. **Journal of Virology**, USA, v. 90, n. 10, p. 5119–5131, 2016. doi: 10.1128/JVI.00024-16.

CUI, X.; LU, L.; WANG, Y.; YUAN, X.; CHEN, X. The interaction of soybean reticulon homology domain protein (GmRHP) with Soybean mosaic virus encoded P3 contributes to the viral infection. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, UK, v. 495, n. 3, p. 2105–2110, 2018. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.12.043.

CUI, X.; YAGHMAIEAN, H.; WU, G.; WU, X.; CHEN, X.; THORN, G.; WANG, A. The C-terminal region of the Turnip mosaic virus P3 protein is essential for viral infection via targeting P3 to the viral replication complex. **Virology**, v. 510, n. 6, p. 147–155, 2017. doi: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.07.016>.

CZOSNEK, H.; HARITON-SHALEV, A.; SOBOL, I.; GOROVITS, R.; GHANIM, M. The incredible journey of Begomoviruses in their whitefly vector. **Viruses**, v. 9, n. 10, 2017. doi: 10.3390/v9100273.

DAVINO, S.; NAPOLI, C.; DELLACROCE, C.; MIOZZI, L.; NORIS, E.; DAVINO, M.; ACCOTTO, G. P. Two new natural begomovirus recombinants associated with the tomato yellow leaf curl disease co-exist with parental viruses in tomato epidemics in Italy. **Virus Research**, v. 143, n. 1, p. 15–23, 2009. doi: 10.1016/j.virusres.2009.03.001.

DE KOCHKO A.; VERDAGUER, B.; TAYLOR, N.; CARCAMO, R.; BEACHY, R. N.; FAUQUET, C. Cassava vein mosaic virus (CsVMV), type species for a new genus of plant double stranded DNA viruses. **Archives of Virology**, v. 143, p. 945-962, 1998. doi: 10.1007/s007050050344.

DEESHMA, K. P.; BHAT, A. I. Further evidence of true seed transmission of Piper yellow mottle virus in black pepper (*Piper nigrum* L.). **J. Plant. Crops**, India, v. 42, p. 289–293, 2014. doi: <https://updatepublishing.com/journal/index.php/JPC/article/view/5622>.

DEVITT, L.; EBENEKE, A.; GREGORY, H.; HARDING, R.; HUNTER, D.; MACANAWAI, A. Investigations into the seed and mealybug transmission of Taro bacilliform virus. **Plant Pathol.** v. 34, p. 73–76, 2005.

DIETZGEN, R. G.; MANN, K. S.; JOHNSON, K. N. Plant virus-insect vector interactions: Current and potential future research directions. **Viruses**, v. 8, n. 11, p. 1–21, 2016. doi: 10.3390/v8110303.

DUFFY, S.; HOLMES, E. C. Validation of high rates of nucleotide substitution in geminiviruses: Phylogenetic evidence from East African cassava mosaic viruses. **Journal of General Virology**, v. 90, n. 6, p. 1539–1547, 2009. doi: 10.1099/vir.0.009266-0.

DUNOYER, P.; THOMAS, C.; HARRISON, S.; REVERS, F.; MAULE, A. A cysteine-rich plant protein potentiates potyvirus movement through an interaction with the Virus Genome-Linked Protein VPg. **Journal of Virology**, USA, v. 78, n. 5, p. 2301–2309, 2004. doi: 10.1128/jvi.78.5.2301-2309.2004.

EAGLE, P. A.; HANLEY-BOWDOIN, L. Cis elements that contribute to geminivirus transcriptional regulation and the efficiency of DNA replication. **Journal of virology**, USA, v. 71, n. 9, p. 6947–6955, 1997. doi: 10.1128/JVI.71.9.6947-6955.1997.

EAGLE, P. A.; OROZCO, B. M.; HANLEY-BOWDOIN, L. A DNA sequence required for geminivirus replication also mediates transcriptional regulation. **Plant Cell**, USA, v. 6, n. 8, p. 1157–1170, 1994. doi: 10.1105/tpc.6.8.1157.

EDWARDSON, J. R.; CHRISTIE, R. G.; KO, N. J. Potyvirus cylindrical inclusions-subdivision-IV. **Phytopathology**, USA, v. 74, n. 9, p. 1111-1114, 1984.

ESKELIN, K.; HAFREN, A.; RANTALAINEN, K. I.; MAKINEN, K. Potyviral VPg enhances viral RNA translation and inhibits reporter mRNA translation in planta. **Journal of Virology**, USA, v. 85, n. 17, p. 9210–9221, 2011. doi: 10.1128/JVI.00052-11.

ETESSAMI, P.; CALLIS, R.; ELLWOOD, S.; STANLEY, J. Delimitation of essential genes of cassava latent virus DNA 2. **Nucleic Acids Research**, v. 16, n. 11, p. 4811–4829, 1988. doi: 10.1093/nar/16.11.4811.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 1ª ed. Brasília – DF:EMBRAPA, 2016. 24-31 p.

FARJARDO, T. V. M.; NICKEL, O. **Transmissão de vírus e controle de viroses em plantas**. 1ª ed. Bento Gonçalves – RS:EMBRAPA, 2019. 24 p.

FAUQUET, C. M.; MAYO, M. A.; MANIHOFF, J.; DESSELBERGER, V.; BALL, L. A. Virus taxonomy: eight report of the International Committee on Taxonomy of Virus. London: **Elsevier; Academic Press**, 1259 p. 2005.

FERMIN G. Host Range, Host–Virus Interactions, and Virus Transmission. **Viruses**, p. 101–134, 2018. doi: 10.1016/B978-0-12-811257-1.00005-X.

FERREIRA, S. S.; BARROS, D. R.; ALMEIDA, M. R. DE; ZERBINI, F. M. Characterization of Passionfruit severe leaf distortion virus, a novel begomovirus infecting passionfruit in Brazil, reveals a close relationship with tomato-infecting begomoviruses. **Plant Pathology**, UK, v. 59, n. 2, p. 221–230, 2010. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02205.x>.

FIALLO-OLIVÉ, E.; NAVAS-CASTILLO, J. Molecular and Biological Characterization of a New World Mono-/Bipartite Begomovirus/Deltasatellite Complex Infecting Corchorus siliquosus. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. 7, p. 1–14, 2020. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01755>.

FONDONG, V. N. Geminivirus protein structure and function. **Molecular Plant Pathology**, v. 14, p. 635–649, 2013. doi: 10.1111/mpp.12032.

FONDONG, V. N. The Ever-Expanding Role of C4/AC4 in Geminivirus Infection: Punching above Its Weight? **Molecular Plant**, v. 12, n. 2, p. 145–147, 2019. doi: 10.1016/j.molp.2018.12.006.

FONTENELE, R. S.; ABREU, R. A.; LAMAS, N. S.; ALVES-FREITAS, D. M. T.; VIDAL, A. H.; POPPIEL, R. R.; MELO, F. L.; LACORTE, C.; MARTIN, D. P.; CAMPOS, M. A.; VARSANI, A.; RIBEIRO, S. G. Passion fruit chlorotic mottle virus: Molecular characterization of a new divergent geminivirus in Brazil. **Viruses**, v. 10, n. 4, 2018. doi: 10.3390/v10040169.

FONTENELLE, M. R.; LUZ, D. F.; GOMES, A. P. S.; FLORENTINO, L. H.; ZERBINI, F. M.; FONTES, E. P. B. Functional analysis of the naturally recombinant DNA-A of the bipartite begomovirus Tomato chlorotic mottle virus. **Virus Research**, v. 126, p. 262–267, 2007. doi: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.02.009>.

FREITAS-ASTÚA, J.; RAMOS-GONZÁLEZ, P. L.; ARENA, G. D.; TASSI, A. D.; KITAJIMA, E. W. Brevipalpus-transmitted viruses: parallelism beyond a common vector or convergent evolution of distantly related pathogens?. **Current Opinion in Virology**, v. 33, p. 66–73, 2018. doi: 10.1016/j.coviro.2018.07.010.

FROISSART, R.; MICHALAKIS, Y.; BLANC, S. Helper component-transcomplementation in the vector transmission of plant viruses. **Phytopathology**, USA, v. 92, n. 6, p. 576–579, 2002. doi: 10.1094/PHYTO.2002.92.6.576.

FUKUMOTO, T.; NAKAMURA, M.; RIKITAKE, M.; IWAI, H. Molecular characterization and specific detection of two genetically distinguishable strains of East Asian Passiflora virus

(EAPV) and their distribution in southern Japan. **Virus Genes**, v. 44, n. 1, p. 141–148, 2012. doi: 10.1007/s11262-011-0676-7

FUKUMOTO, T.; NAKAMURA, M.; WYLIE, S. J.; CHIAKI, Y.; IWAI, H. Complete nucleotide sequence of a new isolate of passion fruit woodiness virus from Western Australia. **Archives of Virology**, v. 158, n. 8, p. 1821–1824, 2013.

FURLANETO, F. P. B. de; MARTINS, A. N.; ESPERANCINI, M. S. T.; VIDAL, A. de A.; OKAMOTO, F. Custo de produção do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Brasil, v. 33, n. 1, p. 441–446, 2011. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000500058>.

FÜTTERER, J.; KISS-LÁSZLÓ, Z.; HOHN, T. Nonlinear ribosome migration on cauliflower mosaic virus 35S RNA. **Cell**, v. 73, p. 789–802, 1993. doi: 10.1016/0092-8674(93)90257-q.

GADHAVE, K. R.; GAUTAM, S.; RASMUSSEN, D. A.; SRINIVASAN, R. Aphid transmission of potyvirus: The largest plant-infecting RNA virus genus. **Viruses**, v. 12, n. 7, p. 1–22, 2020. doi: <https://doi.org/10.3390/v12070773>.

GALLET, R.; MICHALAKIS, Y.; BLANC, S. Vector-transmission of plant viruses and constraints imposed by virus–vector interactions. **Current Opinion in Virology**, v. 33, p. 144–150, 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.08.005>.

GALLO A.; VALLI A.; CALVO M.; GARCIA J. A. A Functional Link between RNA Replication and Virion Assembly in the Potyvirus Plum Pox Virus. **Journal of virology**, USA, v. 92, n. 9, p. 1–18, 2018. doi: 10.1128/JVI.02179-17.

GARDINER, W. E.; SUNTER, G.; BRAND, L.; ELMER, J. S.; ROGERS, S. G.; D M BISARO, D. M. Genetic analysis of tomato golden mosaic virus: the coat protein is not required for systemic spread or symptom development. **EMBO Journal**, v. 7, n. 4, p. 899–904, 1988. PMID: 16453835.

GAYRAL, P.; ISKRA-CARUANA, M. Phylogeny of Banana streak virus Reveals Recent and Repetitive Endogenization in the Genome of Its Banana Host (*Musa* sp.). **Journal of Molecular Evolution**, France, v. 69, p. 65-80, 2009. doi: 10.1007/s00239-009-9253-2.

GEERING, A. D. W.; HULL, R. Family Caulimoviridae. In: KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. (Eds.). Virus Taxonomy. 9th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruse/s. London UK. **Elsevier Academic Press**. p. 429-443, 2012.

GEERING, A. D. W.; HULL, R. Family Caulimoviridae. In: KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. Virus Taxonomy. 9th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. London UK. **Elsevier Academic Press**. p. 429-443, 2012.

GIBBS, A. J.; HAJIZADEH, M.; OHSHIMA, K.; JONES, R. A. C. The Potyviruses: An Evolutionary Synthesis Is Emerging. **Viruses**, v. 12, n. 2, p. 1–30, 2020. doi: <https://doi.org/10.3390/v12020132>.

GIORIA, R.; ESPINHA, L. M.; REZENDE, J. A. M.; GASPAR, J. O.; KITAJIMA, E. W. Limited movement of Cucumber mosaic virus (CMV) in yellow passion flower in Brazil. **Plant**

Pathology, UK, v. 51, n. 2, p. 127–133, 2002. doi: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3059.2002.00678.x>.

GONG, Y. N.; TANG, R. Q.; ZHANG, Y.; PENG, J.; XIAN, O. Y.; ZHANG, Z. H.; ZHANG, S. B.; ZHANG, D. Y.; LIU, H.; LUO, X. W.; LIU, Y. The NIa-Protease Protein Encoded by the Pepper Mottle Virus is a pathogenicity determinant and releases DNA methylation of *Nicotiana benthamiana*. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. 2, p. 1–9, 2020. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00102>.

GOTTLIEB Y.; ZCHORI-FEIN E.; MOZES-DAUBE N.; KONTSEDALOV S.; SKALJAC M. *et al.* The transmission efficiency of tomato yellow leaf curl virus by the whitefly *Bemisia tabaci* is correlated with the presence of a specific symbiotic bacterium species. **Journal of Virology**, USA, v. 84 p. 9310–9317, 2010. doi: 10.1128/JVI.00423-10.

GRANGEON, R.; JIANG, J.; WAN, J.; AGBECI, M.; ZHENG, H.; LALIBERTÉ, J-F. 6k2-induced vesicles can move cell to cell during turnip mosaic virus infection. **Frontiers in Microbiology**, v.4, 2013. doi: 10.3389/fmicb.2013.00351.

GREGORIO-JORGE, J.; BERNAL-ALCOCER, A.; BÃUELOS-HERNNDEZ, B.; ALPUCHE-SOLÍS, Á. G.; HERNNDEZ-ZEPEDA, C.; MORENO-VALENZUELA, O.; FRÍAS-TREVÍO, G.; ARGÜELLO-ASTORGA, G. R. Analysis of a new strain of Euphorbia mosaic virus with distinct replication specificity unveils a lineage of begomoviruses with short Rep sequences in the DNA-B intergenic region. **Virology Journal**, v. 7, n. 1, p. 275, 2010. doi: 10.1186/1743-422X-7-275.

GRONENBORN, B.; RANDLES, J. W.; KNIERIM, D.; BARRIÈRE, Q.; VETTEN, H. J.; WARTHMAN, N.; CORNU, D.; SILEYE, T.; WINTER, S.; TIMCHENKO, T. Analysis of DNAs associated with coconut foliar decay disease implicates a unique single-stranded DNA virus representing a new taxon. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–14, 2018. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23739-y>.

HAGEN, L. S.; JACQUEMOND, M.; LEPINGLE, A.; LOT, H.; TEPFER, M. Nucleotide sequence and genomic organization of Cacao swollen shoot virus. **Virology**, v. 196, p. 619–628, 1993. doi: 10.1006/viro.1993.1518.

HANY, U.; ADAMS, I. P.; GLOVER, R.; BHAT, A. I.; BOONHAM, N. The complete genome sequence of Piper yellow mottle virus (PYMoV). **Arch. Virol**, v. 159, p. 385–388, 2014. doi: 10.1007/s00705-013-1824-2.

HAREESH, P. S.; BHAT, A. I. Seed transmission of Piper yellow mottle virus in black pepper (*Piper nigrum* L.). **J. Plant. Crops**, India, v. 38, p. 62–65, 2010. ISSN: 0304-5242.

HARRISON, B. D. Advances in Geminivirus Research. **Annual Review of Phytopathology**, v. 23, n. 1, p. 55-82, 1985. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.py.23.090185.000415>.

HEARON, S. S.; LOCKE, J. C. Graft, pollen, and seed transmission of an agent associated with top spotting in *Kalanchoë blossfeldiana*. **Plant Dis.** v. 68, p. 347–350, 1984. Doi: 10.1094/PD-68-347.

HOFIUS, D.; MAIER, A.; DIETRICH, C.; JUNGKUNZ, I.; BÖRNKE, F.; MAISS, E.; SONNEWALD, U. Capsid protein-mediated recruitment of host DnaJ-like proteins is required for Potato virus Y infection in tobacco plants. **Journal of Virology**, USA, v. 81, n. 21, p. 11870-11880, 2007. doi: 10.1128/JVI.01525-07.

HOGENHOUT, S. A.; AMMAR, E. D.; WHITFIELD, A. E.; REDINBAUGH, M. G. Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 46, p. 327–359, 2008. doi: 10.1146/annurev.phyto.022508.092135.

HOHN, T.; FÜTTERER, J. The proteins and functions of plant pararetroviruses: Knowns and unknowns. **Crit. Rev. Plant Sci**, v. 16, p. 133–161, 1997. doi: <https://doi.org/10.1080/07352689709701947>.

HOHN, T.; ROTHNIE, H. Plant pararetroviruses: Replication and expression. **Curr. Opin. Viro**, USA, v. 3, p. 621–628, 2013. doi: 10.1016/j.coviro.2013.08.013.

HONG, Y.; HUNT, A. G. RNA polymerase activity catalyzed by a potyvirus-encoded RNA-dependent RNA polymerase. **Virology**, v. 226, n. 1, p. 146–151, 1996. doi: <https://doi.org/10.1006/viro.1996.0639>.

HOUSTON, J. L. M. **Classification and Nomenclature of Viruses Full**. 5. ed. S. Kager. Sydney: 1971.

HULL, R. Matthew's Plant Virology, 4th ed.; **Academic Press**: London, UK, 2002; p. 1001.

INOUE-NAGATA, A. K.; LIMA, M. F.; GILBERTSON, R. L. Uma revisão de geminivíroses (begomovíroses) em hortaliças e outras culturas: Situação atual e estratégias de manejo. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 8–18, 2016. doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-053620160000100002>.

ISKRA-CARUANA, M. L.; DUROY, P. O.; CHABANNES, M.; MULLER, E. The common evolutionary history of badnaviruses and banana. **Infect Genet Evol**, v. 21, p. 83–9, 2014. doi: 10.1016/j.meegid.2013.10.013.

ISLAM, W.; LIN, W.; ISLAM, S. U.; ARIF, M.; LI, X.; YANG, Y.; WU, Z. Genetic diversity of begomoviruses in Pakistan captured through a vector based survey. **Microbial Pathogenesis**, v. 118, p. 91–97, 2018. doi: 10.1016/j.micpath.2018.03.019.

IVANOV, K. I.; ESKELIN, K.; LÖHMUS, A.; MÄKINEN, K. Molecular and cellular mechanisms underlying potyvirus infection. **Journal of General Virology**, v. 95, n. 7, p. 1415–1429, 2014. doi: 10.1099/vir.0.064220-0.

JACQUOT, E.; HAGEN, L.S.; JACQUEMOND, M.; YOT, P. The open reading frame 2 product of cacao swollen shoot badnavirus is a nucleic acid-binding protein. **Virology**, v. 225, p. 191–195, 1996. doi: 10.1006/viro.1996.0587.

JESKE, H. Geminiviruses. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 331, p. 185–226, 2009.

JESKE, H.; LÜTGEMEIER, M.; PREISS, W. DNA forms indicate rolling circle and recombination-dependent replication of Abutilon mosaic virus. **EMBO Journal**, v. 20, n. 21, p. 6158–6167, 2001. doi: 10.1093/emboj/20.21.6158.

JIANG, J.; LALIBERTÉ, J. F. The genome-linked protein VPg of plant viruses - A protein with many partners. **Current Opinion in Virology**, v. 1, n. 5, p. 347–354, 2011. doi: 10.1016/j.coviro.2011.09.010.

JONES, A. T.; MCGAVIN, W. J.; GEERING, A. D. W.; LOCKHEART, B. E. L. Identification of Rubus yellow net virus as a distinct badnavirus and its detection by PCR in Rubus species and in aphids. **Ann. Appl. Biol.** v. 141, p.1-10, 2002. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2002.tb00189.x>.

JOSSEY, S.; HOBBS, H. A.; DOMIER, L. L. Role of soybean mosaic virus-encoded proteins in seed and aphid transmission in soybean. **Phytopathology**, USA, v. 103, n. 9, p. 941–948, 2013. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-09-12-0248-R>.

JOVER-GIL, S.; BEERI, A.; FRESNILLO, P.; SAMACH, A.; CANDELA, H. Complete genome sequence of a novel virus, classifiable within the Potyviridae family, which infects passion fruit (*Passiflora edulis*). **Arch Virol.** v. 163, n. 11, p. 3191-3194, 2018. doi: [10.1007/s00705-018-3983-7](https://doi.org/10.1007/s00705-018-3983-7).

JUPIN, I.; KOUCHKOVSKY, F. DE; JOUANNEAU, F.; GRONENBORN, B. Movement of tomato yellow leaf curl geminivirus (TYLCV): Involvement of the protein encoded by ORF C4. **Virology**, v. 204, p. 82 - 90, 1994. doi: [10.1006/viro.1994.1512](https://doi.org/10.1006/viro.1994.1512).

KALISCHUK, M. L.; FUSARO, A. F.; WATERHOUSE, P. M.; PAPPU, H. R.; KAWCHUK, L. M. Complete genomic sequence of a Rubus yellow net virus isolate and detection of genome-wide pararetrovirus-derived small RNAs. **Virus Res**, v. 178, p. 306–313, 2013. doi: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.09.026>.

KAMAL, H.; MINHAS, F. UL A.; TRIPATHI, D.; ABBASI, W. A.; HAMZA, M.; MUSTAFA, R.; KHAN, M. Z.; MANSOOR, S.; PAPPU, H. R.; AMIN, I. β C1, pathogenicity determinant encoded by Cotton leaf curl Multan betasatellite, interacts with calmodulin-like protein 11 (Gh-CML11) in *Gossypium hirsutum*. **Plos One**, USA, v. 14, n. 12, p. 1–19, 2019. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225876>.

KASSCHAU, K. D.; CRONIN, S.; CARRINGTON, J. C. Genome amplification and long-distance movement functions associated with the central domain of tobacco etch potyvirus helper component-proteinase. **Virology**, v. 228, n. 2, p. 251–262, 1997. doi: [10.1006/viro.1996.8368](https://doi.org/10.1006/viro.1996.8368).

KAZMI, S. A.; YANG, Z.; HONG, N.; WANG, G.; WANG, Y. Characterization by small RNA sequencing of Taro Bacilliform CH Virus (TaBCHV), a novel Badnavirus. **Plos One**, USA, v. 10, 2015. e0134147. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134147>.

KIM, H.; AOKI, N.; TAKAHASHI, H.; YOSHIDA, N.; SHIMURA, H.; MASUTA, C. Reduced RNA silencing suppressor activity of onion yellow dwarf virus HC-Pro with N-terminal deletion may be complemented in mixed infection with another potyvirus in garlic. **Journal of General Plant Pathology**, UK, v. 86, n. 4, p. 300–309, 2020. doi: <https://doi.org/10.1007/s10327-020-00926-2>.

KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTEN, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. **Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Elsevier, 2012.

KITAJIMA, E. W.; REZENDE, J. A. M. Os virus, esses terríveis inimigos. **Cultivar. Hortaliças e Frutas**, Pelotas, v. 4, n. 12-01, p. 18-24, 2004. <https://www.grupocultivar.com.br/artigos/os-virus-esses-terríveis-inimigos> acesso em: 12 de novembro de 2020.

KITAJIMA, E. W.; REZENDE, J. A. M.; RODRIGUES, J. C. V. Passion fruit green spot virus vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) on passion fruit in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 30, n. 1–3, p. 225–231, 2003. doi: <https://doi.org/10.1023/B:APPA.0000006551.74604.84>.

KITAJIMA, E. W.; RODRIGUES, J. C. V.; FREITAS-ASTUA, J. An annotated list of ornamentals naturally found infected by *Brevipalpus* mite-transmitted viruses. **Scientia Agricola**, Brasil, v. 67, n. 3, p. 348–371, 2010. doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162010000300014>.

KLEIN, P. G.; KLEIN, R. R.; RODRIGUEZ-CEREZO, E.; HUNT, A. G.; SHAW, J. G. Mutational Analysis of the Tobacco Vein Mottling Virus Genome. **Virology**, v. 204, n. 2, p. 759–769, 1994. doi: [10.1006/viro.1994.1591](https://doi.org/10.1006/viro.1994.1591).

KOGOVŠEK, P.; Kladnik, A.; MLAKAR, J.; TUŠEK ŽNIDARIČ, M.; DERMASTIA, M.; RAVNIKAR, M.; POMPE-NOVAK, M. Distribution of Potato virus Y in Potato plant organs, tissues, and cells. **Phytopathology**, USA, v. 101, n. 11, p. 1292–1300, 2011. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-11-0020>.

KOONIN, E. V.; ILYINA, T. V. Geminivirus replication proteins are related to prokaryotic plasmid rolling circle DNA replication initiator proteins. **Journal of General Virology**, USA, v. 73, n. 10, p. 2763–2766, 1992. doi: [10.1099/0022-1317-73-10-2763](https://doi.org/10.1099/0022-1317-73-10-2763).

KRABERGER, S.; SAUMTALLY, S.; PANDE, D.; KHOODOO, M. H. R.; DHAYAN, S.; DOOKUN-SAUTALLY, A.; SHEPHERD, D. N.; PENELOPE HARTNADY, P.; ATKINSON, R.; LAKAY, F. M.; HANSON, B.; REDHI, D.; MONJANE, A. L.; WINDRAM, O. P.; WALTERS, M.; OLUWAFEMI, S.; MICHEL-LETT, J.; PIERRE LEFEUVRE, P.; MARTIN, D. P.; VARSANI, A. Molecular diversity, geographic distribution and host range of monocot-infecting mastreviruses in Africa and surrounding islands. **Virus Research**, v. 238, p. 171–178, 2017. doi: [10.1016/j.virusres.2017.07.001](https://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.07.001).

KULSHRESHTHA, A.; KUMAR, Y.; ROSHAN, P.; BHATTACHARJEE, B.; MUKHERJEE, S. K.; HALLAN, V. AC4 protein of tomato leaf curl Palampur virus is an RNA silencing suppressor and a pathogenicity determinant. **Microbial Pathogenesis**, v. 135, n. 8, p. 1–9, 2019. doi: [10.1016/j.micpath.2019.103636](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103636).

LACATUS, G.; SUNTER, G. Functional analysis of bipartite begomovirus coat protein promoter sequences. **Virology**, v. 376, n. 1, p. 79–89, 2008. doi: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.03.012>.

LAÍN, S.; MARTIN, M.T.; RIECHMANN, J.L.; GARCÍA, J.A. Novel catalytic activity associated with positive-strand RNA virus infection - nucleic acid-stimulated ATPase activity of the plum pox potyvirus helicase like protein. **Journal of Virology**, USA, v. 65, p. 1–6, 1991. PMID: PMC240482.

LAN, P.; MENG, Y.; SHEN, P.; LI, R.; MA, Y.; TAN, S.; CHEN, H.; CAO, M.; LI, F. Complete genome sequence of yam chlorotic necrosis virus, a novel macluravirus infecting yam. **Archives of Virology**, v. 163, n. 8, p. 2275–2278, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3851-5>.

LEASTRO, M. O.; CASTRO, D. Y. O.; FREITAS-ASTÚA, J.; KITAJIMA, E. W.; PALLÁS, V.; SÁNCHEZ-NAVARRO, J. Á. Citrus Leprosis Virus C encodes three proteins with gene silencing suppression activity. **Frontiers in Microbiology**, Switzerland, v. 11, n. 6, p. 1–16, 2020. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01231>.

LEASTRO, M. O.; KITAJIMA, E. W.; SILVA, M. S.; RESENDE, R. O.; FREITAS-ASTÚA, J. Dissecting the subcellular localization, intracellular trafficking, interactions, membrane association, and topology of citrus leprosis virus c proteins. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 9, 2018. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01299>.

LEONETTI, P.; ACCOTTO, G. P.; HANAFY, M. S.; PANTALEO, V. Viruses and phytoparasitic nematodes of cicer arietinum L.: Biotechnological approaches in interaction studies and for sustainable control. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 3, p. 1–17, 2018. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00319>.

LESHKOWITZ, D.; GAZIT, S.; REUVENI, E.; GHANIM, M.; CZOSNEK, H.; MCKENZIE, C.; SHATTERS, R. L.; BROWN, J. K. Whitefly (*Bemisia tabaci*) genome project: Analysis of sequenced clones from egg, instar, and adult (viruliferous and non-viruliferous) cDNA libraries. **BMC Genomics**, v. 7, p. 1–19, 2006. doi: 10.1186/1471-2164-7-79.

LI, P.; JING, C.; REN, H.; JIA, Z.; GHANEM, H.; WU, G.; LI, M.; QING, L. Analysis of pathogenicity and virulence factors of Ageratum leaf curl Sichuan virus. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. 9, p. 1–10, 2020. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.527787>.

LIMA, A. T. M.; SILVA, J. C. F.; SILVA, F. N.; CASTILLO-URQUIZA, G. P.; SILVA, F. F.; SEAH, Y. M.; MIZUBUTI, E. S. G.; DUFFY, S.; ZERBINI, F. M. The diversification of begomovirus populations is predominantly driven by mutational dynamics. **Virus Evolution**, UK, v. 3, n. 1, p. 1–14, 2017. doi: 10.1093/ve/vex005.

LIN L.; LUO, Z.; YAN, F.; LU, Y.; ZHENG, H.; CHEN, J. Interaction between potyvirus P3 and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) of host plants. **Virus Genes**, v. 43, p 90–92, 2011. doi: 10.1007/s11262-011-0596-6.

LIU, W.; GRAY, S.; HUO, Y. LI, L. WEI, T.; WANG, X. Proteomic analysis of interaction between a plant virus and its vector insect reveals new functions of hemipteran cuticular protein. **Molecular & cellular proteomics: MCP**, USA, v. 19, n. 91, p. 1–39, 2015. doi: 10.1074/mcp.M114.046763.

LOCKHART, B.E.L.; MENKE, J.; DAHAL, G.; OLSZEWSKI, N.E. Characterization and genomic analysis of tobacco vein clearing virus, a plant pararetrovirus that is transmitted vertically and related to sequences integrated in the host genome. **J. Gen. Virol**, USA, v. 81, p. 1579–1585, 2000. doi: 10.1099/0022-1317-81-6-1579.

LU, G.; LI, S.; ZHOU, C.; QIAN, X.; XIANG, Q.; YANG, T.; WU, J.; ZHOU, X.; ZHOU, Y.; DING, X. S.; TAO, X. Tenuivirus utilizes its glycoprotein as a helper component to overcome insect midgut barriers for its circulative and propagative transmission. **Plos Pathogens**, USA, v. 15, n. 3, p. 1–29, 2019. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007655>.

MACEDO, M. A.; MICHEREFF FILHO, M.; NAVAS-CASTILLO, J.; INOUE-NAGATA, A. K. Host range and whitefly transmission efficiency of Tomato severe rugose virus and Tomato

golden vein virus in tomato plants. **Tropical Plant Pathology**, Brasil, v. 40, n. 6, p. 405–409, 2014. doi: 10.1007/s40858-015-0055-3.

MAGALHÃES, F.; OLIVEIRA FILHO, B.; HUGO, J. Ninhos racionais para mamangava (*Xylocopa frontalis*) na polinização do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*). **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 33, n. 6, p. 1135–1139, 2003. doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782003000600021>.

MAIA, L. M.; LIMA, J. A. DE A.; NASCIMENTO, A. K. Q. DO; FILHO, F. DE A. C. R. Biological differences and unilateral cross-protection between biotypes of Cowpea aphid-borne mosaic virus. **Revista Ciencia Agronomica**, Brasil, v. 48, n. 2, p. 310–317, 2017. doi: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170036>.

MANDAL, B. Advances in small isometric multicomponent ssDNA viruses infecting plants. **Indian Journal of Virology**, India, v. 21, n. 1, p. 18–30, 2010. doi: 10.1007/s13337-010-0010-3.

MANSOOR, S.; KHAN, S. H.; BASHIR, A.; SAEED, M.; ZAFAR, Y.; MALIK, K. A.; BRIDDON, R.; STANLEY, J.; MARKHAM, P. G. Identification of a novel circular single-stranded DNA associated with cotton leaf curl disease in Pakistan. **Virology**, v. 259, n. 1, p. 190–199, 1999. doi: 10.1006/viro.1999.9766.

MAR, T. B.; MENDES, I. R.; LAU, D.; FIALLO-OLIVÉ, E.; NAVAS-CASTILLO, J.; ALVES, M. S.; ZERBINI, F. M. Interaction between the new world begomovirus Euphorbia yellow mosaic virus and its associated alphasatellite: Effects on infection and transmission by the whitefly *Bemisia tabaci*. **Journal of General Virology**, v. 98, n. 6, p. 1552–1562, 2017. doi: <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000814>.

MARAIS, A.; MUROLO, S.; FAURE, C.; BRANS, Y.; LARUE, C.; MACLOT, F.; MASSART, S.; CHIUMENTI, M.; MINAFRA, A.; ROMANAZZI, G.; LEFEBVRE, M.; BARRENECHE, T.; ROBIN, C.; PETIT, R. J.; CANDRESSE, T. Sixty years from the first disease description, a novel badnavirus associated with chestnut mosaic disease. **Phytopathology**, USA, v. 21, n. 10, p. 1-49, 2020. doi: 10.1094/PHYTO-09-20-0420-R.

MARQUES, D. J.; SIQUEIRA, J. A. C.; BIANCHINI, H. C.; ALVES, V. M. Production of Passion fruit in a semi-hydroponic system under protected cultivation. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Brasil, v. 41, n. 5, p. 1–12, 2019. doi: <http://orcid.org/0000-0002-0598-2141>.

MARTIN, D. P.; BIAGINI, P.; LEFEUVRE, P.; GOLDEN, M.; ROUMAGNAC, P.; VARSANI, A. Recombination in eukaryotic single stranded DNA viruses. **Viruses**, v. 3, n. 9, p. 1699–1738, 2011. doi: 10.3390/v3091699.

MARTINS, L. G. C.; RAIMUNDO, G. A. S.; RIBEIRO, N. G. A.; SILVA, J. C. F.; EUCLYDES, N. C.; LORIATO, V. A. P.; DUARTE, C. E. M.; FONTES, E. P. B. A Begomovirus Nuclear Shuttle Protein-Interacting Immune Hub: Hijacking Host Transport Activities and Suppressing Incompatible Functions. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. 4, p. 1–8, 2020. doi: 10.3389/fpls.2020.00398

MCKERN, N. M.; STRIKE, P. M.; BARNETT, O. W.; DIJKSTRA, J.; SHUKLA, D. D.; WARD, C. W. Cowpea aphid borne mosaic virus-Morocco and South African. **Archives of Virology**, v. 136, p. 207–217, 1994. doi: 10.1007/BF01538830.

MEDBERRY, S. L.; LOCKHART, B. E.; OLSZEWSKI, N. E. Properties of Commelina yellow mottle virus's complete DNA sequence, genomic discontinuities and transcript suggest that it is a pararetrovirus. **Nucleic Acids Res**, UK, v. 18, p. 5505–5513, 1990. doi: 10.1093/nar/18.18.5505.

MEDBERRY, S. L.; LOCKHART, B. E.; OLSZEWSKI, N. E. Properties of Commelina yellow mottle virus's complete DNA sequence, genomic discontinuities and transcript suggest that it is a pararetrovirus. **Nucleic Acids Res**, UK, v. 18, p. 5505–5513, 1990. doi: 10.1093/nar/18.18.5505.

MELETTI, L. M. M. Avanços na Cultura do Maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 083–091, 2011. doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162000000300019>.

MELETTI, L. M. M.; SANTOS, R. R.; MINAMI, K. Melhoramento Do Maracujazeiro-Amarelo: obtenção do cultivar composto IAC-27. **Scientia**, v. 27, n. 3, p. 491–498, 2000. doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162000000300019>.

MELZER, M. J.; SIMBAJON, N.; CARILLO, J.; BORTH, W. B.; FREITAS-ASTÚA, J.; KITAJIMA, E. W.; NEUPANE, K. R.; HU, J. S. A cilevirus infects ornamental hibiscus in Hawaii. **Archives of Virology**, v. 158, n. 11, p. 2421–2424, 2013. doi: 10.1007/s00705-013-1745-0.

MESA, N. C.; OCHOA, R.; WELBOURN, W. C.; EVANS, G. A.; MORAES, G. J. DE. A catalog of the Tenuipalpidae (Acari) of the World with a key to genera. **Zootaxa**, v. 2098, n. 1, p. 1-185, 2009. doi: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.2098.1.1>

MESNARD, J. M.; CARRIERE, C. Comparison of packaging strategy in retroviruses and pararetroviruses. **Virology**, v. 20, n. 213, p. 1-6, 1995. doi: 10.1006/viro.1995.1540.

MINGOT, A.; VALLI, A.; RODAMILANS, B.; SAN LEÓN, D.; BAULCOMBE, D. C.; GARCÍA, J. A.; LÓPEZ-MOYA, J. J. The P1N-PISPO trans-Frame Gene of Sweet Potato Feathery Mottle Potyvirus Is Produced during Virus Infection and Functions as an RNA Silencing Suppressor. **Journal of Virology**, USA, v. 90, n. 7, p. 3543–3557, 2016. doi: 10.1128/JVI.02360-15.

MITUTI, T.; SPADOTTI, D. M. A.; NARITA, N.; REZENDE, J. A. M. First Report of Sida Mottle Alagoas Virus Infecting *Passiflora edulis* in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, Australian, v. 14, n. 1, 2019. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-18-1068-PDN>.

MORADI, Z.; MEHRVAR, M.; NAZIFI, E. Genetic diversity and biological characterization of sugarcane streak mosaic virus isolates from Iran. **Virus Disease**, v. 29, n. 3, p. 316–323, 2018. doi: <https://doi.org/10.1007/s13337-018-0461-5>.

MORAES, F. H. R.; BELO, W. R. F.; MORAES, G. J.; KITAJIMA, E. W. Ocorrência do vírus da pinta verde em maracujá no Estado do Maranhão, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 100–100, 2006. Doi: 10.1590/S0100-41582006000100019.

MORIN, S.; GHANIM, M.; SOBOL, I.; CZOSNEK, H. The GroEL protein of the whitefly *Bemisia tabaci* interacts with the coat protein of transmissible and nontransmissible

begomoviruses in the yeast two-hybrid system. **Virology**, v. 276, n. 2, p. 404–416, 2000. doi: 10.1006/viro.2000.0549.

MOVAHED, N.; PATARROYO, C.; SUN, J.; VALI, H.; LALIBERTÉ, J-F.; ZHENG, H. Cylindrical inclusion protein of turnip mosaic virus serves as docking point for the intercellular movement of viral replication vesicles. **Plant Physiology**, v. 175, n. 4, p. 1732-1744, 2017. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.17.01484>.

MUBIN, M.; IJAZ, S.; NAHID, N.; HASSAN, M.; YOUNUS, A.; QAZI, J.; NAWAZ-UL-REHMAN, M. S. Journey of begomovirus betasatellite molecules: from satellites to indispensable partners. **Virus Genes**, v. 56, n. 1, p. 16–26, 2020. doi: 10.1007/s11262-019-01716-5.

MURPHY, J. F.; KLEIN, P. G.; HUNT, A. G.; SHAW, J. G. Replacement of the tyrosine residue that links a potyviral VPg to the viral RNA is lethal. **Virology**, v. 220, n. 2, p. 535–538, 1996. doi: 10.1006/viro.1996.0344.

NAKASATO, K.; FUJIOKA, S.; SUGAWARA, Y.; ONO, T.; NISHIO, T.; TSUDA, S. First detection of two potyviruses, uraria mosaic virus and passiflora mosaic virus Y, from Passionfruit in Japan. **Journal of General Plant Pathology**, UK, v. 86, p. 401–404, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10327-020-00932-4>.

NASCIMENTO, A. V. S.; SOUZA, A. R. R.; ALFENAS, P. F.; ANDRADE, G. P.; CARVALHO, M. G.; PIO-RIBEIRO, G.; ZERBINI, F. M. Análise filogenética de potyvírus causando endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 378–383, 2004. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582004000400003>.

NAWAZ-UL-REHMAN, M. S.; FAUQUET, C. M. Evolution of geminiviruses and their satellites. **FEBS Letters**, v. 583, n. 12, p. 1825–1832, 2009. doi: 10.1016/j.febslet.2009.05.045.

NG, J. C. K.; FALK, B. W. Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semipersistent transmission of plant viruses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 44, p. 183–212, 2006. doi: 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143325.

NICOLINI, C.; RABELO FILHO, F. A. C.; RESENDE, R. O.; ANDRADE, G. P.; KITAJIMA, E. W.; PIO-RIBEIRO, G.; NAGATA, T. Possible host adaptation as an evolution factor of cowpea aphid-borne mosaic virus deduced by coat protein gene analysis. **Journal of Phytopathology**, v. 160, n. 2, p. 82–87, 2011. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2011.01861.x>.

NOUEIRY, A. O.; LUCAS, W. J.; GILBERTSON, R. L. Two proteins of a plant DNA virus coordinate nuclear and plasmodesmal transport. **Cell**, v. 76, n. 5, p. 925–932, 1994. doi: 10.1016/0092-8674(94)90366-2.

OCHWO-SSEMAKULA, M.; SENGGOBA, T.; HAKIZA, J. J.; ADIPALA, E.; EDEMA, R.; REDINBAUGH, M. G.; ARITUA, V.; WINTER, S. Characterization and distribution of a potyvirus associated with passion fruit woodiness disease in Uganda. **Plant Disease**, v. 96, n. 5, p. 659–665, 2012. doi: 10.1094/PDIS-03-11-0263.

PAPROTKA, T.; METZLER, V.; JESKE, H. The first DNA 1-like alpha satellites in association with New World begomoviruses in natural infections. **Virology**, v. 404, n. 2, p. 148–157, 2010. Doi: 10.1016/j.virol.2010.05.003.

PARRELLA, G.; LANAVE, C. Identification of a new pathotype of Bean yellow mosaic virus (BYMV) infecting blue passion flower and some evolutionary characteristics of BYMV. **Archives of Virology**, v. 154, n. 10, p.1689–1694, 2009. doi: 10.1007/s00705-009-0485-7.

PARRY, J. N.; DAVIS, R. I.; THOMAS, J. E. Passiflora virus Y, a novel virus infecting Passiflora spp. in Australia and the Indonesian Province of Papua. **Australasian Plant Pathology**, v. 33, n. 3, p. 423–427, 2004. doi: <https://doi.org/10.1071/AP04042>.

PASIN, F.; SIMÓN-MATEO, C.; GARCÍA, J. A. The hypervariable amino-terminus of P1 protease modulates potyviral replication and host defense responses. **PLOS Pathogens**, 10(3): e1003985, 2014. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003985>.

PASSOS, L. S.; TEIXEIRA, J. W. M.; TEIXEIRA, K. J. M. L.; XAVIER, C. A. D.; ZERBINI, F. M.; ARAÚJO, A. S. F.; BESERRA, J. E. A. Two new begomoviruses that infect non-cultivated malvaceae in Brazil. **Archives of Virology**, v. 162, n. 6, p. 1795–1797, 2017. doi: <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3283-7>.

PEI, S.; DONG, R.; BAO, Y.; HE, R. L.; YAU, S. S. T. Classification of genomic components and prediction of genes of Begomovirus based on subsequence natural vector and support vector machine. **PeerJ**, v. 8, p. 1–15, 2020. doi: 10.7717/peerj.9625.

PEINADO JÚNIOR, S. A.; BOTTGER, J. A.; CHEN, L.; GILBERTSON, R.; CREAMER, R. Evidence of curtovirus competition and synergy in co-infected plant hosts. **African Journal of Microbiology Research**, v. 12, n. 10, p. 254–262, 2018. doi: 10.5897/AJMR2017.8786.

PIERO, R. M. DI; REZENDE, J. A. M.; YUKI, V. A.; PASCHOLATI, S. F.; DELFINO, M. A. Transmissão do Passion fruit woodiness virus por Aphis gossypii (Glover) (Hemiptera: Aphididae) e colonização de maracujazeiro pelo vetor. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 1, p. 139–140, 2006. doi: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2006000100019>.

PIRONE, T. P.; BLANC, S. Helper-dependent vector transmission of plant viruses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 34, p. 227–247, 1996. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.34.1.227>.

POLDER, G.; BLOK, P. M.; VILLIERS, H. A. C. DE; WOLF, J. M. VAN DER; KAMP, J. Potato virus Y detection in seed potatoes using deep learning on hyperspectral images. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. 209, p. 1–27, 2019. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00209>.

POOGGIN, M.M.; FÜTTERER, J.; SKRYABIN, K.G.; HOHN, T. A short open reading frame terminating in front of a stable hairpin is the conserved feature in pregenomic RNA leaders of plant pararetroviruses. **J. Gen. Virol**, USA, v. 80, p. 2217–2228, 1999. doi: 10.1099/0022-1317-80-8-2217.

PREISS, W.; JESKE, H. Multitasking in Replication Is Common among Geminiviruses, **Journal of Virology**, v. 77, n. 5, p. 2972–2980, 2003. doi: 10.1128/JVI.77.5.2972-2980.2003.

PRIYADARSHINI, C. G. P.; AMBIKA, M. V.; TIPPESWAMY, R.; SAVITHRI, H. S. Functional characterization of coat protein and V2 involved in cell to cell movement of cotton leaf curl Kokhran Virus-Dabawali. **PloS One**, USA, v. 6, n. 11, 2011. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026929>.

PURCIFULL, D. E.; HIEBERT, E.; PETERSEN, M. A.; SIMONE, G. W.; KUCHARÉK, T. A.; GOOCH, M. D.; CRAWFORD, W. E.; BECKHAM, K. A.; SA, P. B. DE. Partial characterization of a distinct potyvirus isolated from watermelon in Florida. **Plant Disease**, v. 82, n. 12, p. 1386–1390, 1998. doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.12.1386>.

PUUSTINEN, P.; MÄKINEN, K. Uridylylation of the potyvirus VPg by viral replicase Nib correlates with the nucleotide binding capacity of VPg. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 37, p. 38103–38110, 2004. doi: [10.1074/jbc.M402910200](https://doi.org/10.1074/jbc.M402910200).

QADIR, R.; KHAN, Z. A.; MONGA, D.; KHAN, J. A. Diversity and recombination analysis of Cotton leaf curl Multan virus: A highly emerging begomovirus in northern India. **BMC Genomics**, v. 20, n. 1, p. 1–13, 2019. doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5640-2>.

QIAO, Q.; ZHANG, Z. C.; ZHAO, X. L.; WANG, Y. J.; WANG, S.; QIN, Y. H.; ZHANG, D. S.; TIAN, Y. T.; ZHAO, F. Evidence for seed transmission of sweet potato symptomless virus 1 in sweet potato (*Ipomoea batatas*). **Journal of Plant Pathology**, Italy, v. 102, n. 2, p. 299–303, 2020. doi: <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00427-y>.

QUADROS, A. F. F.; SILVA, J. P.; XAVIER, C. A. D.; ZERBINI, F. M.; BOARI, A. J. Two new begomoviruses infecting tomato and Hibiscus sp. in the Amazon region of Brazil. **Archives of Virology**, v. 164, n. 7, p. 1897–1901, 2019. doi: <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04245-6>.

RADHAKRISHNAN, G. K.; SPLITTER, G. A.; USHA, R. DNA recognition properties of the cell-to-cell movement protein (MP) of soybean isolate of Mungbean yellow mosaic India virus (MYMIV-Sb). **Virus Research**, v. 131, n. 2, p. 152–159, 2008. Doi: [10.1016/j.virusres.2007.09.002](https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.09.002).

RAJAMÄKI, M.-L.; STRENG, J.; VALKONEN, J. P. T. Silencing suppressor protein VPg of a potyvirus interacts with the plant silencing-related protein SGS3. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 27, n. 11, p. 1199–1210, 2014. doi: <https://doi.org/10.1094/MPMI-04-14-0109-R>.

RAJESWARAN, R.; SUNITHA, S.; SHIVAPRASAD, P. V.; POOGGIN, M. M.; HOHN, T.; VELUTHAMBI, K. The mungbean yellow mosaic begomovirus transcriptional activator protein transactivates the viral promoter-driven transgene and causes toxicity in transgenic tobacco plants. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 20, n. 12, p. 1545–1554, 2007. doi: [10.1094/MPMI-20-12-1545](https://doi.org/10.1094/MPMI-20-12-1545).

RAMESH, S. V.; MISHRA, A. K.; PRAVEEN, S. Hairpin RNA-mediated strategies for silencing of tomato leaf curl virus AC1 and AC4 genes for effective resistance in plants. **Oligonucleotides**, v. 17, n. 2, p. 251–257, 2007. doi: [10.1089/oli.2006.0063](https://doi.org/10.1089/oli.2006.0063).

RAMOS-GONZÁLEZ, P. L.; SANTOS, G. F. DOS; CHABI-JESUS, C.; HAKAKA, R.; KITAJIMA, E. W.; FREITAS-ASTÚA, J. Passion Fruit Green Spot Virus Genome Harbors a New Orphan ORF and Highlights the Flexibility of the 5'-End of the RNA2 Segment Across

Cileviruses. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. February, p. 1–16, 2020. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00206>.

REVERS, F.; GARCÍA, J. A. Molecular biology of potyviruses. **Advances in Virus Research**, v. 92, p. 101–99, 2015. doi: 10.1016/bs.aivir.2014.11.006.

ROBERTS, I. M.; WANG, D.; FINDLAY, K.; MAULE, A. J. Ultrastructural and temporal observations of the potyvirus cylindrical inclusions (CIs) show that the CI protein acts transiently in aiding virus movement. **Virology**, v. 245, n. 1, p. 173–181, 1998. Doi: 10.1006/viro.1998.9132.

RODAMILANS, B.; VALLI, A.; MINGOT, A.; SAN LEÓN, D.; BAULCOMBE, D.; LÓPEZ-MOYA, J. J.; GARCÍA, J. A. RNA Polymerase Slippage as a Mechanism for the Production of Frameshift Gene Products in Plant Viruses of the Potyviridae Family. **Journal of Virology**, v. 89, n. 13, p. 6965–6967, 2015. doi: 10.1128/JVI.00337-15.

RODRIGUES, G. B.; SOBRINHO, G. G. R.; MITUTI, T.; FILHO, A. B.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; NOVAES, Q. S. DE. Etiology, occurrence and epidemiology of a begomovirus disease in passionflower in the southwest of Bahia. **Scientia Agricola**, v. 76, n. 4, p. 337–343, 2019. doi: <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2017-0272>.

RODRÍGUEZ-CEREZO, E.; FINDLAY, K.; SHAW, J. G.; LOMONOSSOFF, G. P.; QIU, S. G.; LINSTEAD, P.; SHANKS, M.; RISCO, C. The coat and cylindrical inclusion proteins of a potyvirus are associated with connections between plant cells. **Virology**, v. 236, n. 2, p. 296–306, 1997. doi: 10.1006/viro.1997.8736.

ROJAS, M. R. Use of Degenerate Primers in the Polymerase Chain Reaction to Detect Whitefly-Transmitted Geminiviruses. **Plant Disease**, v. 77, p. 349–347, 1993. doi: 10.1094/PD-77-0340.

ROJAS, M. R.; ZERBINI, F. M.; ALLISON, R. F.; GILBERTSON, R. L.; LUCAS, W. J. Capsid protein and helper component-proteinase function as potyvirus cell-to-cell movement proteins. **Virology**, v. 237, n. 2, p. 283–295, 1997. Doi: 10.1006/viro.1997.8777.

ROLLAND, M.; VILLEMOT, J.; MARAIS, A.; THEIL, S.; FAURE, C.; CADOT, V.; VALADE, R.; VITRY, C.; RABENSTEIN, F.; CANDRESSE, T. Classical and next generation sequencing approaches unravel Bymovirus diversity in barley crops in France. **Plos One**, v. 12, n. 11, p. 1–16, 2017. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188495>.

ROSHAN, P.; KULSHRESHTHA, A.; KUMAR, S.; PUROHIT, R.; HALLAN, V. AV2 protein of tomato leaf curl Palampur virus promotes systemic necrosis in *Nicotiana benthamiana* and interacts with host Catalase2. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–15, 2018. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19292-3>.

ROY, A.; CHOUDHARY, N.; GUILLERMO, L. M.; SHAO, J.; GOVINDARAJULU, A.; ACHOR, D.; WEI, G.; PICTON, D. D.; LEVY, L.; NAKHLA, M. K.; HARTUNG, J. S.; BRLANSKY, R. H. A novel virus of the genus Cilevirus causing symptoms similar to Citrus leprosis. **Phytopathology**, USA, v. 103, n. 5, p. 488–500, 2013. doi: 10.1094/PHYTO-07-12-0177-R.

RUIZ-FERRER, V.; BOSKOVIC, J.; ALFONSO, C.; RIVAS, G.; LLORCA, O.; LÓPEZ-ABELLA, D.; LÓPEZ-MOYA, J. J. Structural analysis of tobacco etch potyvirus HC-Pro oligomers involved in aphid transmission. **Journal of Virology**, USA, v. 79, n. 6, p. 3758–3765, 2005. doi: 10.1128/JVI.79.6.3758-3765.2005.

RYABOVA, L. A.; HOHN, T. Ribosome shunting in cauliflower mosaic virus 35S RNA leader is a special case of reinitiation of translation functioning in plant and animal systems. **Genes Dev**, USA, v. 14, p. 817–829, 2000. PMCID: PMC316492.

SAEED, M.; KRCZAL, G.; WASSENEGGER, M. Three gene products of a begomovirus–betasatellite complex restore expression of a transcriptionally silenced green fluorescent protein transgene in *Nicotiana benthamiana*. **Virus Genes**, v. 50, n. 2, p. 340–344, 2015. doi: <https://doi.org/10.1007/s11262-014-1155-8>.

SAHA, S.; MÄKINEN, K. Insights into the functions of eIF4E-binding motif of VPG in potato virus a infection. **Viruses**, v. 12, n. 2, 2020. doi: 10.3390/v12020197.

SAHU, P. P.; PRASAD, M. Application of molecular antiviral compounds: novel approach for durable resistance against geminiviruses. **Molecular Biology Reports**, v. 42, n. 7, p.1157–1162, 2015. doi: 10.1007/s11033-015-3852-3.

SANFAÇON, H.; HOHN, T. Proximity to the promoter inhibits recognition of cauliflower mosaic virus polyadenylation signal. **Nature**, USA, v. 346, p. 8–84, 1990. doi: 10.1038/346081a0.

SAUNDERS, K.; BEDFORD, I. D.; BRIDDON, R. W.; MARKHAM, P. G.; WONG, S. M.; STANLEY, J. A unique virus complex causes *Ageratum* yellow vein disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 12, p. 6890–6895, 2000. doi: 10.1073/pnas.97.12.6890.

SCHAAD, M. C.; JENSEN, P. E.; CARRINGTON, J. C. Formation of plant RNA virus replication complexes on membranes: role of an endoplasmic reticulum-targeted viral protein. **EMBO Journal**, v. 16, p. 4049–4059, 1997. doi: 10.1093/emboj/16.13.4049.

SEVIK, M. A. Viruses infecting cool season crops in the Northern Turkey. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, n. 3, p. 1–6, 2019. doi: 10.1590/0001-3765201920180224.

SHAKIR, S.; NAWAZ UL-REHMAN, M. S.; MUBIN, M.; ALI, Z. Characterization, phylogeny and recombination analysis of *Pedilanthus* leaf curl virus-Petunia isolate and its associated betasatellite. **Virology Journal**, v. 15:134, p. 2-11, 2018. doi: <https://doi.org/10.1186/s12985-018-1047-y>.

SHEN, W.; BOBAY, B. G.; GREELEY, L. A.; REYES, M. I.; RAJABU, C. A.; BLACKBURN, R. K.; DALLAS, M. B.; GOSHE, M. B.; ASCENCIO-IBÁÑEZ, J. T.; HANLEY-BOWDOIN, L. Sucrose nonfermenting 1-related protein kinase 1 phosphorylates a geminivirus rep protein to impair viral replication and infection. **Plant Physiology**, v. 178, n. 1, p. 372–389, 2018. doi: 10.1104/pp.18.00268.

SHEN, W.; SHI, Y.; DAI, Z.; WANG, A. The RNA-dependent RNA polymerase N1b of potyviruses plays multifunctional, contrasting roles during viral infection. **Viruses**, v. 12, n. 1, 2020. doi: 10.3390/v12010077.

SHI, Y.; CHEN, JIONG; HONG, X.; CHEN, JIANPING; ADAMS, M. J. A potyvirus P1 protein interacts with the Rieske Fe/S protein of its host. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n. 6, p. 785–790, 2007. doi: 10.1111/j.1364-3703.2007.00426.x.

SILVA, D. A. DA; PETRY, H. B.; BRUNA, E. DELLA; MORETO, A. L. Métodos de seleção de plantas de maracujazeiro-azedo para a produção de sementes. **Agropecuária Catarinense**, v. 32, n. 2, p. 40–42, 2019. doi: <https://doi.org/10.22491/RAC.2019.v32n2.3>.

SILVA, S. C. DA.; ASSUNÇÃO, I. P.; CARNAÚBA, J. P.; LIMA, J. S.; AMORIM, E. P. R. DA.; LIMA, G. A. DE. Begomovirus detection in passion fruit (*Passiflora edulis Sims*) no estado de Alagoas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n.3, p. 512–513, 2006. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452006000300037>.

SILVA, S. J. C. DA; CASTILLO-URQUIZA, G. P.; HORA JÚNIOR, B. T.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A.; PIO-RIBEIRO, G.; MIZUBUTI, E. S. G.; ZERBINI, F. M. High genetic variability and recombination in a begomovirus population infecting the ubiquitous weed *Cleome affinis* in northeastern Brazil. **Archives of Virology**, v. 156, n. 12, p. 2205–2213, 2011. doi: 10.1007/s00705-011-1119-4.

SIVAPRASAD, Y.; PAZ, L.; INTRIAGO, D.; CASTRO, J.; ALVAREZ, H.; VIERA, W. First report of soybean mosaic virus infecting passion fruit in Ecuador. **Journal of Plant Pathology**, Italy, v. 99, n. 3, p. 813, 2017. <http://dx.doi.org/10.4454/jpp.v99i3.3976>.

SNEHI, S. K.; RAJ, S. K.; KHAN, M. S.; PRASAD, V. Molecular identification of a new begomovirus associated with yellow mosaic disease of *Jatropha gossypifolia* in India. **Archives of Virology**, v. 156, n. 12, p. 2303–2307, 2011. doi: 10.1007/s00705-011-1118-5.

SOHRAB, S. S.; MOHD, Q.; HAQ, I. Begomovirus research in Saudi Arabia: current status and future prospects. **Applied Plant Virology**, p. 515-520, 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818654-1.00036-0>.

SPADOTTI, D. M. A.; BELLO, V. H.; FAVARA, G. M.; STANGARLIN, O. S.; KRAUSE-SAKATE, R.; REZENDE, J. A. M. *Passiflora edulis*: new natural host of Melochia yellow mosaic virus in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 14, n. 1, p. 9–10, 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s13314-019-0354-5>.

SU, L.; GAO, S.; HUANG, Y.; JI, C.; WANG, D.; MA, Y.; FANG, R.; CHEN, X. Complete genomic sequence of *Dracaena mottle virus*, a distinct badnavirus. **Virus Genes**, v. 35, p. 423–430, 2007. doi: 10.1007/s11262-007-0102-3.

SUN, S.; HU, Y.; JIANG, G.; TIAN, Y.; DING, M.; YU, C.; ZHOU, X.; QIAN, Y. Molecular Characterization and Genomic Function of Grapevine Geminivirus A. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. September, p. 1–14, 2020. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.555194>.

SURUTHI, V.; NAKKEERAN, S.; RENUKADEVI, P.; MALATHI, V. G.; RAJASREE, V. Evidence of seed transmission of dolichos yellow mosaic virus, a begomovirus infecting lablab-bean in India. **Virus Disease**, v. 29, n. 4, p. 506–512, 2018. doi: <https://doi.org/10.1007/s13337-018-0494-9>.

TANG, Y.; HE, Z.; ZHOU, G. *Passiflora edulis* is a new host of Cotton leaf curl Multan virus–betasatellite complex in China. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Canada, v. 42, n. 01, p. 1–6, 2020. doi: <https://doi.org/10.1080/07060661.2019.1706640>.

TASSI, A. D.; GARITA-SALAZAR, L. C.; AMORIM, L.; NOVELLI, V. M.; FREITAS-ASTÚA, J.; CHILDERS, C. C.; KITAJIMA, E. W. Virus-vector relationship in the Citrus leprosis pathosystem. **Experimental and Applied Acarology**, v. 71, n. 3, p. 227–241, 2017. doi: [10.1007/s10493-017-0123-0](https://doi.org/10.1007/s10493-017-0123-0).

The Springer Index of Viruses Online. Available online: <http://oesys.springer.de/viruses/database/login.shtm> (acesso em fevereiro de 2021).

THORNBURY, D. W.; HELLMANN, G. M.; RHOADS, R. E.; PIRONE, T. P. Purification and characterization of potyvirus helper component. **Virology**, v. 144, n. 1, p. 260–267, 1985. doi: [10.1016/0042-6822\(85\)90322-8](https://doi.org/10.1016/0042-6822(85)90322-8).

TIMCHENKO, T.; KATUL, L.; SANO, Y.; KOUCHKOVSKY, F. DE; VETTEN, H. J.; GRONENBORN, B. The master rep concept in nanovirus replication: Identification of missing genome components and potential for natural genetic reassortment. **Virology**, v. 274, n. 1, p. 189–195, 2000. doi: [10.1006/viro.2000.0439](https://doi.org/10.1006/viro.2000.0439).

UCHIBORI, M.; HIRATA, A.; SUZUKI, M.; UGAKI, M. Tomato yellow leaf curl virus accumulates in vesicle-like structures in descending and ascending midgut epithelial cells of the vector whitefly, *Bemisia tabaci*, but not in those of nonvector whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. **Journal of General Plant Pathology**, UK, v. 79, n. 2, p. 115–122, 2013. doi: <https://doi.org/10.1007/s10327-012-0426-2>.

UKE, A.; PINILI, M. S.; NATSUAKI, K. T.; GEERING, A. D. W. Complete genome sequence of aucuba ringspot virus. **Arch Virol**, Austria, v. 7, n. 2, 2021. doi: [10.1007/s00705-021-04977-4](https://doi.org/10.1007/s00705-021-04977-4).

URCUQUI-INCHIMA, S.; HAENNI, A. L.; BERNARDI, F. Potyvirus proteins: A wealth of functions. **Virus Research**, v. 74, n. 1–2, p. 157–175, 2001. doi: [10.1016/s0168-1702\(01\)00220-9](https://doi.org/10.1016/s0168-1702(01)00220-9).

VACA-VACA, J. C.; CARRASCO-LOZANO, E. C.; LÓPEZ-LÓPEZ, K. Molecular identification of a new begomovirus infecting yellow passion fruit (*Passiflora edulis*) in Colombia. **Arch Virol**, v. 162, n. 2, p. 573–576, 2017. doi: [10.1007/s00705-016-3098-y](https://doi.org/10.1007/s00705-016-3098-y).

VALLI, A.; GALLO A.; RODAMILANS B.; LÓPEZ-MOYA J. J.; GARCIA J. A. The HCPro from the Potyviridae family: an enviable multitasking Helper Component that every virus would like to have. **Molecular Plant Pathol**, v. 19, n. 3, p. 744–463, 2018. doi: [10.1111/mpp.12553](https://doi.org/10.1111/mpp.12553).

VALLI, A.; MARTÍN-HERNÁNDEZ, A. M.; LÓPEZ-MOYA, J. J.; GARCÍA, J. A. RNA Silencing Suppression by a Second Copy of the P1 Serine Protease of Cucumber Vein Yellowing Ipomovirus, a Member of the Family Potyviridae That Lacks the Cysteine Protease HCPro. **Journal of Virology**, USA, v. 80, n. 20, p. 10055–10063, 2006. doi: [10.1128/JVI.00985-06](https://doi.org/10.1128/JVI.00985-06).

VARSANI, A., ROUMAGNAC, P.; FUCHS, M.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; IDRIS, A.; BRIDDON, R. W.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.; ZERBINI, F. M.; MARTIN, D. P. Capulavirus and Grablovirus: two new genera in the family Geminiviridae. **Archives of Virology**, v. 162, p. 1819–1831, 2017. DOI: 10.1007/s00705-017-3268-6. doi: 10.1007/s00705-017-3268-6.

VENKATARAMAN, S.; SELVARAJAN, R. Recent advances in understanding the replication initiator protein of the ssDNA plant viruses of the family Nanoviridae. **Virus disease**, v. 30, n. 1, p. 22–31, 2019. doi: 10.1007/s13337-019-00514-9.

VERCHOT, J.; CARRINGTON, J. C. Evidence that the potyvirus P1 proteinase functions in trans as an accessory factor for genome amplification. **Journal of Virology**, v. 69, n. 6, p. 3668–3674, 1995. doi: 10.1128/JVI.69.6.3668-3674.

VIDAL, A. H.; SANCHES, M. M.; ALVES-FREITAS, D. M. T.; ABREU, E. F. M.; LACORTE, C.; PINHEIRO-LIMA, B.; ROSA, R. C. C.; JESUS, O. N.; CAMPOS, M. A.; VARSANI, A.; RIBEIRO, S. G. First World Report of Cucurbit Aphid-Borne Yellow Virus Infecting Passionfruit. **Plant Disease**, v. 102, n. 12, p. 2665–2665, 2018. doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-18-0694-PDN>.

VINOTH KUMAR, R.; SHIVAPRASAD, P. V. Plant-virus-insect tritrophic interactions: insights into the functions of geminivirus virion-sense strand genes. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 287, n. 1936, p. 2020–1846, 2020. doi: <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.1846>.

VOZÁROVÁ, Z.; GLASA, M.; ŠUBR, Z. W. Tracking the potyviral P1 protein in Nicotiana benthamiana plants during plum pox virus infection. **Acta Virologica**, v. 61, n. 4, p. 492–494, 2017. doi: 10.4149/av_2017_413.

WALTER, J.; BARRA, A.; DOUBLET, B.; CÉRÉ, N.; CHARON, J.; MICHON, T. Hydrodynamic behavior of the intrinsically disordered potyvirus protein VPg, of the translation initiation factor eIF4E and of their Binary complex. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 7, p. 1–12, 2019. doi: 10.3390/ijms20071794.

WANG, D.; ZHANG, X.; YAO, X.; ZHANG, P.; FANG, R.; YE, J. A 7-amino-acid motif of Rep protein essential for virulence is critical for triggering host defense against Sri Lankan cassava mosaic virus. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 33, n. 1, p. 78–86, 2020. doi: 10.1094/MPMI-06-19-0163-FI.

WANG, H.; HAO, L.; SHUNG, C. Y.; SUNTER, G.; BISARO, D. M. Adenosine kinase is inactivated by Geminivirus AL2 and L2 proteins. **Plant Cell**, USA, v. 15, n. 12, p. 3020–3032, 2003. doi: <https://doi.org/10.1105/tpc.015180>.

WANG, Y.; CHENG, X.; WU, X.; WANG, A.; WU, X. Characterization of complete genome and small RNA profile of Pagoda yellow mosaic associated virus, a novel Badnavirus in China. **Virus Res.** v. 188, p. 103–108, 2014. doi: 10.1016/j.virusres.2014.04.006.

WATANABE, S.; RUSCHEL, R.; MARRERO, G.; SETHER, D.; BORTH, W.; HU, J.; MELZER, M. A distinct lineage of Watermelon mosaic virus naturally infects honohono orchid (*Dendrobium anosmum*) and passionfruit (*Passiflora edulis*) in Hawaii. **New Disease Reports**, v. 34, n. 3, p. 13, 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2016.034.013>.

WEBSTER, C. G.; COUTTS, B. A.; JONES, R. A. C.; JONES, M. G. K.; WYLIE, S. J. Virus impact at the interface of an ancient ecosystem and a recent agroecosystem: Studies on three legume-infecting potyviruses in the southwest Australian floristic region. **Plant Pathology**, UK, v. 56, n. 5, p. 729–742, 2007. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01653.x>.

WEI, J.; HE, Y. Z.; GUO, Q.; GUO, T.; LIU, Y. Q.; ZHOU, X. P.; LIU, S. S.; WANG, X. W. Vector development and vitellogenin determine the transovarial transmission of begomoviruses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, USA, v. 114, n. 26, p. 6746–6751, 2017. doi: 10.1073/pnas.1701720114.

WEI, T.; WANG, A. Biogenesis of cytoplasmic membranous vesicles for plant potyvirus replication occurs at endoplasmic reticulum exit sites in a COPI- and COPII-Dependent Manner. **Journal of Virology**, USA, v. 82, n. 24, p. 12252–12264, 2008. doi: 10.1128/JVI.01329-08

WU, G.; CUI, X.; DAI, Z.; HE, R.; LI, Y.; YU, K.; BERNARDS, M.; CHEN, X.; WANG, A. A plant RNA virus hijacks endocytic proteins to establish its infection in plants. **Plant Journal**, v. 101, n. 2, p. 384–400, 2020. doi: 10.1111/tjp.14549.

WYLIE, S. J.; ADAMS, M.; CHALAM, C.; KREUZE, J.; LÓPEZ-MOYA, J. J.; OHSHIMA, K.; PRAVEEN, S.; RABENSTEIN, F.; STENGER, D.; WANG, A.; ZERBINI, F. M. ICTV virus taxonomy profile: Potyviridae. **Journal of General Virology**, v. 98, n. 3, p. 352–354, 2017. doi: 10.1099/jgv.0.000740.

XIE, L.; GAO, F.; ZHENG, S.; ZHANG, X.; ZHANG, L.; LI, T. Molecular characterization of a new potyvirus infecting passion fruit. **Archives of Virology**, v. 164, n. 7, p. 1903–1906, 2019. doi: <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04251-8>.

XU, D. L.; ZHOU, G. H.; XIE, Y. J.; MOCK, R.; LI, R. Complete nucleotide sequence and taxonomy of sugarcane streak mosaic virus, member of a novel genus in the family *Potyviridae*. **Virus Gene**, v. 40, p. 432–439, 2010. doi: 10.1007/s11262-010-0457-8.

XU, X.; ZHANG, Q.; HONG, J.; LI, Z.; ZHANG, X.; ZHOU, X. Cryo-EM structure of a begomovirus geminate particle. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 7, p. 1–10, 2019. doi: 10.3390/ijms20071738.

YADAVA, P.; SUYAL, G.; MUKHERJEE, S. K. Begomovirus DNA replication and pathogenicity. **Current Science**, v. 98, n. 3, p. 360–368, 2010. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2019.08.018.

YAN J.; YUAN Q.; XIE P.; WANG L.; MA Y. W. Z. Identification of Viruses Infecting *Passiflora edulis* in Guizhou Province by Small RNA Sequencing. **Chinese Journal of Tropical Crops**, v. 40, n. 8, p. 1577–1584, 2019. doi: 10.1099/jgv.0.000738.

ZERBINI, F. M.; BRIDDON, R. W.; IDRIS, A.; MARTIN, D. P.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.; ROUMAGNAC, P.; VARSANI, A. ICTV virus taxonomy profile: Geminiviridae. **Journal of General Virology**, v. 98, n. 2, p. 131–133, 2017. doi: 10.3390/ijms20163867.

ZHANG, H.; CHENG, G.; YANG, Z.; WANG, T.; XU, J. Identification of sugarcane host factors interacting with the 6K2 protein of the sugarcane mosaic virus. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 16, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pep.2007.10.008>.

ZHENG, N.; PÉREZ, J. DE J.; ZHANG, Z.; DOMÍNGUEZ, E.; GARCIA, J. A.; XIE, Q. Specific and efficient cleavage of fusion proteins by recombinant plum pox virus NIa protease. **Protein Expression and Purification**, v. 57, n. 2, p. 153–162, 2008. doi: <https://doi.org/10.1038/nature14171>.

ZORZATTO, C.; MACHADO, J. P. B.; LOPES, K. V. G.; KELLY J. T. NASCIMENTO, K. J. T.; WELISON A. PEREIRA, W. A.; BRUSTOLINI, O. J. B.; PEDRO A. B. REIS, P. A. B.; CALIL, I. A. P.; DEGUCHI, M.; GILBERTO SACHETTO-MARTINS, G.; GOUVEIA, B. C.; LORIATO, V. A. P.; SILVA, M. A. C.; SILVA, F. F.; SANTOS, A. A.; CHORY, J.; FONTES, E. P. B. NIK1-mediated translation suppression functions as a plant antiviral immunity mechanism. **Nature**, USA, v. 520, n. 7549, p. 679–682, 2015. doi: <https://doi.org/10.1038/nature14171>.

CAPÍTULO II

Estudo da Diversidade Viral nas
Pequenas Áreas de Produções de
Maracujá no estado do Acre

CAPÍTULO 2: ESTUDO DA DIVERSIDADE VIRAL NAS PEQUENAS ÁREAS PRODUÇÕES DE MARACUJÁ NO ESTADO DO ACRE

Santos GAS¹, Margarida P², Winter S², BLAWID R¹

1 Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Laboratório de Fitovirologia, 52171-900, Recife-PE, Brasil

2 Leibniz Institute - German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, GmbH (DSMZ), Alemanha

RESUMO

O maracujá (*Passiflora* sp.) é uma das principais culturas cultivadas no mundo com grande diversificação de subprodutos, sendo atualmente o Brasil o maior produtor mundial produzindo somente em 2019 cerca de 602.651 toneladas. Várias doenças acometem a cultura, onde as fitoviroses podem causar até 100% de perdas. Os principais vírus que prejudicam as passifloráceas, pertencem aos gêneros *Potyvirus*, *Begomovirus*, *Tymovirus*, *Cucumovirus* e *Cilevirus*. No estado do Acre essa cultura tem grande impacto socioeconômico por ser produzida por pequenos produtores, ter rápido retorno financeiro e constante produtividade ao longo do ano. Nesse contexto, o HTS (*High-Throughput Sequencing*) surge como uma ferramenta eficiente e de baixo custo na detecção e montagem de genomas virais. Portanto, este trabalho teve como objetivo o estudo da metagenômica viral (virômica) dos plantios de maracujá no estado do Acre. Para tanto, folhas de maracujá e plantas daninhas/invasoras com possíveis sintomas virais foram coletados nos municípios de Rio Branco, Sena Madureira e Manuel Urbano, totalizando sete campos de coleta e 50 amostras. O RNA total das folhas foi extraído e sequenciado no Instituto Leibniz, no DSMZ, Alemanha (Coleção Alemã de Microorganismos e Cultura de Células, GmbH). Um total de dez bibliotecas de cinco *pools* de amostras foi gerado. Os *pools* GS1, GS2, GS3 e GS4 foram gerados quase em sua totalidade de amostras de plantas de maracujá, enquanto o *pool* GS5 de amostras de plantas daninhas/invasoras presentes nos campos de maracujazeiros. De forma sucinta, a análise de bioinformática e montagem de genomas virais seguiu as seguintes etapas: (i) primeiramente uma visão geral taxonômica foi realizada utilizando os *reads* com a plataforma *online* Kaiju; (ii) em seguida a verificação da qualidade do sequenciamento foi investigada pelo programa FastQC v. 0.72 (iii) a trimagem de adaptadores e *reads* de baixa qualidade foi realizada com o software Trimomatic v. 0.39 e por fim (iv) os *contigs* foram montados com SPAdes v. 3.12 e submetidos a análise de tBLASTX utilizando uma biblioteca RefSeq construída manualmente do *GenBank*. A extensão e a montagem *de novo*, bem como a anotação foram realizadas com o software Geneious v.11.0. Como resultado, 0,1%, 0,2%, 0,2%, 0,7% e 1% de sequências virais foram detectados com o programa Kaiju para os *pools* GS1, GS2, GS3, GS4 e GS5, respectivamente. Uma grande quantidade de *contigs* foi montado que apresentavam relativamente alta identidade com sequências de badnavírus (GS1, GS2 e GS3). Além disso, do *pool* GS4 foram montados os segmentos virais dos RNAs 1 e 2 do cilevírus passion fruit green spot virus (PfGSV), e do *pool* GS5, as moléculas de DNA-A e DNA-B de sida micrantha mosaic virus (SiMMV), e de bean bushy stunt virus (BeBSV). Este é o primeiro relato de BeBSV em campos de produção do Brasil e o segundo no mundo.

Palavras-chaves: HTS, Virômica, *Passiflora*

ABSTRACT

Passion fruit (*Passiflora* sp.) is one of the main crops grown in the world with great diversification of by-products, and Brazil is currently the largest world producer with 602,651 tons alone in 2019. Various diseases affect the culture, where plant viruses can cause up to 100% of losses. Among the viruses that cause diseases in passion fruit are the *Potyvirus*, *Begomovirus*, *Tymovirus*, *Cucumovirus* and *Cilevirus*. In the state of Acre, this culture has a great socioeconomic impact as it is produced by small producers and has a quick financial return and constant productivity throughout the year. In this context, HTS (*High-Throughput Sequencing*) emerges as an efficient and low-cost tool in the detection and assembly of viral genomes. Therefore, this project aimed to study viral metagenomics (viromic) in passion fruit plantations in the State of Acre. For that, passion fruit leaves and weeds with possible viral symptoms were collected from the municipalities of Rio Branco, Sena Madureira and Manuel Urbano, totaling seven collection fields and 50 samples. Total RNA from leaves was extracted and sequenced at the Leibniz Institute, at the DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Culture GmbH, Germany). A total of ten libraries from five sampled pools were generated. The GS1, GS2, GS3 and GS4 pools were generated from samples of passion fruit plants, while the GS5 pool of weed samples present in the passion fruit fields. Briefly, the bioinformatics analysis and assembly of viral genomes followed the steps: (i) first a taxonomic overview was performed using *reads* with the online platform Kaiju; (ii) then sequencing quality was investigated by the program FastQC v. 0.72 (iii) trimming of low-quality *reads* and adapters were performed with Trimomatic v. 0.39 and finally (iv) contigs were assembled with SPAdes v. 3.12 and submitted to tBLASTX analysis using a RefSeq library built manually from GenBank. The extension and assembly, as well as the viral annotation were performed with the Geneious software v.11.0. As a result, 0.1%, 0.2%, 0.2%, 0.7% and 1% of viral sequences were detected with Kaiju for pools GS1, GS2, GS3, GS4 and GS5, respectively. A large number of contigs were assembled that showed relatively high identity with sequences belonging to the genus *Badnavirus* (GS1, GS2 and GS3). In addition, viral segments of RNAs 1 and 2 of passion fruit green spot virus (PfGSV) were assembled from pool GS4 as well the complete genomic sequence of the sida micrantha mosaic virus (SiMMV), and the complete genome of bean bushy stunt virus (BeBSV) from pool GS5. This is the first report of BeBSV in production areas of Brazil and the second report in the world.

Keywords: HTS, Viromic, *Passiflora*

INTRODUÇÃO

O maracujazeiro amarelo, *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg, é uma das principais culturas do Brasil. Mais de 500 espécies pertencem ao gênero *Passiflora*, dos quais mais de 150 são nativas do Brasil. No estado do Acre o cultivo da fruta é favorecido devido ao seu clima equatorial úmido, que proporciona maior produtividade sem interrupção da cadeia produtiva ao longo do ano (Uchôa *et al.*, 2018). O cultivo do maracujá no estado do Acre gera emprego e renda, principalmente para pequenos produtores que representam a maior parcela de produtores. Estima-se que a cada hectare são gerados de 3 a 4 empregos diretos e 8 a 9 indiretos que podem movimentar até 500 milhões de reais por ano fazendo com que essa cultura tenha alto impacto socioeconômico (Faleiro *et al.*, 2016). Dentre os limitadores que acometem a cultura do maracujazeiro são as doenças causadas por fungos, nematoides, bactérias e vírus que podem comprometer a cultura em perdas de até 100% dos pomares (Araújo neto *et al.*, 2008; Lima *et al.*, 2011). No estado do Acre, somente no ano de 2019 foram destinadas uma área de 136 hectares para produção de maracujá, que teve uma produtividade média de 8768 kg/ha e um total de cerca de 1096 toneladas (IBGE, 2020).

Das fitoviroses que infectam o maracujazeiro, os vírus pertencentes aos gêneros *Potyvirus*, *Begomovirus*, *Cucumovirus*, *Tymovirus* e *Cilevirus* estão amplamente distribuídos em todo o território nacional. A espécie *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV), que causa o endurecimento dos frutos do maracujazeiro, já foi relatada em campos de produção no Distrito Federal, e nos estados de Minas Gerais, Goiás, Pernambuco, Paraíba, Sergipe, e, Ceará (Anjos *et al.*, 2001; Maia *et al.*, 2017; Nascimento *et al.*, 2004). No Mato Grosso do Sul os begomovírus passion fruit chlorotic mottle virus (PCMoV) e melochia yellow mosaic virus (MelYMV) foram encontrados infectando o maracujazeiro (Fontenele *et al.* 2018; Spadotti *et al.*, 2019), e na Bahia o passion fruit severe leaf distortion virus (PSLDV) (Ferreira *et al.*, 2009); e o cucumovírus cucumber mosaic virus (CMV), no Sergipe (Gioria *et al.*, 2002), também já foram relatados em campos de produção. O tymovírus passion fruit yellow mosaic virus (PFYMV) foi encontrado em áreas de produção do Rio de Janeiro (Crestani *et al.*, 1986) e um cilevírus, passion fruit green spot virus (PfGSV) foi encontrado infectando o maracujazeiro em áreas produtoras de São Paulo, Distrito Federal, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Sergipe, Bahia, Rondônia e do Maranhão (Kitajima *et al.*, 2003; Moraes *et al.*, 2006, Ramos-gonzález *et al.*, 2020). No entanto, pouco se conhece sobre os vírus que infectam as áreas produtoras no estado do Acre. No Acre foram identificados alguns vírus, tais como, pepper yellow mosaic virus em pimentão, cowpea severe mosaic virus em caupi, cleome leaf curl virus em *Cleome affinis*, cowpea chlorotic mottle virus em *Arachis pintoi*, sida mosaic Bolivia virus em *Sida* sp., passion

fruit green spot virus em hibisco, banana streak virus (BSV-OL) em banana, citrus leprosis virus C (CiLV-C) em citrus, Peanut mottle virus - PeMoV em *Arachis sp.* (Gonçalves *et al.*, 2016; Kitajima *et al.*, 2020; Siviero *et al.*, 2019). Na Amazônia já foi detectado a presença de CABMV no Pará em feijão-de-porco (Rodrigues *et al.*, 2014), cowpea aphid-borne mosaic virus P (CABMV-P) no Amazonas em Caupi (Kitajima *et al.*, 2020), e CMV em Rondônia também em Caupi (Kitajima, *et al.*, 2020; Fernandes *et al.*, 2010).

Atualmente o sequenciamento em massa (HTS - *High-Throughput Sequencing*), também conhecido como sequenciamento de última geração (NGS - *Next generation Sequencing*), tem contribuído enormemente na descoberta de novos vírus. Atualmente, a principal plataforma usada para o HTS é a plataforma Illumina, que foi inicialmente desenvolvida pela Solexa. Essa tecnologia se baseia no sequenciamento “em ponte” onde moléculas de DNA de 100-500 pb são ligadas a adaptadores nas extremidades e usadas como substrato para repetidas amplificações em um suporte de vidro que contém sequências de oligonucleotídeos complementares a um adaptador ligado. Após repetidas amplificações cerca de 1.000 cópias (Slatko *et al.*, 2018) de cada fragmento formam-se *clusters* de sequenciamento e a placa de vidro pode conter até milhões de sequências. Durante o processo de síntese, à medida que cada base nitrogenada é incorporada na cadeia de polimerização é emitida uma fluorescência, que é captada por sensores. A informação é transformada em dados de sequenciamento (Slatko *et al.*, 2018; Shulse *et al.*, 2019).

Com intuito de estudar a metagenômica viral em plantações de maracujá nas regiões produtoras do estado do Acre, plantas sintomáticas de maracujá, bem como plantas daninhas/invasoras presentes nas plantações foram coletadas, armazenadas e sujeitas a análise HTS. Um total de 50 plantas foi coletado, e dividido em cinco *pools* (GS1-GS5), e sequenciados via HTS. Como resultado, vários *contigs* foram montados que mostravam relativamente alta porcentagem de identidade a sequências endógenas de pararetrovírus. Além disso, os genomas completos de um cilevírus e dois begomovírus foram montados e anotados. Reconstruções filogenéticas foram realizadas com intuito de entender melhor a etiologia viral das sequências montadas. Este trabalho relata a presença de um cilevírus infectando o maracujazeiro no estado do Acre, a presença de duas possíveis sequências endógenas de badnavírus, PRSV sequenciado de pepino e de um novo begomovírus infectando plantas daninhas na região, e contribui na caracterização da diversidade viral no maracujazeiro no estado do Acre.

MATERIAL E MÉTODOS

COLETA

Folhas de *Passiflora* sp. e outras espécies de plantas (Figura Suplementar 1 e 2, em Anexo) presentes em campos de maracujá com possíveis sintomas de infecção viral foram coletadas em zig-zag. Sete locais de visita totalizaram em 50 amostras oriundas dos municípios de Manoel Urbano, Sena Madureira e Rio Branco. O material foliar coletado foi organizado de acordo com a localização geográfica conforme Figura 12 e Material Suplementar Tabela 1 (em Anexo).

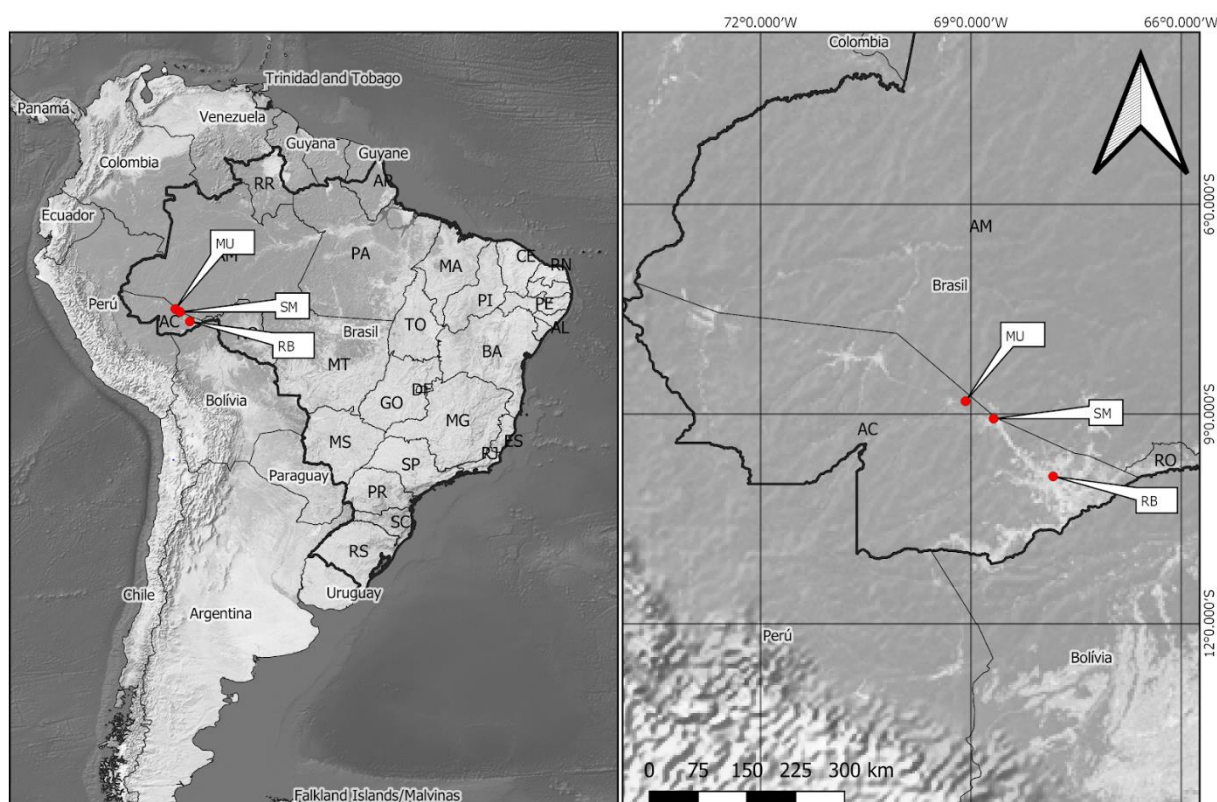


Figura 12 - Pontos de coleta nos municípios do estado do Acre: Manoel Urbano (MU), Sena Madureira (SM) e Rio Branco (RB).

As amostras de folhas foram fragmentadas com auxílio de uma tesoura em tamanhos de 2-3 cm e armazenadas em tubos do tipo *Falcon* (Sarstedt, Alemanha) contendo cloreto de cálcio (Biomatrica) como agente dessecante e de preservação. Os tubos foram devidamente fechados, identificados e armazenados a 4°C no Laboratório de Fitovirologia da UFRPE.

SEQUENCIAMENTO ILLUMINA

As amostras secas de folhas foram enviadas ao DSMZ, Alemanha, (Coleção Alemã de Microorganismos e Cultura de Células, GmbH) e o RNA total foi extraído e submetido ao HTS

utilizando a plataforma Illumina Nextera (1-2Gb, 2 x 300 bp). As amostras foram divididas em cinco *pools* conforme descrito na **Tabela 4**.

Tabela 4 - *Pools* formados para o sequenciamento Illumina Nextera

<i>Pool</i> de amostras	Quantidade de amostras	Espécies de plantas coletadas
GS1	11	<i>Passiflora</i> sp.
GS2	11	<i>Passiflora</i> sp.
GS3	11	<i>Passiflora</i> sp., <i>Cucumis sativus</i>
GS4	11	<i>Passiflora</i> sp.
GS5	6	<i>Sida</i> sp., <i>Pueraria</i> sp., <i>Malpighia</i> sp., <i>Citrus</i> sp.

ANÁLISE DE BIOINFORMÁTICA

Duas bibliotecas (Nextera) foram construídas a partir de RNA total para cada *pool* de amostra (GS1-GS5). As análises de bioinformática seguiram o *pipeline* desenvolvido por Blawid *et al.* (2017) para montagem de genomas virais de plantas. Primeiramente uma análise de classificação taxonômica foi realizada utilizando a plataforma *online* Kaiju (Menzel *et al.*, 2016). A verificação da qualidade do sequenciamento foi feita com o programa FastQC v. 0.72. Os adaptadores e *reads* de baixa qualidade (PHRED <20) foram trimados das sequências com o Trimmomatic v. 0.39 (SLIDINGWINDOW:4:20; TRAILING:3, MINLEN:32). Os *contigs* foram montados usando o algoritmo SPAdes v.3.12.0 (Bankevich *et al.* 2012) com *k-mers* de 23, 33, 55 e 77. Ambos os programas estão disponíveis na plataforma *online usegalaxy* (<https://usegalaxy.eu/>). Os *contigs* montados foram submetidos a uma análise de tBLASTX contra um banco de dados de sequências virais (~13.000 sequências) disponível no NCBI (RefSeq-Março-2020). Os *contigs* que apresentavam *hits* com uma mesma espécie viral foram separados e os genomas virais foram montados através da extensão usando algoritmo interno do programa Geneious v.11.0.5 (*sensitivity: Medium-Low/Fast, Iterate up to 5 times*). O algoritmo Bowtie 2 foi utilizado para a montagem de genomas utilizando sequências de referência (Langmead *et al.*, 2012), quando necessário. Os genomas foram anotados por meio do programa Geneious v. 11.0.5.

ANÁLISE FILOGENÉTICA

Primeiramente, múltiplos alinhamentos foram realizados com o algoritmo *MUSCLE* disponível no programa MEGAX (Kumar *et al.*, 2018). O melhor modelo de substituição para construção de árvore Bayesiana foi escolhido utilizando o software jModelTest v. 2.1.1.0. Portanto, a reconstrução filogenética de PRSV e do badnavírus foi realizada com o MEGAX (*Maximum Likelihood*, modelo de substituição JTT+G, *bootstrap* 1.000) utilizando sequências de aminoácidos completas da CP e da ORF3 do badnavírus.

A reconstrução filogenética para os genomas de begomovírus foi realizada com o software MrBayes v. 3.2.7 (2019) com o modelo de substituição HKY + I + G, *bootstrap* 1.000 (Hasegawa, Kishino e Yano, 1985). O software Figtree v. 1.4.4 foi utilizado para a visualização das árvores geradas. A ferramenta SMART (*SMART:embl-heidelberg.de*) foi utilizada para a detecção de estruturas homólogas, domínios PFAM, sinais de peptídeos e repetições internas. O pacote de bioinformática do Instituto Max Planck (*MPI Bioinformatics Toolkit- HHblits, HHpred e HMMER*, <https://toolkit.tuebingen.mpg.de/>) foi utilizado para detecção de proteínas homólogas.

RESULTADOS

CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DA METAGENÔMICA VIRAL COM KAIJU

As análises de classificação taxonômica pelo Kaiju mostraram que os *pools* GS1, GS2, GS3, GS4 e GS5 apresentaram as seguintes porcentagens de sequências virais, 0,1%, 0,2%, 0,2%, 0,7% e 1%, respectivamente. A **Figura 13** mostra uma representação gráfica da porcentagem de sequências virais encontrada para cada *pool* de amostra sequenciada. Por exemplo, na amostra GS1 dos 0,1% de sequências virais 67% alinharam-se a sequências virais pertencentes a família *Caulimoviridae*.

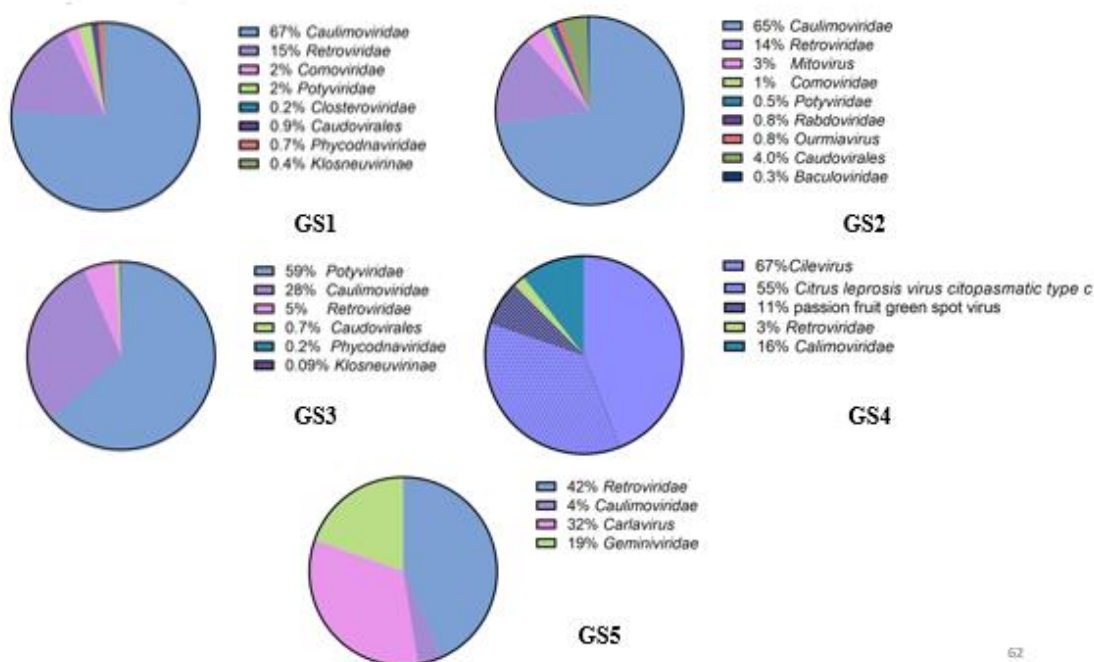


Figura 13 - Análise taxonômica dos *pools* GS1, GS2, GS3, GS4 e GS5. As porcentagens de sequências virais com *hits* com as principais famílias virais estão representadas ao lado de cada representação gráfica.

A maioria das sequências virais analisadas dos *pools* de amostras tiveram *hits* com sequências de pararetrovírus. Nas amostras GS1 e GS2, mais de 60% dos *reads* tiveram alta identidade com sequências classificadas como caulimovírus. Por outro lado, no *pool* GS3, 59% dos *reads* apresentaram alta identidade com sequências da família *Potyviridae*. Já no *pool* GS4 67% *reads* apresentaram altas identidades com sequências classificadas como cilevírus. A amostra GS5 apresentou uma porcentagem relativamente grande de *reads* que se alinharam com sequências pertencentes à família *Geminiviridae*.

TRIMAGEM DOS READS E ADAPTADORES

O (HTS) resultou em um total de 955.929 *reads* (no sentido *forward* e *reverse*) no *pool* GS1, e após a trimagem um total de 764.590 *reads* foram obtidos. No *pool* GS2, 802.930 *reads*

foram obtidos do HTS, e após a trimagem 645.617 *reads* foram obtidos. Do *pool* GS3, 1.968.875 *reads* foram trimados resultando no total de 1.658.710 sequências. Do *pool* GS4, 878.751 sequências foram obtidas, e, após a trimagem esses valores foram para 682.295 *reads*. Do *pool* GS5, 1.187.074 de *reads* foram trimados resultando em um total de 1.171.334 sequências conforme descrito na **Figura Suplementar 3 (em Anexo)**.

MONTAGEM DE *CONTIGS* E ANÁLISE DE TBLASTX

As montagens de *contigs* pelo SPAdes resultaram 37.995, 65.204, 85.084, 38.082, 88.046 *contigs* (*nodes*) para os *pools* GS1, GS2, GS3, GS4 e GS5, respectivamente. Os *contigs* foram submetidos a uma análise de tBLASTX por meio do programa Geneious v. 11.0.5 conforme descrito na **Tabela 5**.

A média dos tamanhos dos *contigs* alinhados às sequências virais nas amostras GS1 e GS2 variaram entre 39 a 92 aminoácidos, enquanto dos *pools* GS3 e GS4 as médias variaram entre 36 a 281 aa em comprimento e a amostra GS5 entre 8 a 100 aa.

Tabela 5 - Resultados do tBLASTX de acordo com cada *pool* de amostra.

Amostras	Vírus	<i>Contigs</i>	Identidade (média)	Cobertura (média)	Comprimento da sequência alinhada (aa)
GS1	Blackberry Virus F	21	53,82%	35,94	92,50
	Petunia vein clearing vírus	95	53,56%	20,05	39,15
	Trichoplusia ni TED vírus	734	39,24%	55,48	91,69
	Citrus endogenous pararetrovirus	55	49,80%	49,82	73,92
	Cauliflower mosaic vírus	7	41,27%	24,67	51,46
	Cacao yellow vein-banding virus	14	54,94%	19,15	39,36
	Grapevine leafroll-associated virus	98	43,53%	30,63	51,31

	Barley yellow striate mosaic virus	9	38,87%	44,69	59,4
GS2	Blackberry virus F	24	53,83%	35,94	92,50
	Petunia vein clearing virus	132	53,56%	20,05	39,15
	Trichoplusia ni TED virus	898	39,23%	55,48	91,69
	Citrus endogenous pararetrovirus	114	49,80%	34,82	73,92
	Cauliflower mosaic virus	13	41,27%	24,67	51,46
	Cacao yellow vein-banding virus	9	54,94%	19,15	39,36
	Grapevine leafroll-associated virus 5	142	41,30%	35,10	43,625
GS3	Beet yellows virus	2	92,58%	98,11	281,2
	Blackberry virus F	6	62,05%	45,97	166,72
	Citrus endogenous pararetrovirus	16	50,83%	55,38	149,22
	Dishui lake phycodnavirus	14	52,13%	35,00	53,33
	Glyptapanteles indiensis bracovirus	12	62,10%	46,72	67,66
	Micromonas pusilla virus	26	54,02%	32,83	57,77
	Soybean mild mottle pararetrovirus	4	39,65%	41,82	185,5
	Papaya ringspot virus	35	76,52%	75,34	410, 74

GS4	Trichoplusia ni TED virus strain mutant.tsv	169	39,89%	59,47	109,82
	Yacon necrotic mottle vírus	3	51,27%	40,45	100
	Beet yellows virus	7	81,40%	87,32	242,16
	Blackberry virus F	14	59,01%	41,61	140,57
	Cacao Bacilliform SriLanka virus	3	57,50%	17,26	91,33
	Citrus endogenous pararetrovirus	33	50,60%	42,87	109,93
	Citrus leprosis virus C2	4	0,80%	0,28	727,5
	Petunia vein clearing virus	24	56,22%	15,20	36,41
	Soybean mild mottle pararetrovirus	2	39,65%	41,82	185,5
	Trichoplusia ni TED virus strain mutan	341	40,17%	55,38	101,60
GS5	Bean calico mosaic virus DNA-A	4	43,90%	23,67	36,5
	Bean calico mosaic virus DNA-B	3	46,70%	53,47	117
	Bean golden mosaic virus DNA-A	7	40,73%	19,72	29,85
	Bean golden mosaic virus DNA-B	8	46,08%	29,18	68
	Citrus endogenous pararetrovirus	969	73,20%	78,73	50,33

Citrus tristeza virus	39	59,03%	48,93	30,69
Petunia vein clearing virus	75	49,20%	68,48	55,45
Sida micrantha mosaic virus DNA-A	171	54,28%	59,76	22,22
Sida micrantha mosaic virus DNA-B	9	76,36%	59,84	81,33
Soybean chlorotic spot virus DNA-A	4	60,55%	55,36	64,5
Soybean chlorotic spot virus DNA-B	9	76,36%	59,84	81,33
Tomato golden vein virus DNA-A	9	47,47%	31,21	121,33
Tomato golden vein virus DNA-B	2	42,05%	19,16%	29,5

Vírus encontrados em cada *pool* de amostra de acordo com os resultados do tBLASTX. A média de identidade, média de cobertura e média do comprimento das sequências alinhadas foram calculadas para cada espécie viral.

MONTAGEM “*DE NOVO*” DE GENOMAS VIRAIS E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

Os genomas foram montados através da estratégia *de novo*, em que os *contigs* são estendidos até a obtenção do genoma completo ou quase completo. Esta estratégia possibilitou a obtenção de genomas completos (quase-completos) de vírus classificados como *Potyvirus*, *Cilevirus* e *Begomovirus*, conforme descrito na **Tabela 6**.

Tabela 6 - Genomas montados dos *pools* de amostras GS1 a GS5.

Genomas montados	Amostra	BLASTn e/ou BLASTp (aa ou nt)	Nº de <i>reads</i>	*Cobertura média	Tamanho (nt)
Sequência endógena pararetrovírus (Blackberry virus F)	GS1	ORF2 41,5 (aa) ORF3	408	41	7.287

53,0 (aa)					
Sequência endógena pararetrovírus (Blackberry virus F)	GS3	ORF2 42,0 (aa) ORF3 53,0 (aa)	1.088	71	7.294
Papaya ringspot virus (PRSV)	GS3	ORF1 76,10 (nt) 80,6 (aa) ORF2-PIPO 83,4 (nt) 67,7 (aa)	2.866	134	10.308
passion green spot virus (PfGSV) RNA-1	GS4	ORF1-RdRp 94,56 (nt) 98,16 (aa) ORF2-CP 95,62 (nt) 97,29 (aa)	416	38	8.868
passion green spot virus (PfGSV-AC) RNA-2	GS4	ORF1-p15 99,24 (nt) 97,71 (aa) ORF2-p13 99,70 (nt) 99,10 (aa) ORF3-p61 98,77 (nt) 99,82 (aa) ORF4-MP 99,32 (nt) 99,32 (aa) ORF5-p24 99,52 (nt) 100 (aa)	649	97	4.711
Sida micrantha mosaic virus (SiMMV-ACRE) DNA-A	GS5	GC 96,62 (nt)	417	144	2.676
Sida micrantha mosaic virus (SiMMV-ACRE) DNA-B	GS5	GC 92,64 (nt)	742	126	2.641
bean bushy stunt virus (BeBSV-ACRE) DNA-A	GS5	GC 93,01 (nt)	758	160	2.578

bean bushy stunt virus (BeBSV-ACRE) DNA-B	GS5	GC 92,68 (nt)	1.200	154	2.525
---	-----	-------------------------	-------	-----	-------

Sequências montadas dos *pools* de amostras GS1-GS5. O percentual de identidade foi calculado por BLASTn ou BLASTp. A cobertura em *reads* e tamanho em nucleotídeos (nt) foram calculados pelo programa Geneious v.11.0. *A cobertura média representa a quantidade média de *reads* alinhados ao longo do genoma viral. nt = nucleotídeos; aa = aminoácidos; GC = Genoma completo em nucleotídeos; MP = proteína de movimento; RdRp = RNA polimerase dependente de RNA; CP = Capa Proteica; A p15 juntamente com os produtos das ORFs p13, p61 e p24 estão envolvidas com o mecanismo de replicação.

PARARETROVÍRUS

Das amostras GS1 e GS3 foi possível a montagem de sequências que apresentaram relativamente alta identidade a nível de nucleotídeo com sequências de badnavírus encontradas no *GenBank*. A sequência completa montada da amostra ACRE-1 (GS1) consiste em 7.287 nt e da amostra ACRE3 (GS3) em 7.294 nt (**Figura 14**).

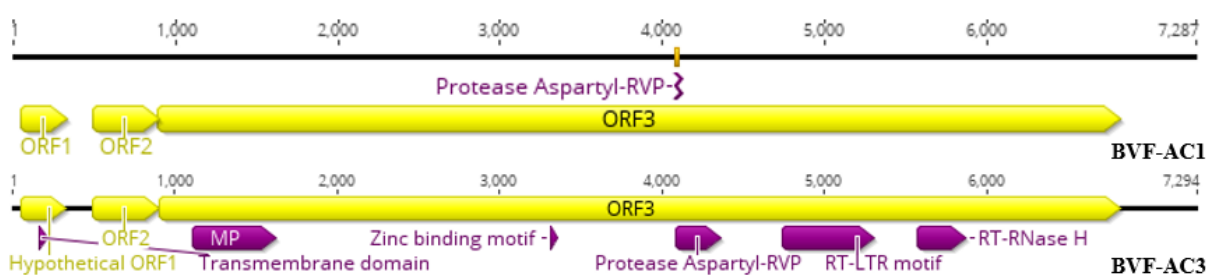


Figura 14 - Representação gráfica do genoma montado da amostra GS1 (BVF-AC1) e GS3 (BVF-AC3). Emura roxo os motivos de proteína de movimento (MP), de interação com DNA “dedos de zinco”, protease do tipo aspartyl, de transcriptase reversa e de RNaseH.

Três ORFs foram preditas das sequências montadas. A ORF1 consiste em 276 nt (BVF-AC1) e 282 nt (BVF-AC3), respectivamente em comprimento, e que putativamente codificam para um peptídeo com massa molecular de cerca de 10 kDa. Um domínio transmembranar (V₃₈YSLQAITLTLLPILFLIL₅₆) foi encontrado pela ferramenta SMART no peptídeo. A ORF2 consiste em 408 nt (~16 kDa) e faz sobreposição em quatro nucleotídeos com a ORF3. A ORF3 (5,928 nt) codifica putativamente para uma proteína (1.975 aa) de massa molecular calculada em ~228 kDa. Cinco motivos foram encontrados na poliproteína: proteína de movimento, motivo de ligação ao DNA “dedo de zinco”, de protease do tipo *aspartyl*, RT-LTR e de RT-RNaseH. Motivos do tipo RT-LTR são de transcriptases reversas e ocorrem em uma variedade de elementos móveis tais como retrotransposons, retrovírus, introns do grupo II, hepadnavírus e caulimovírus. A transcriptase reversa retroviral é normalmente sintetizada como parte da poliproteína, que contém os motivos de protease (*aspartyl*), reverse transcriptase, RNaseH e

integrase. Análises com BLASTp utilizando sequência de aminoácido da poliproteína putativamente codificada pela ORF3 mostraram identidade de cerca de 53% (87% de cobertura) com uma sequência de blackberry virus F (número de acesso: YP_009229919) encontrada nos Estados Unidos (EUA). A reconstrução filogenética realizada com a poliproteína da ORF3 está representada pela **Figura 15**.

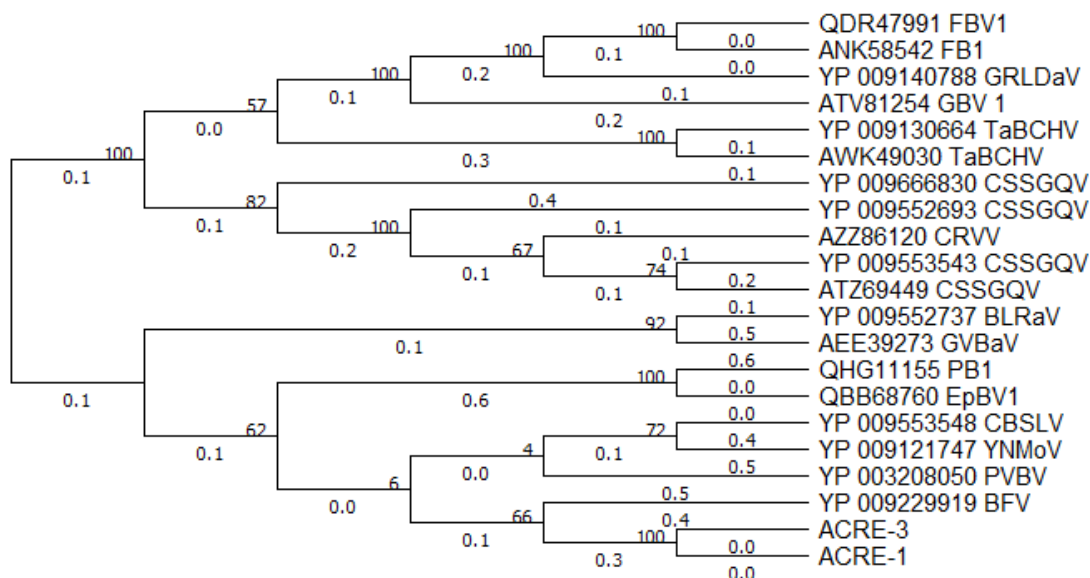


Figura 15 - Análise filogenética de Máxima Verossimilhança (ML) realizada a partir de sequências de aminoácidos completas da poliproteína da ORF3 de badnavírus. Os valores de bootstrap estão representados nos nodes; os números de substituições por nucleotídeos estão anotados em cada ramo. CSSGQV - Cacao swollen shoot Ghana Q virus, CBSLV - Cacao Bacilliform SriLanka Virus, CSSGQV - Cacao swollen shoot Ghana K virus, BLRaV - Birch leaf roll-associated virus, BFV - Blackberry virus, GRLDaV - Grapevine Roditis leaf discoloration-associated virus, TaBCHV - Taro bacilliform CH virus, YNMoV - Yacon necrotic mottle virus, PB1 - Pitaya badnavirus 1, EpBV1 - Epiphyllum badnavirus 1, CRVV - Cacao red vein-banding virus, GVBaV - Gooseberry vein banding associated virus, ACRE-3 – possível sequência de badnavírus isolada do *pool* 3, ACRE-1 – possível sequência de badnavirus isolada do *pool* 1.

POTYVÍRUS

Do *pool* GS3 foi montado o genoma viral completo do potyvírus papaya ringspot virus (PRSV) (**Figura 16**).

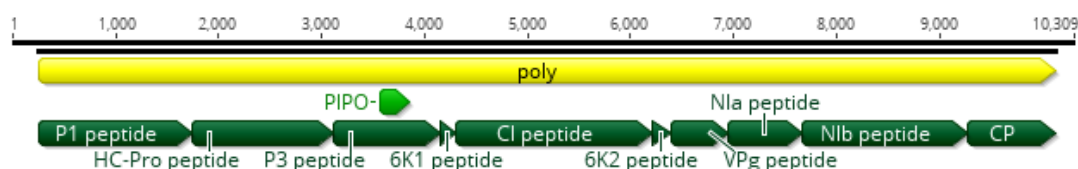


Figura 16 - Representação gráfica do genoma montado do pool GS3. Em amarelo está representado a ORF1 correspondente a poliproteína que é clivada em 10 (em verde) possíveis peptídeos P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, Vpg, NIa-Pro, NIB, CP e PIPO que é sintetizada pelo deslizamento da polimerase.

A sequência completa consiste em 10.308 nt, onde uma única ORF (9.882 nt) codifica uma poliproteína de 3.293 aa com massa calculada em ~373.7 kDa. Pesquisa por BLASTn

utilizando a sequência completa de PRSV revelou uma identidade máxima de 76,24% com uma sequência de PRSV isolada de *Carica papaya* Marado1 da Colômbia (Nº de acesso: KT275938). Análises de alinhamento global par-a-par utilizando a sequência completa da ORF que codifica para a poliproteína (*Pairwise Sequence Alignment*, Emboss-Needle) revelaram uma identidade de 71,3% à nível de nucleotídeo e 77,7% a nível de aminoácidos com a sequência da Colômbia (KT275938). A P1 consiste em 1.500 nt (500 aa) que codifica putativamente para um peptídeo de ~57 kDa. Análise com BLASTp revelou uma identidade máxima de 44% a nível de aminoácido com uma sequência P1 de PRSV-P encontrada no México (Nº de acesso: AAR12181). A HC-Pro consiste em 1.371 nt (457 aa) e codifica para um peptídeo de ~52 kDa. O motivo KITC não foi encontrado na região N-terminal do peptídeo, mas sim R₅₁ITC₅₄. Por outro lado, o motivo PTK foi encontrado na posição 309 a 311 em HC-Pro. Análise com BLASTp com a sequência de aminoácidos revelou uma identidade de 93,4% com a sequência de PRSV HC-Pro isolado de mamão de Bangladesh (Nº de acesso: QBY26598). A P3 possui tamanho de 1035 nt (345 aa, ~40 kDa). As proteínas 6K1 e 6K2 consistem em 156 e 171 nt, respectivamente. CI consiste em 1.905 nt (635 aa) e codifica para uma proteína com ~71,5 kDa de massa molecular. O motivo DEXH foi encontrado na posição de aminoácidos de 174-177. Análise de BLASTp utilizando a sequência de aminoácidos de CI revelou uma alta identidade de 94% com a sequência de PRSV-P (Nº de acesso: QBY26598). A VPg é composta por 567 nt (189 aa, ~21,4 kDa), e a NIa é composta por 714 nt, que codifica um peptídeo de massa molecular calculada em ~26,7 kDa. NIb codifica a RdRp e consiste em 1611 nt (537 aa, ~61,6 kDa). Análise com BLASTp utilizando a sequência de aminoácidos completa de NIb revelou uma identidade de 86,4% com a sequência de PRSV-P (Nº de acesso: QBY26598). A CP consiste em 849 nt (283 aa, ~32 kDa). A mais alta identidade de 93,3% a nível de aminoácido foi obtido pela análise com BLASTp com uma sequência parcial de CP de PRSV (Nº de acesso: AJW76884) isolada da Índia, que infecta *Luffa acutangula* (*Cucurbitaceae*), seguida de 86,4% com uma sequência parcial de CP de PRSV do Japão (Nº de acesso: BAM72041) isolado de *Trichosanthes cucumeroides*. Análises de alinhamento global utilizando a sequência completa de aminoácidos da CP revelaram identidade de 86,4% com a sequência da CP do Japão. A árvore filogenética da CP foi gerada utilizando sequências de aminoácidos completas de CP de diversos potyvírus. A CP (PRSV-CP) formou um grupo isolado entre isolados de PRSV, que infectam mamão e isolados de potyvírus que infectam espécies de *Zucchini*. (**Figura 17**).

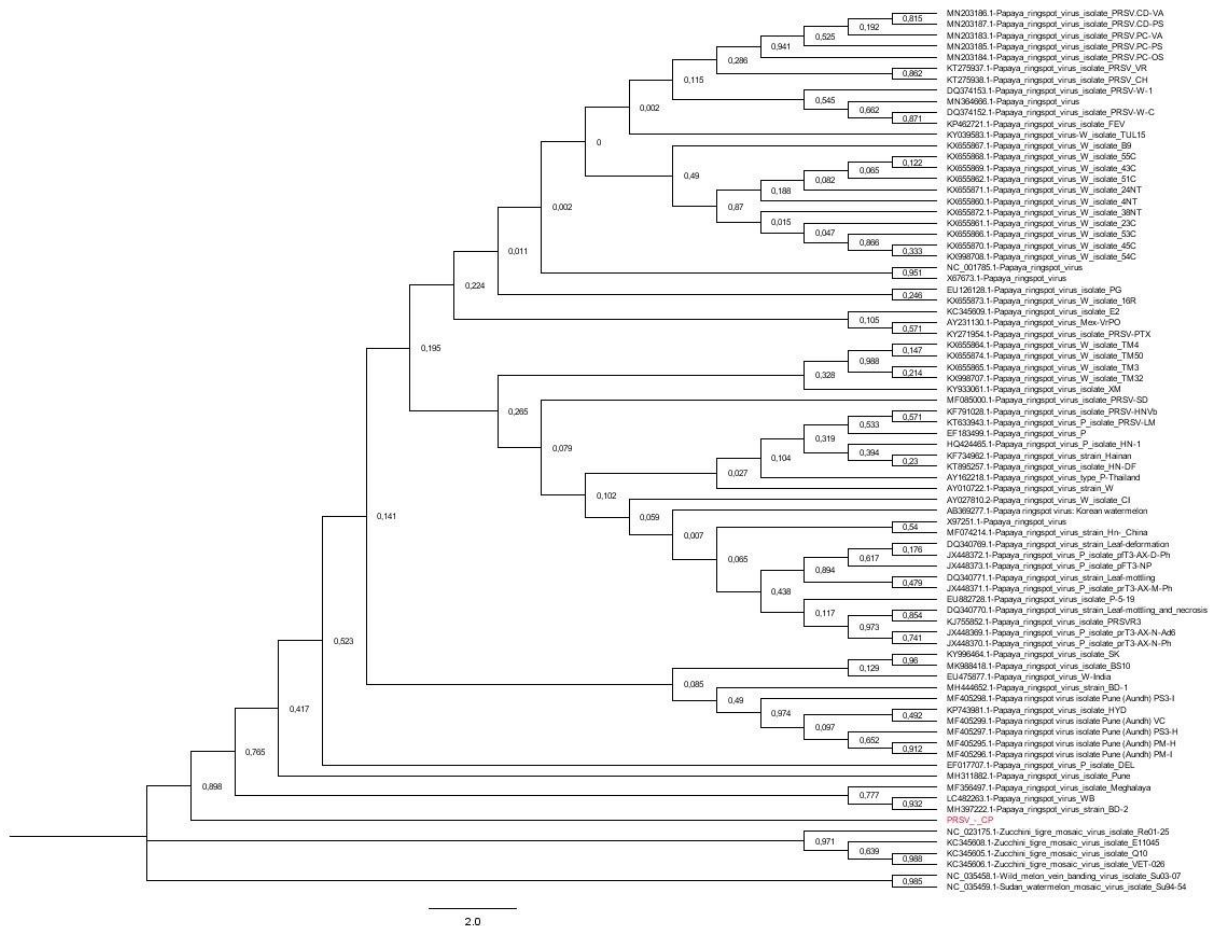


Figura 17 - Análise filogenética bayesiana realizada a partir de seqüências de aminoácidos completas de CP de potyvírus. Os valores de bootstrap estão representados nos nodes. Em vermelho a seqüência de CP que foi montada neste trabalho. A barra representa o número de substituições por nucleotídeos.

O motivo GA6, responsável pelo deslizamento da polimerase, foi encontrado na região da P3 na posição 3.571 a 3.578 (nt). A PIPO consiste em 276 nt, e codifica para um peptídeo de 91 aa. Análise de BLASTp revelou identidade de 67,7% com uma seqüência parcial da PIPO de PRSV.

CILEVÍRUS

Do *pool* GS4 foi montado duas seqüências completas do cilevírus passion fruit green spot virus (PfGSV), que correspondem ao RNA-1 e RNA-2 (**Figura 18**).

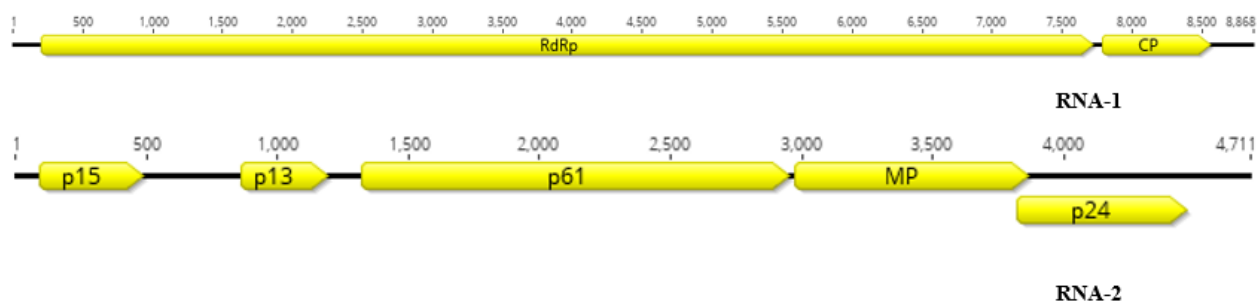


Figura 18 - Representação gráfica do genoma de PfGSV (RNA-1 e RNA-2) montado da amostra GS4.

O RNA-1 é constituído de 8868 nt, excluindo a cauda poli-A, e possui duas ORFs, uma que codifica para a RdRp e a outra para a capa proteica (p29-proteína P2). A RdRp consiste em 7.521 nt (2506 aa, ~286 kDa) e a CP em 774 nt (257 aa, ~28.5 kDa). A RdRp é 94,6% (99% cobertura) idêntica a nível de nucleotídeo com uma sequência do RNA-1 de PfGSV isolado de Brasília-DF (BSB1). Já a CP mostrou porcentagens de identidade de nucleotídeos variando entre 95,4 a 95,6% com sequências de CP de isolados brasileiros de Mato Grosso (Snp1, Snp2), Bahia (BJL1) e Brasília (BSB1). A nível de aminoácido a CP revelou a maior identidade de 97,3% seguido de 96,5% com sequências de CP de PfGSV de isolados de Mato Grosso e de Brasília, respectivamente.

O RNA-2 de PfGSV do Acre consiste em 4.711 nt (excluindo a cauda poli-A) e possui cinco ORFs: p15, p13, p61, MP e p24. A ORF p15 consiste em 396 nt (131 aa) e codifica um peptídeo de massa molecular calculada em cerca de 14,8 kDa. Análise com BLASTp revelou identidades entre 84 a 97,7% com sequências de p15 de PfGSV de Brasília e Mato Grosso, seguindo de identidades de 58 a 60% com sequências de cilevírus de hibiscus (Nº de acesso: ATW76025) e Citrus (Nº de acesso: AGM16553 e YP009508072).

Entre a p15 e a p61 existe uma região de 834 nt, onde se encontra a ORF p13. A p13 (333 nt) codifica para uma proteína de massa molecular calculada de 13,3 kDa. Análises com BLASTp mostraram identidades apenas com sequências de PfGSV e com mais nenhuma proteína disponível no GenBank. A p61 é a maior ORF do RNA-2 de PfGSV e consiste em 1.632 nt e codifica putativamente para uma glicoproteína de 543 aa (~60,1 kDa). Análise com BLASTp revelou identidades entre 95 a 99,8% com sequências de p61 de PfGSV de isolados brasileiros e de 33 a 60% com isolados de cilevírus de hibiscus dos EUA, e Citrus dos EUA, São Paulo e Panamá. Análises com SMART revelaram a presença de duas regiões transmembranares na região C-terminal da proteína (N₄₇₀ALSTCLGFIFKVGCCCFHLVFL₄₉₂ e V₄₉₉ILLCLLPCYCHLGFILCSVANL₅₂₁).

A MP consiste em 888 nt e codifica a proteína do movimento (295 aa, ~32,6 kDa). Análise com SMART revelou a presença do motivo 3A (pfam PF00803) encontrada em proteínas de movimento de bromovírus e cucumovírus. Análise com BLASTp revelou a maior identidade de 99,32% com a proteína de movimento do isolado de PfGSV de Brasília (Nº de acesso: QFU28435). Por fim, a ORF p24 codifica para a proteína mais conservada entre os cilevírus e apresenta o motivo SP24 (pfam PF16504) com quatro regiões transmembranares e encontrado em várias proteínas virais de genomas de fita simples de RNA, incluindo os chroparavírus, negevírus, cilevírus, higrevírus e blunervírus. Análise com BLASTp revelou identidades entre 99,5 a 100% com sequências de p24 de PfGSV de isolados brasileiros, seguidos de 64 a 89% com sequências de isolados de citrus leprosis C.

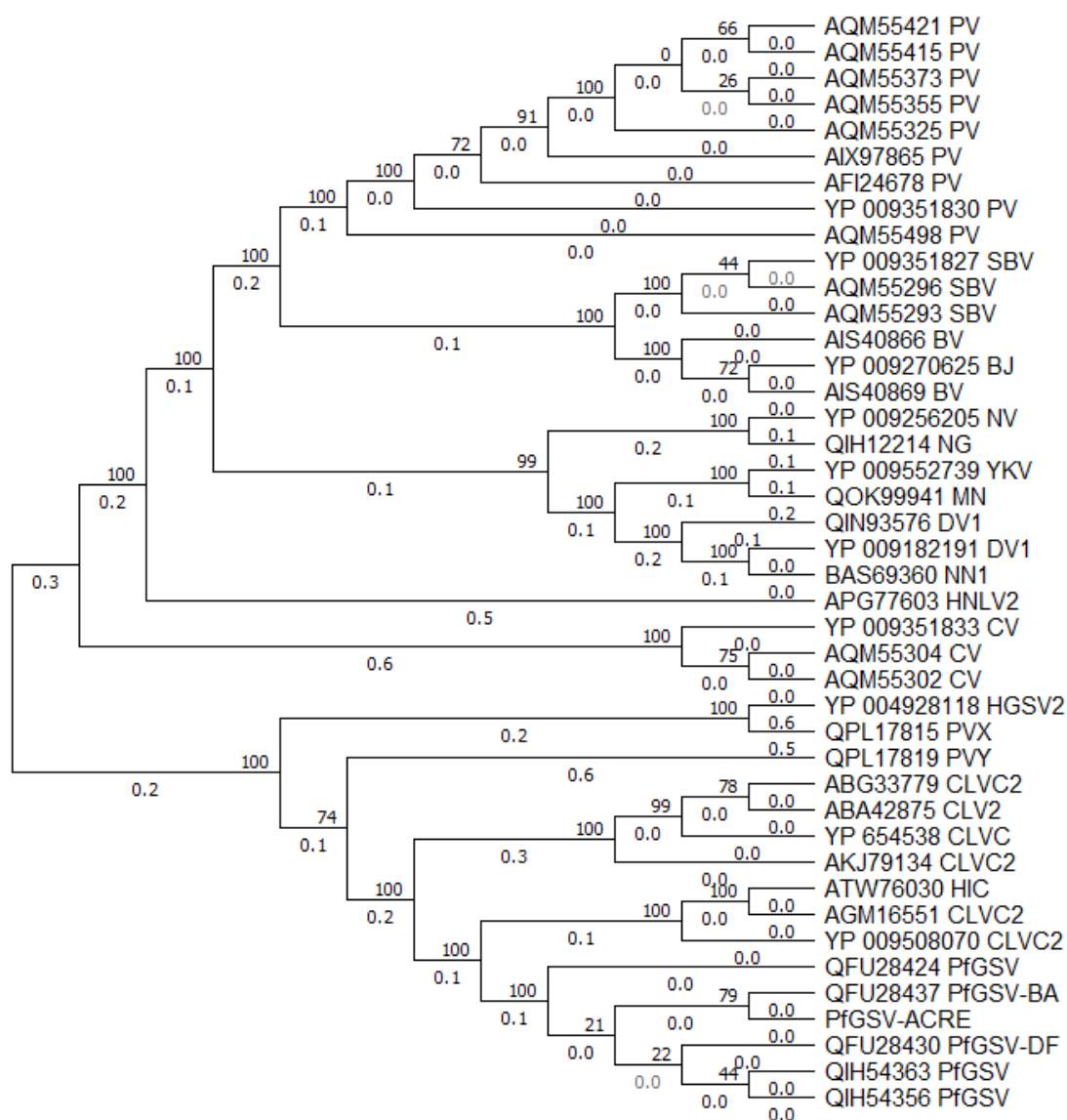


Figura 19 Reconstrução filogenética máxima verossimilhança de PfGSV e outros cilevírus Ying Kou virus – YKV, Citrus leprosis virus C2 – CLV2, Cordoba virus – CV, Piura virus – PV, San Bernardo virus – SBV, Brejeira virus – BV, Negev virus – NV, Daeseongdong virus 1 - DV1, Hibiscus green spot virus 2 - HGSV2, Citrus leprosis

virus C – CLC, Pistachio virus Y – PVY, Pistachio virus X – PVX, Mekrijarvi negevirus – MN, Passion fruit green spot virus – PfGSV, Hibiscus-infecting cilevirus – HIC, San Bernardo virus – SBV, Hubei negev-like virus 2 – HNLV2.

BEGOMOVÍRUS

Dois genomas completos de begomovírus foram montados do *pool* de amostra GS5. O genoma de SiMMV consiste de duas moléculas de fita simples circular de DNA (DNA-A e DNA-B, Figura 20). O DNA-A de SiMMV consiste em 2.676 nt e possui cinco ORFs: AC1 (1.077 nt, 358 aa, ~40,5 kDa), AC4 (258 nt, 85 aa, ~9,3 kDa), AC2 (420 nt, 139 aa, ~15,9 kDa), AC3 (399 nt, 132 aa, ~15,6 kDa) e AV1 (756 nt, 251 aa, ~29,3 kDa). O DNA-B consiste em 2641 nt e possui duas ORFs: BC1 (882 nt, 293 aa, ~33 kDa) e BV1 (771 nt, 256 aa, ~29,5 kDa). Análises com BLASTn utilizando a sequência nucleotídica completa do DNA-A revelaram as mais altas porcentagens de identidade de 94,5% e 92,6% com sequências de DNA-A e DNA-B, respectivamente, de SiMMV isolada de *Sidastrum micranthum* no Mato Grosso do Sul em 2007 (Nº de acessos: HM585433, HM585434). A CP mostrou ser 96,81% idêntica à nível de aminoácido com a CP de SiMMV detectada em 2010 em plantas de *Sida* sp. (Nº de acesso: AQT01431). Análises com SDT revelaram que a sequência SiMMV-ACRE DNA-A mostrou ser 91,9% idêntico com a sequência de SiMMV (Nº de acesso: KY650717) encontrado em *Oxalis* sp. no Distrito Federal enquanto a sequência do DNA-B foi 92,8% idêntica com a sequência de SiMMV (Nº de acesso: HM585434) encontrado em *Sidastrum micranthum* na Bolívia.

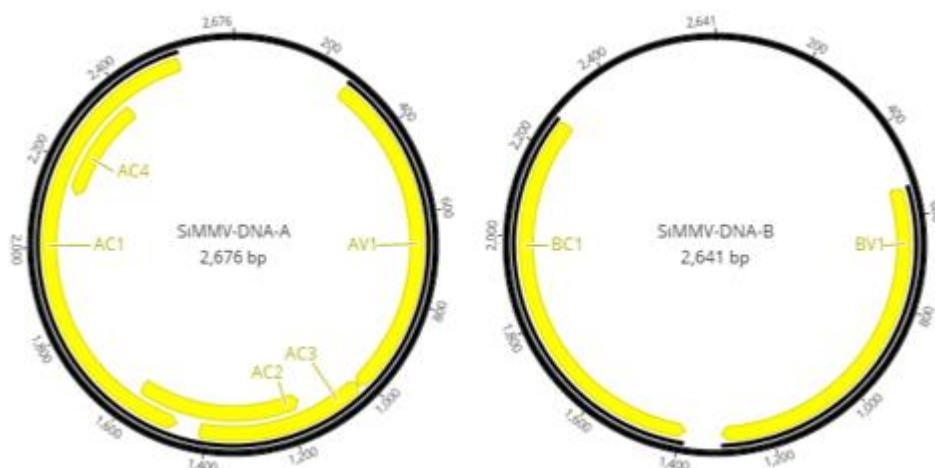


Figura 20 - Representação gráfica do genoma de SiMMV montado da amostra GS5.

Além disso, duas sequências completas (DNA-A e DNA-B, Figura 21) foram montadas, que revelaram ser similares a sequências não publicadas, mas disponíveis no *GenBank* (bean bushy stunt virus - BeBSV; N° dos acessos: MN414067, MN414068).

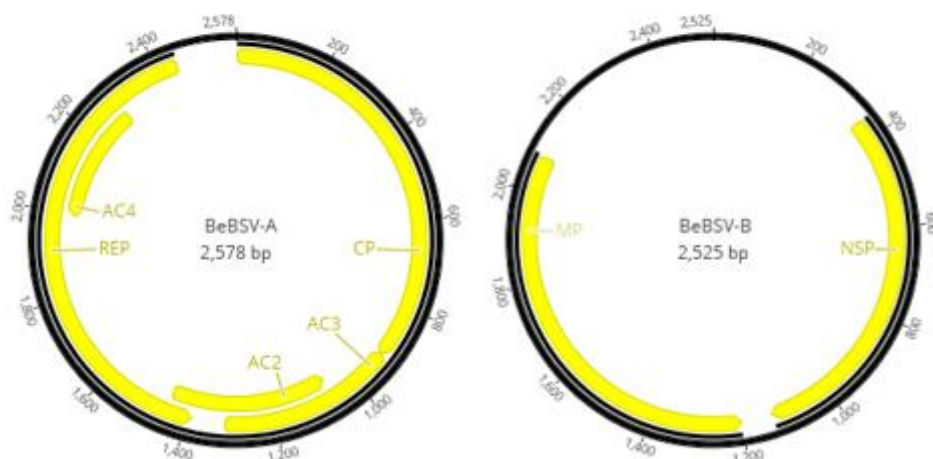


Figura 191 - Representação gráfica do genoma de BeBSV montado da amostra GS5.

Análise com BLASTn usando a sequência de nucleotídeos completa do DNA-A (2.578 nt) revelou a maior porcentagem de identidade de 93,1% com o DNA-A de bean bushy stunt virus (BeBSV), isolado de feijão comum na Argentina, seguido de 83,4% de identidade com o DNA-A de pepper leafroll virus isolado do Peru de *Capsicum baccatum* var. *pendulum* em 2009. O DNA-A de BeBSV possui cinco ORFs: AC1 (1.056 nt, 351 aa, ~40,0 kDa), AC4 (294 nt, 97 aa, ~11,4 kDa), AC2 (390 nt, 129 aa, ~14,8 kDa), AC3 (399 nt, 132 aa, ~15,8 kDa) e AV1 (912 nt, 303 aa, ~35,4 kDa). O DNA-B consiste em 2525 nt e possui duas ORFs: BC1 (879 nt, 292 aa, ~33 kDa) e BV1 (771 nt, 256 aa, ~29,7 kDa). Análise com BLASTp usando a sequência completa de aminoácido da AV1 (CP) revelou a maior porcentagem identidade de 90,5% (94% de cobertura) com a AV1 de BeBSV da Argentina (N° de acesso: QIR81988), seguida de 91,63% (82% de cobertura) com a proteína AV1 de macroptilium yellow vein virus (N° de acesso: AIN36431). A sequência completa do DNA-B de BeBSV revelou ser 92,7% idêntico a nível de nucleotídeo com o DNA-B de BeBSV da Argentina, seguido de 74,0% (61% de cobertura) com o DNA-B de abutilon mosaic virus (N° de acesso: FN434439) isolado da Bahia em 2007. Além disso, a análise de identidade pelo SDT utilizando a sequência montada do DNA-A mostrou uma porcentagem de identidade de 92,2% a nível de nucleotídeos com a sequência de DNA-A de BeBSV da Argentina e de 93,1% com a sequência do DNA-B de

BeBSV. A reconstrução filogenética mostrou que BeBSV-ACRE se agrupa com o isolado de BeBSV da Argentina (MN414067) enquanto o isolado de SiMMV-ACRE forma outro clado.

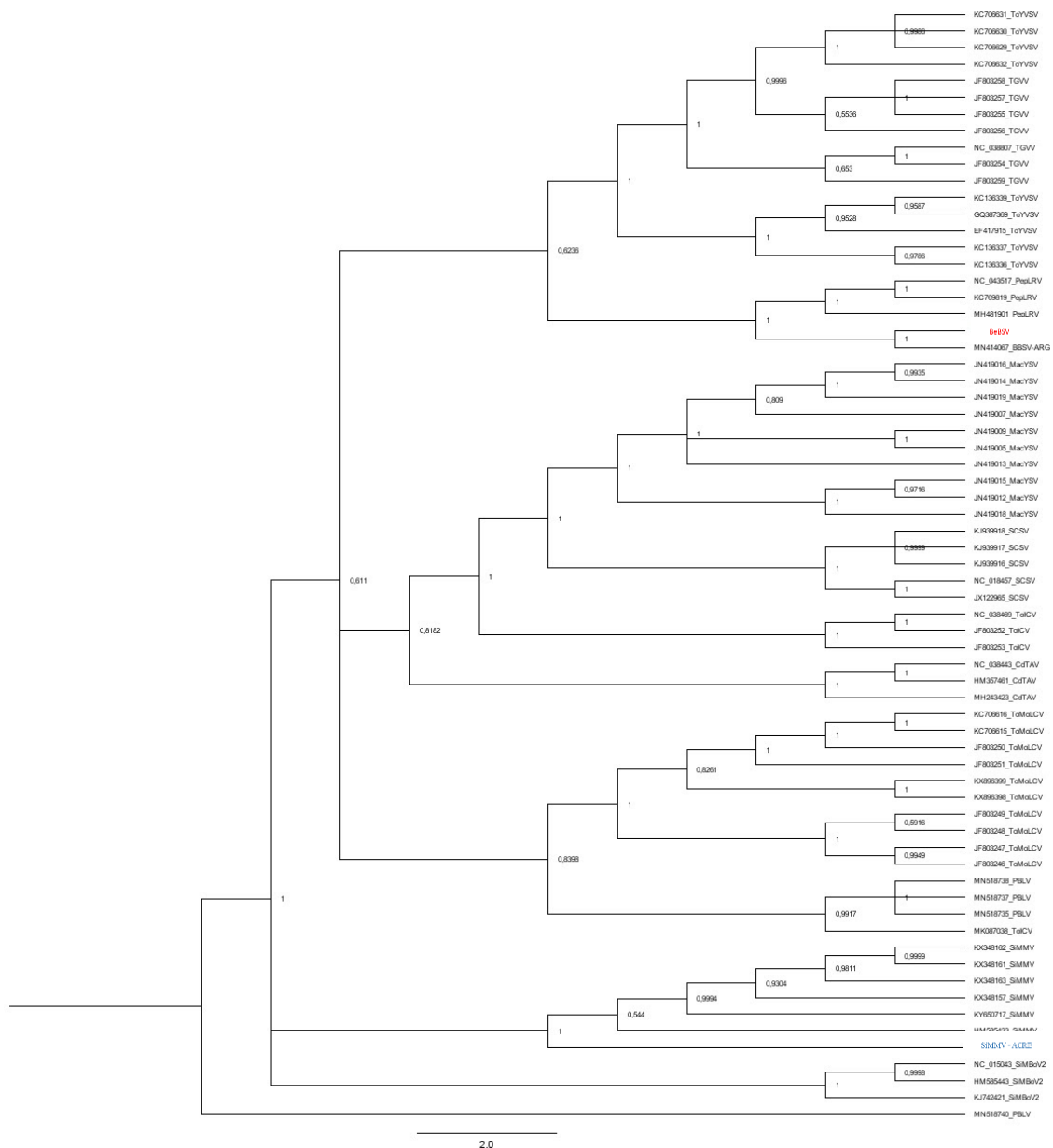


Figura 22 - Árvore filogenética bayesiana com sequências completas de begomovírus (nt) do DNA-A. O modelo de substituição usado foi HKY + I + G (Hasegawa, Kishino e Yano, 1985). Em azul a sequência montada neste trabalho de Sida micrantha mosaic virus (SiMMV-ACRE) e em vermelho bean bushy stunt virus (BeBSV-ACRE). Foram utilizadas 2 milhões de gerações e desvio padrão de 0,0083. As sequências virais utilizadas para reconstrução da árvore que apresentaram hits com as maiores porcentagens de identidades (nt) pelo BLASTn foram selecionadas: Pepper leafroll virus (PepLRV), Tomato golden vein virus (TGVV), Tomato interveinal chlorosis virus (ToICV), Chino del tomate Amazonas virus (CdTAV), Soybean chlorotic spot virus (SCSV), Sida mosaic Bolivia virus 2 (SiMMV2), Pepper blistering leaf virus (PBLV), Tomato interveinal chlorosis virus-2 (ToICV2), Sida micrantha mosaic virus (SiMMV), Tomato yellow vein streak virus (ToYVSV), Tomato mottle leaf curl virus (ToMoLCV), Macroptilium yellow spot virus (MacYSV). A escala representa a taxa de substituição de nucleotídeos.

DISCUSSÃO

O maracujazeiro amarelo, *Passiflora edulis Sims* f. *flavicarpa* Deg., é uma cultura de grande importância no Brasil. No estado do Acre o cultivo da fruta é favorecido devido ao seu clima equatorial úmido, que proporciona maior produtividade sem interrupção da cadeia produtiva ao longo do ano. O cultivo do maracujá no Estado do Acre gera emprego e renda, principalmente para pequenos produtores que representam a maior parcela de produtores. No Brasil, somente no ano de 2019 foram exportados 2.200,12 US\$/t, sendo 63,3% desse valor para o continente Europeu (Comexstat 2019 - acesso em 28/12/2020). Portanto, conhecer e entender os mecanismos de infecção dos principais patógenos virais e possíveis agentes infecciosos que infectam o maracujazeiro é de fundamental importância. A técnica do sequenciamento em massa, o HTS, surge como uma ferramenta poderosa de sequenciamento com alto desempenho e custo reduzido, em estudos de metagenômica (Li *et al.*, 2016; Bag *et al.*, 2015), e diagnose através da montagem de possíveis genomas de vírus de plantas (Barba *et al.* 2014). Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo o estudo da diversidade viral em plantações de maracujá na região do Norte brasileiro. Para tanto, 50 amostras (divididas em cinco *pools*: GS1, GS2, GS3, GS4 e GS5) oriundas de campos de plantações de maracujá do Estado do Acre foram sequenciadas (HTS) e inspecionadas quanto a diversidade de vírus de plantas.

Dos *Pools* GS1 e GS3 (ACRE-1 e ACRE-3 respectivamente) foram montadas sequências com características genômicas semelhantes aos genomas pertencentes ao gênero *Badnavirus* (Lan *et al.*, 2018; Rumbou *et al.*, 2018). Os badnavírus são pararetrovírus membros da família *Caulimoviridae* que infectam uma ampla gama de hospedeiras, especialmente plantas tropicais como banana, pimenta-do-reino, cacau, inhame, cana-de-açúcar (Borah *et al.*, 2013; Bhat *et al.*, 2013). As sequências montadas neste estudo apresentaram três quadros de leitura aberta (ORF1, ORF2 e ORF3), que putativamente codificam proteínas virais. Cinco motivos foram encontrados na poliproteína correspondente a ORF3: a proteína de movimento, o motivo de ligação ao DNA “dedo de zinco”, de protease do tipo *aspartyl*, RT-LTR e de RT-RNaseH. Os motivos do tipo RT-LTR são de transcriptases reversas e ocorrem em uma variedade de elementos móveis tais como retrotransposons, retrovírus, introns do grupo II, hepadnavírus e caulimovírus. A transcriptase reversa retroviral é normalmente sintetizada como parte da poliproteína, que contém os motivos de protease (*aspartyl*), reverse transcriptase, RNaseH e integrase. A caracterização genômica, a presença de um domínio de proteína de movimento viral e os resultados de BLAST indicam a existência de um novo badnavírus no maracujazeiro. Alguns badnavírus podem ser endógenos de modo que não causam infecção

fazendo com que seja difícil sua detecção, principalmente quando não existe um genoma de referência para comparação com o hospedeiro. A forma endógena pode favorecer a transmissão viral por plantas que são propagadas vegetativamente tornando-se um desafio para os melhoristas de plantas na busca de plantios livres de fitovírus. Entretanto, formas endógenas, que se entregam ao genoma do hospedeiro, podem por estresse abiótico se tornar infecciosas dando origem a formas episomais infecciosas (Chiumenti *et al.*, 2016; Rumbou *et al.*, 2018; Wijayasekara *et al.*, 2018). É importante mencionar que uma grande proporção do genoma do maracujá foi relatada como sendo elementos transponíveis, especialmente as LTR-RTs (*Long Terminal Repeats-Retrotransposons*), em sua maioria transcrionalmente ativa (da Costa *et al.*, 2019). Portanto, a comprovação da existência de novo badnavírus infectando maracujá requer amplificação viral por técnicas de RCA e PCR, que amplificam formas episomais, clonagem e construção de clones infecciosos, que não foram realizadas neste estudo (Kenyon *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2015).

Criada no ano de 2018, a família *Kitaviridae* é composta por três gêneros: *Blunervirus*, *Cilevirus* e *Higrevirus*. Neste trabalho foi possível a montagem do genoma completo (RNA-1 e RNA-2) do cilevírus PfGSV. Este vírus foi encontrado em material foliar de maracujazeiro do *pool* GS4. Relatado nos Estados do Maranhão (Moraes *et al.*, 2006), Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Bahia, Distrito Federal (Ramos-González *et al.*, 2020) e agora no Estado do Acre, o PfGSV se mostra amplamente disseminado na região central do Brasil se expandindo para a região Norte e Nordeste do país.

Com intuito de verificar se plantas daninhas/invasoras presentes nos campos de maracujazeiro servem como fonte de inóculo viral (Duffus 1971; Northfield *et al.*, 2008; Elena 2017; Wei *et al.*, 2019), um *pool* de amostras foi coletado e sequenciado (*pool* GS5 e uma amostra de pepino no *pool* GS3). Dos *reads* do *pool* GS3 foi montado o genoma completo de papaya ringspot virus isolado de pepino (*Cucumis sativus*). Os PRSVs subdividem-se em duas cepas, PRSV-P e PRSV-W, ambos são sorologicamente indistinguíveis, entretanto demonstram especificidade de hospedeiro. O PRSV-P infecta o mamão e membros das famílias *Caricaceae*, *Cucurbitaceae* e *Chenopodiaceae*, passo que o PRSV-W não infecta o mamão e é hospedeiro de membros das famílias *Cucurbitaceae* e *Chenopodiaceae* (Alabi *et al.*, 2017; Azad *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2018). As análises de porcentagem de identidade máxima e a reconstrução filogenética com a CP mostram que o PRSV encontrado no estado do Acre é mais de 90% idêntico com a sequência isolada de PRSV de *Lufa sp.* (*Ridge gourd*) (Nº de acesso: KP161499) a nível de nucleotídeo e 86,4% a nível de aminoácido com a sequência isolada de zucchini tigre mosaic virus (Nº de acesso: KC345605). De acordo com o critério molecular para demarcação

a nível de espécie dos potyvírus, a CP ou a ORF que codifica para a poliproteína devem apresentar pelo menos 82% de identidade a nível de aminoácido e 76% a nível de nucleotídeo (Gibbs *et al.*, 2010, Adams *et al.*, 2005). Apesar das percentagens de identidades da CP do PRSV montado se enquadrar nos critérios de demarcação de espécies para os potyvírus (>82% aa, >76% nt), as análises de alinhamento global utilizando sequências de aminoácidos e nucleotídeos da ORF que codifica para a poliproteína revelaram a maior identidade de 77,7% e 71,3%, respectivamente, com uma sequência de PRSV isolada de *Carica papaya* da Colômbia. O fato do PRSV-ACRE ter sido isolado de uma cucurbitácea, formar um clado isolado, e apresentar porcentagem de identidades a nível de nucleotídeos e de aminoácidos da ORF que codifica para a poliproteína, que não seguem os critérios moleculares de demarcação de espécie dos potyvírus, induz à suposição da existência de uma nova espécie de potyvírus ou de uma espécie recombinante de PRSV.

O genoma completo (DNA-A e DNA-B) de SiMMV isolado de *Sida* sp. e BeBSV isolado de *Pueraria* sp. foram montados dos *reads* da amostra GS5 e anotados. Este é o primeiro relato de BeBSV no Brasil e o segundo relato desse vírus no mundo. A puerária é uma planta pertencente à família *Fabaceae* e é utilizada na alimentação animal na região do Acre (Pimentel *et al.*, 1998), além de possuir efeito medicinal. Apesar de BeBSV não ser encontrado no maracujá, este pode tornar-se uma séria ameaça a outras fabáceas, como o feijão, e estudos futuros de detecção de BeBSV no feijão devem ser realizados na região do Acre. Já o SiMMV é um vírus que infecta várias espécies de daninhas, tais como *Sida* sp., e espécies de cultivo, como o feijão, *Phaseolus vulgaris* (Fernandes-Acioli, Pereira-Carvalho, 2011). No entanto, não há indícios que o maracujá sirva como hospedeiro para a replicação viral. Portanto, apesar de begomovirose terem sido relatadas em maracujá nos Estados do Alagoas (Silva *et al.*, 2006), da Bahia (Ferreira *et al.*, 2010) e Mato Grosso do Sul (Spadotti *et al.*, 2019), no Acre nenhuma das amostras de maracujá coletadas foram detectadas com begomovírus por HTS, e, portanto, ou este vírus encontram-se ainda restritos às regiões Centro-Nordeste do Brasil, ou um número maior de coleta seria necessário para sua detecção. É importante também mencionar que o vírus do endurecimento do fruto do maracujazeiro (CABMV) não foi encontrado nas amostras do Acre, apesar do CABMV estar presente em Estados da região Norte, como Rondônia, Pará e Amazonas (Kitajima 2020), e, portanto, estudos futuros serão necessários para confirmação da presença do CABMV no Acre.

Como conclusão, este trabalho visou a caracterização virômica no maracujazeiro através de sequenciamento em larga escala e contribui para a caracterização dos vírus que causam doenças no maracujazeiro oriundo do Estado do Acre.

REFERÊNCIAS

- Adams MJ, Antoniw JF, Fauquet CM (2005) Molecular criteria for genus and species discrimination within the family Potyviridae. *Archives of Virology*, 150:459–479.
- Alabi OJ, Rwahnihi MAI, Jifon JL, Sétamou M, Brown JK, Gregg L, PJ-W (2017) A mixed infection of Lettuce chlorosis virus, Papaya ringspot virus, and Tomato yellow leaf curl virus-IL detected in a Texas papaya orchard affected by a virus- like disease outbreak. *Plant Disease* 4:1094–1102.
- Anjos JRN, Junqueira NTV, Chancar MJD (2001) Incidência e distribuição do vírus do endurecimento dos frutos do maracujazeiro no cerrado no Brasil central. Documentos. Planaltina – DF: Embrapa cerrado, n. 30, 2001.
- Araújo neto SE, Ferreira RLF, Pontes FST, Negreiros JRS (2008) Rentabilidade econômica do maracujazeiro amarelo plantado em covas e em plantio direto sob manejo orgânico. *Revista Brasileira de Fruticultura* 30:940-945.
- Azad MAK, Amin L, Sidik NM (2014) Gene technology for papaya ringspot virus disease management. *The Scientific World Journal*. 17:1-11.
- Bag S, Al Rwahnihi M, Li A, Gonzalez A, Rowhani A, Uyemoto J K, Sudarshana MR (2015) Detection of a new luteovirus in imported nectarine trees: A case study to propose adoption of metagenomics in post-entry quarantine. *Phytopathology*, 105:840–846.
- Barba M, Czosnek H, Hadidi A (2014) Historical Perspective, Development and Applications of Next-Generation Sequencing in Plant Virology. *Viruses* 6:106-136.
- Bhat AI, Hohn T, Selvarajan R (2016). Badnaviruses: The current global scenario. *Viruses*, 8:1-29.
- Borah BK, Sharma S, Kant R, Johnson AMA, Saigopal DVR, Dasgupta I (2013) Bacilliform DNA-containing plant viruses in the tropics: Commonalities within a genetically diverse group. *Molecular Plant Pathology*, 14:759–771.
- Chiumenti M, Morelli M, Stradis A de, Elbeaino T, Stabolone L, Minafra A (2016) Unusual genomic features of a badnavirus infecting mulberry. *Journal of General Virology*. 97: 3073-3087.
- Crestani EA, Kitajima EW, Lin MT, Marinho MLA 1986 *Passion fruit yellow mosaic vírus*, a new tymovirus found in Brazil. *Phytopathology* 76:951-955.
- Elena SF (2017) Local adaptation of plant viruses: lessons from experimental evolution. *Molecular Ecology*, 26:1711–1719.
- Faleiro, FG, Junqueira, NTV 2016 Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde. 1ª ed. Brasília – DF: EMBRAPA, 2016. p. 24-31.
- Fernandes CdeF, Júnior JRV, Marcolan AL, Neto CR, Diocleciano JM, Ferro GO, Júnior HA, Reis ND, Silva DSG (2010) Ocorrência do vírus do mosaico severo Cowpea severe mosaic

virus - CPSMV) no feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. em Rondônia. Embrapa Rondônia, p. 1-4.

Fernandes-Acioli NAN, Pereira-Carvalho RC (2011) First Report of *Sida micrantha* mosaic virus in *Phaseolus vulgaris* in Brazil', American Phytopathological Society, 95:1196.

Ferreira SS, Barros DR, Almeida MR, Zerbin FM (2010) Characterization of *Passionfruit severe leaf distortion virus*, a novel begomovirus infecting passionfruit in Brazil, reveals a close relationship with tomato-infecting begomoviruses. *Plant Pathology* 59:221–230.

Fontenele RS, Abreu RA, Lamas NS, Alves-freitas DMT, Vidal AH, Poppiel RR, Melo FL, Lacorte C, Martin DP, Campos MA, Varsani A, Ribeiro SG (2018) Passion fruit chlorotic mottle virus: Molecular characterization of a new divergent geminivirus in Brazil. *Viruses*, v. 10, n. 4.

Gibbs AOK, Ohshima K (2010) Potyviruses and the Digital Revolution. *Annual Review of Phytopathology*, 48:205–223.

Gioria R, Espinha LM, Rezende JAM, Gaspar JO, Kitajima EW (2002) Limited movement of Cucumber mosaic virus (CMV) in yellow passion flower in Brazil. *Plant Pathology*, v. 51, n. 2, p. 127–133.

Gonçalves RC, Boari AdeJ, Assis GML, Macedo PEdeF (2016) *Arachis* spp. com diferentes níveis de sintomas de virose no Acre, Brasil. Belém, PA: Embrapa Amazônia Ocidental, p 1.
Hasegawa M, Kishino H, Yano Taki 1985 Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution*, 22:160–174.

Kenyon L, Lebas BSM, Seal SE (2008) Yams (*Dioscorea* spp.) from the South Pacific Islands contain many novel badnaviruses: Implications for international movement of yam germplasm. *Archives of Virology*, 153:877–889.

Kitajima EW (2020) An annotated list of plant viruses and viroids described in Brazil (1926-2018). *Biota Neotropica*, v. 20, n. 2, p. 1-96.

Kitajima EW, Rezende JAM, Rodrigues JCV (2003) Passion fruit green spot virus vectored by *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) on passion fruit in Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, v. 30, n. 1–3, p. 225–231.

Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018) MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35:1547–1549.

Lan P, Meng Y, Shen P, Li R, Ma Y, Tan S, Chen H, Cao M, Li F (2018) Complete genome sequence of yam chlorotic necrosis virus, a novel macluravirus infecting yam. *Archives of Virology*, 163:2275–2278.

Langmead B, Salzberg SL (2012) Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*, 9:357–359.

Li Y, Wang H, Nie K, Zhang C, Zhang Y, Wang J, Niu P, Ma X (2016) VIP: An integrated pipeline for metagenomics of virus identification and discovery. *Scientific Reports*, 6:1–10.

Lima A, Borges AL, Francelli M, Cardoso CEM (2011) Maracujá sistemas de produção convencional. In: Pire MM, São José AR, Conceição AO. Maracujá: avanços tecnológicos e sustentabilidade. Ilhéus: Editus, 2011. p. 203-237.

Maia LM, Lima JÁ de A, Nascimento AKQ do, Filho F de ACR (2017) Biological differences and unilateral cross-protection between biotypes of Cowpea aphid-borne mosaic virus. *Revista Ciencia Agronomica*, v. 48, n. 2, p. 310–317.

Menzel P, NG KL, Krogh A (2016) Fast and sensitive taxonomic classification for metagenomics with Kaiju. *Nature Communications*, v. 7, p. 1–9.

Moraes FHR, Belo WFR, Moraes GJ, Kitajima EW (2006) Ocorrência do Vírus da Pinta Verde em Maracujá no Estado do Maranhão, Brasil. *Fitopatologia brasileira*, p. 31.

Nascimento AVS, Souza ARR, Alfenas PF, Andrade GP, Carvalho MG, Pio-ribeiro G, Zerbini FM (2004) Análise filogenética de potyvírus causando endurecimento dos frutos do maracujazeiro no Nordeste do Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, v. 29, n. 4, p. 378–383.

Pimentel FA, Sousa MMM de, Sá CP de, Cabral WG, Silva MR da, Pinheiro PNS, Bastos RM. Recomendações básicas para o cultivo de pimenta longa (*Piper hispidinervum*) no estado do Acre. Rio Branco:Embrapa-CPAF/AC, 1998. 14p.

Ramos-gonzález PL, Santos GF dos, Chabi-jesus C, Harakava R, Kitajima EW, Freitas-astúa, J (2020) Passion Fruit Green Spot Virus Genome Harbors a New Orphan ORF and Highlights the Flexibility of the 5'-End of the RNA2 Segment Across Cileviruses. *Frontiers in Microbiology*, 11:1–16.

Rumbou A, Candresse T, Marais A, Theil S, Langer J, Jalkanen R, Büttner C (2018) A novel badnavirus discovered from *Betula* sp. affected by birch leaf-roll disease. *PLoS ONE*, 13:1–14.

Silva JMda, Jobim LJ, Ramos-Sobrinho R, Lima JS, Assunção IP, Cruz MM, Lima GSA (2015) Incidence and species diversity of badnaviruses infecting sugarcane from a germplasm collection in Brazil. *Tropical Plant Pathology*, 40:212–217.

Silva SC da, Assunção IP, Carnaúba JP, Lima JS, Amorim, EPR da, Lima GA de (2006) Detecção de begomovirus em maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims) no estado de Alagoas. *Revista brasileira de fruticultura*, 28:512–513.

Siviero A, Mattar EPL, Camelo-garcia V, Ramos-gonzalez PL, Chabi-jesus C, Sande OFL, Zerbini FM, Kitajima EW (2019) Levantamento de vírus de plantas no Estado do Acre. *Anais. 51 Congresso Brasileiro de Fitopatologia*, p. 776.

Slatko BE, Gardner AF, Ausubel FM (2018) Overview of Next-Generation Sequencing Technologies. *Current Protocols in Molecular Biology*, 122:1–11.

Uchôa TL, Araújo neto SE, Selhorst PO, Rodrigues MJS, Galvão RO (2018) Yellow Passion fruit performance in organic crop under mulch. *Revista Brasileira de Fruticultura* 40:212.

Wei S, He X, Wang D, Xiang J, Yang Y, Yuan S, Shang J, Yang H (2019) Genetic structure and variability of tobacco vein banding mosaic virus populations. *Archives of Virology*, 164:2459–2467.

Wu Z, Mo C, Zhang S, Li H (2018) Characterization of Papaya ringspot virus isolates infecting transgenic papaya “Huanong No.1” in South China. *Scientific Reports* 8:1–11.

CONCLUSÕES GERAIS

1- Uma grande porcentagem dos *reads* gerados foram classificados pelo Kaiju pertencentes à família *Caulimoviridae*. Foi possível a montagem de dois supostos novos genomas virais similares a badnavírus: Badnavírus-ACRE-1 (GS1), que consiste em 7,287 nt e badnavírus-ACRE3 (GS3), que possui 7.294 nt. Análises com BLASTp revelaram identidade máxima de 53% com uma sequência de blackberry virus F (YP_009229919), e análises filogenéticas de Máxima Verossimilhança revelaram a formação de um clado com o isolado de BVF (KJ413252.1) com *bootstrap* de 0,98. No entanto, experimentos moleculares (RCA e PCR) devem ser realizados para confirmar a existência deste novo vírus.

2- O genoma completo de PRSV foi montado de amostras do *pool* GS3. A sequência genômica possui 10.308 nt. Análises de alinhamento global utilizando sequências de aminoácidos e nucleotídeos da ORF que codifica para a poliproteína revelaram a maior identidade de 77,7% e 71,3%, respectivamente, com uma sequência de PRSV isolada de *Carica papaya* da Colômbia. O PRSV é classificado em PRSV-P e PRSV-W, sendo que o PRSV-P infecta o mamão e membros da família *Cucurbitaceae*, enquanto o isolado PRSV-W não infecta o mamão, mas outras cucurbitáceas. O fato do PRSV-ACRE ter sido isolado de uma cucurbitácea, formar um clado isolado, e apresentar porcentagem de identidades a nível de nucleotídeos e de aminoácidos da ORF que codifica para a poliproteína, que não seguem os critérios moleculares de demarcação de espécie dos potyvírus, induz à suposição da existência de uma nova espécie de potyvírus ou de uma espécie recombinante de PRSV.

3- O genoma montado do cilevírus (PfGSV), encontrado no maracujazeiro, apresentou a maior identidade de 94,6% com uma sequência de isolado de PfGSV encontrado no Distrito Federal. Este vírus encontra-se amplamente distribuído em todas as regiões do Brasil, com exceção do Sul. Portanto, atualmente, na região Norte do Brasil, o PfGSV é encontrado nos estados de Rondônia e Acre.

4- Plantas daninhas/invasoras presentes nos campos de maracujá no estado do Acre foram sujeitas a sequenciamento de larga escala. O genoma completo de SiMMV foi montado e provavelmente estava presente nas amostras de *Sida* sp. O genoma completo de um novo begomovírus foi obtido, provavelmente, da amostra de *Pueraria* sp.. Análises por BLASTn revelaram a mais alta identidade e de 92,2% de identidade com sequências bean bushy stunt virus (Nº de acesso: MN414067) e de 93,1% com uma sequência de DNA-B de BeBSV (Nº de acesso: MN414068) encontrados no hospedeiro de feijão comum na Argentina. Este seria o primeiro relato de BeBSV infectando plantas no Brasil. Nenhum begomovírus já relatado no maracujá no Brasil foi encontrado. Portanto, as plantas daninhas/invasoras investigadas nos

campos de maracujá no Acre não parecem servir como fonte de inóculo para o maracujazeiro. Nenhum begomovírus foi encontrado nas amostras de maracujá do Acre.

5- Apesar do vírus cowpea aphid-borne mosaic virus (CABMV) ser amplamente encontrado no Brasil (Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul), este não foi encontrado infectando o maracujazeiro nas amostras coletadas do Acre. A ausência deste potyvírus nas amostras coletadas indicam ou a ausência do vírus na região, ou a necessidade de um maior número de amostragem para detecção viral.

ANEXOS

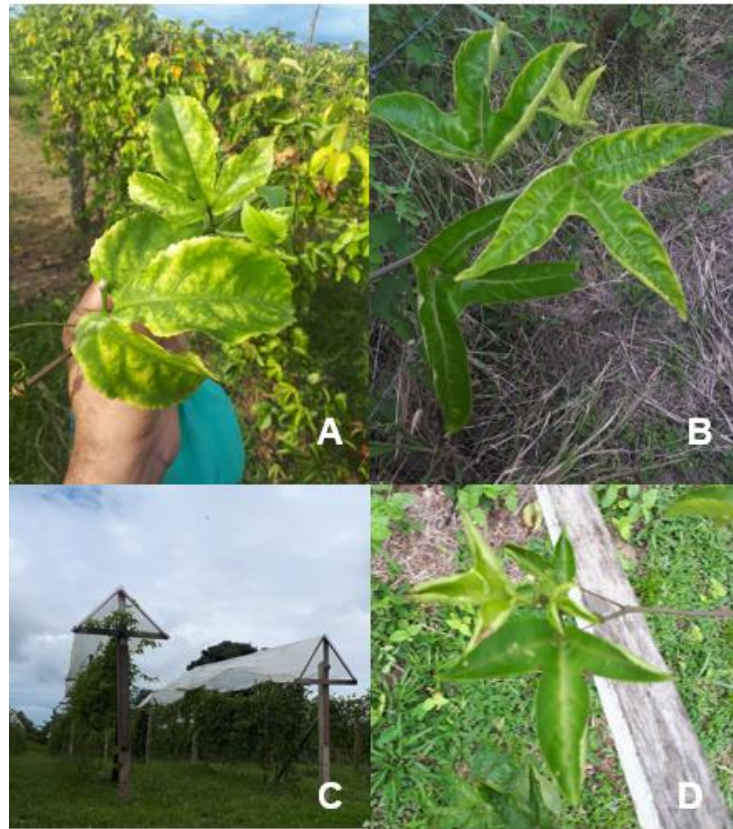
Anexo - 1. Pontos de coletas de plantas de passiflora no Estado do Acre.

Nº	Hospedeira	Local/Cidade/Estado	Data	Localidade	Pool
GS1	<i>Passiflora edulis</i>	2ª Distrito/Sena Madureira-Acre	30/12/2019	9°05'40.7"S 68°65'14.4"W	GS1
GS2	<i>Passiflora edulis</i>	2ª Distrito/Sena Madureira-Acre	30/12/2019	9°05'40.7"S 68°65'14.4"W	GS1
GS3	<i>Passiflora edulis</i>	2ª Distrito/Sena Madureira-Acre	30/12/2019	9°05'40.7"S 68°65'14.4"W	GS1
GS4	<i>Passiflora edulis</i>	2ª Distrito/Sena Madureira-Acre	30/12/2019	9°05'40.7"S 68°65'14.4"W	GS1
GS5	<i>Passiflora edulis</i>	2ª Distrito/Sena Madureira-Acre	30/12/2019	9°05'40.7"S 68°65'14.4"W	GS1
GS6	<i>Passiflora edulis</i>	2ª Distrito/Sena Madureira-Acre	30/12/2019	9°05'40.7"S 68°65'14.4"W	GS1
GS7	<i>Passiflora edulis</i>	2ª Distrito/Sena Madureira-Acre	30/12/2019	9°05'40.7"S 68°65'14.4"W	GS1
GS9	<i>Passiflora edulis</i>	2ª Distrito/Sena Madureira-Acre	30/12/2019	9°05'40.7"S 68°65'14.4"W	GS1
GS10	<i>Passiflora edulis</i>	Centro/Sena Madureira- Acre	03/01/2020	9°06'27.2"S 68°66'06.5"W	GS1
GS11	<i>Passiflora edulis</i>	Centro/Sena Madureira- Acre	03/01/2020	9°06'27.2"S 68°66'06.5"W	GS1
GS12	<i>Passiflora edulis</i>	Centro/Sena Madureira- Acre	03/01/2020	9°06'27.2"S 68°66'06.5"W	GS1
GS13	<i>Passiflora edulis</i>	Centro/Sena Madureira- Acre	03/01/2020	9°06'27.2"S 68°66'06.5"W	GS2

GS15	<i>Passiflora edulis</i>	Bom Sucesso/ Sena Madureria - Acre	27/12/2020	9°06'27.2"S 68°66'06.5"W	GS2
GS16	<i>Passiflora edulis</i>	Bom Sucesso/ Sena Madureria - Acre	27/12/2020	9°06'27.2"S 68°66'06.5"W	GS2
GS17	<i>Passiflora edulis</i>	Bom Sucesso/ Sena Madureria - Acre	27/12/2020	9°06'27.2"S 68°66'06.5"W	GS2
GS20	<i>Pueraria phaseoloides</i>	Bom Sucesso/ Sena Madureria - Acre	27/12/2020	9°06'27.2"S 68°66'06.5"W	GS5
GS21	<i>Passiflora edulis</i>	Bom Sucesso/ Sena Madureria - Acre	27/12/2020	9°06'27.2"S 68°66'06.5"W	GS2
GS22	<i>Passiflora edulis</i>	2° Distrito/Sena Madureira - Acre	30/12/2019	9°05'88.9"S 68°65'24.1"W	GS2
GS23	<i>Passiflora edulis</i>	2° Distrito/Sena Madureira - Acre	30/12/2019	9°05'88.9"S 68°65'24.1"W	GS2
GS24	<i>Malpighia emarginata</i>	Sena Madureira-Acre	29/12/2019	9°01'59.2"S 68°40'26.0"W	GS5
GS26	<i>Passiflora edulis</i>	Sena Madureira-Acre	29/12/2019	9°01'59.2"S 68°40'26.0"W	GS2
GS27	<i>Citrus limon</i>	Sena Madureira-Acre	29/12/2019	9°01'59.2"S 68°40'26.0"W	GS5
GS28	<i>Passiflora cincinnata</i>	Sena Madureira-Acre	29/12/2019	9°01'59.2"S 68°40'26.0"W	GS2
GS29	<i>Sida acuta</i> cv <i>carpinifolia</i>	Sena Madureira-Acre	29/12/2019	9°01'43.9"S 68°40'14.4"W	GS5
GS30	<i>Sida acuta</i> cv <i>carpinifolia</i>	Sena Madureira-Acre	29/12/2019	9°01'43.9"S 68°40'14.4"W	GS5

GS31	<i>Passiflora edulis</i>	Sítio seridó/Rio Branco-Acre	10/01/2020	9°53'15.0"S 67°49'08.9"W	GS2
GS32	<i>Passiflora edulis</i>	Sítio seridó/Rio Branco-Acre	10/01/2020	9°53'15.0"S 67°49'08.9"W	GS2
GS33	<i>Cucumis sativus</i>	Sítio seridó/Rio Branco-Acre	10/01/2020	9°53'15.0"S 67°49'08.9"W	GS3
GS34	<i>Passiflora edulis</i>	Sítio seridó/Rio Branco-Acre	10/01/2020	9°53'15.0"S 67°49'08.9"W	GS3
GS36	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS3
GS37	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS3
GS38	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS3
GS39	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS3
GS40	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS3
GS41	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS3
GS42	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS3
GS43	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS3

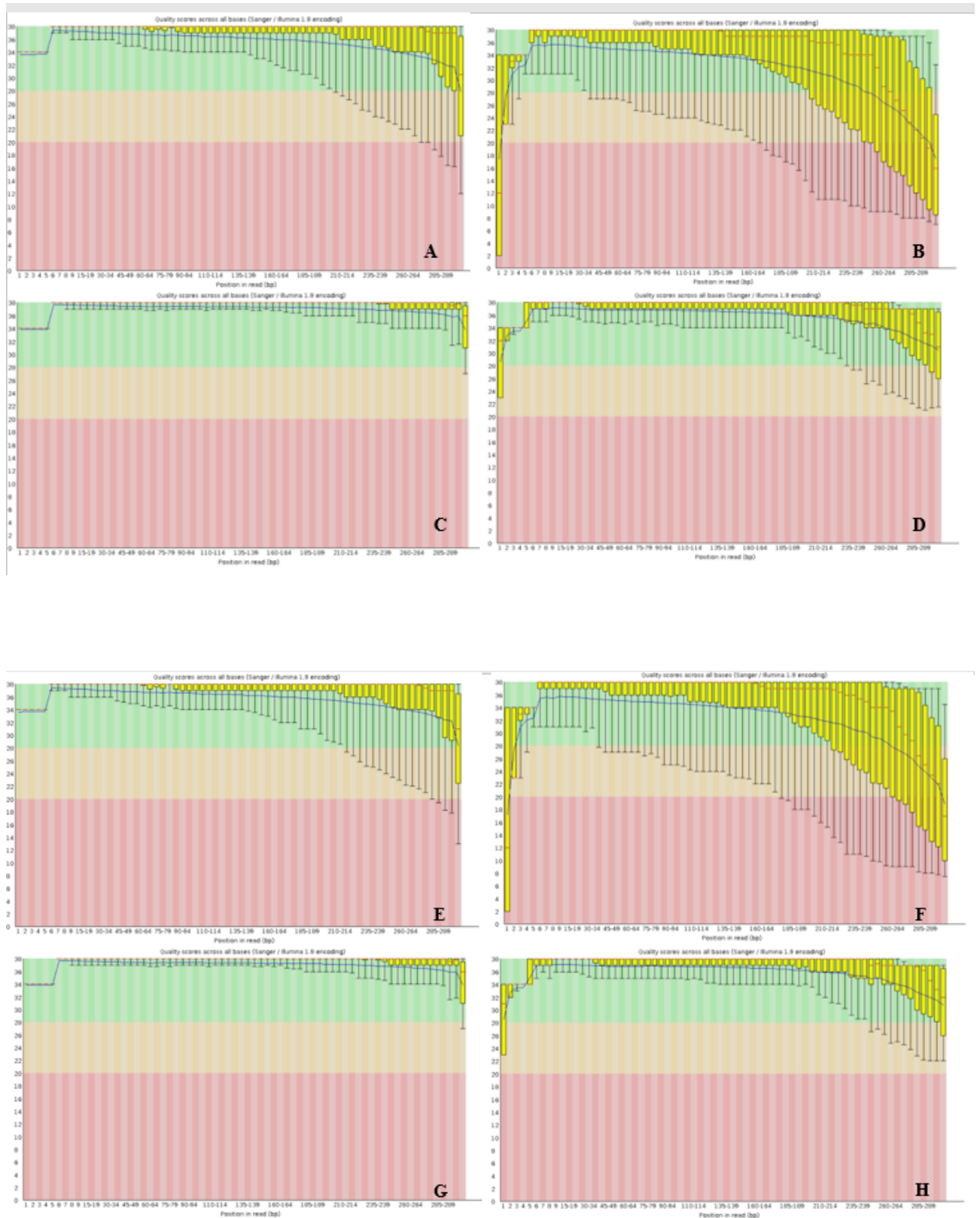
GS44	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS3
GS45	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS4
GS46	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS4
GS47	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS4
GS48	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS4
GS49	<i>Passiflora edulis</i>	Polo agroflorestal/Sena Madureira – Acre	28/12/2019	9°05'16.6"S 68°41'18.3"W	GS4
GS50	<i>Passiflora edulis</i>	Manuel. Urbano - Acre	07/01/2020	8°84'29.9"S 69°26'15.6"W	GS4

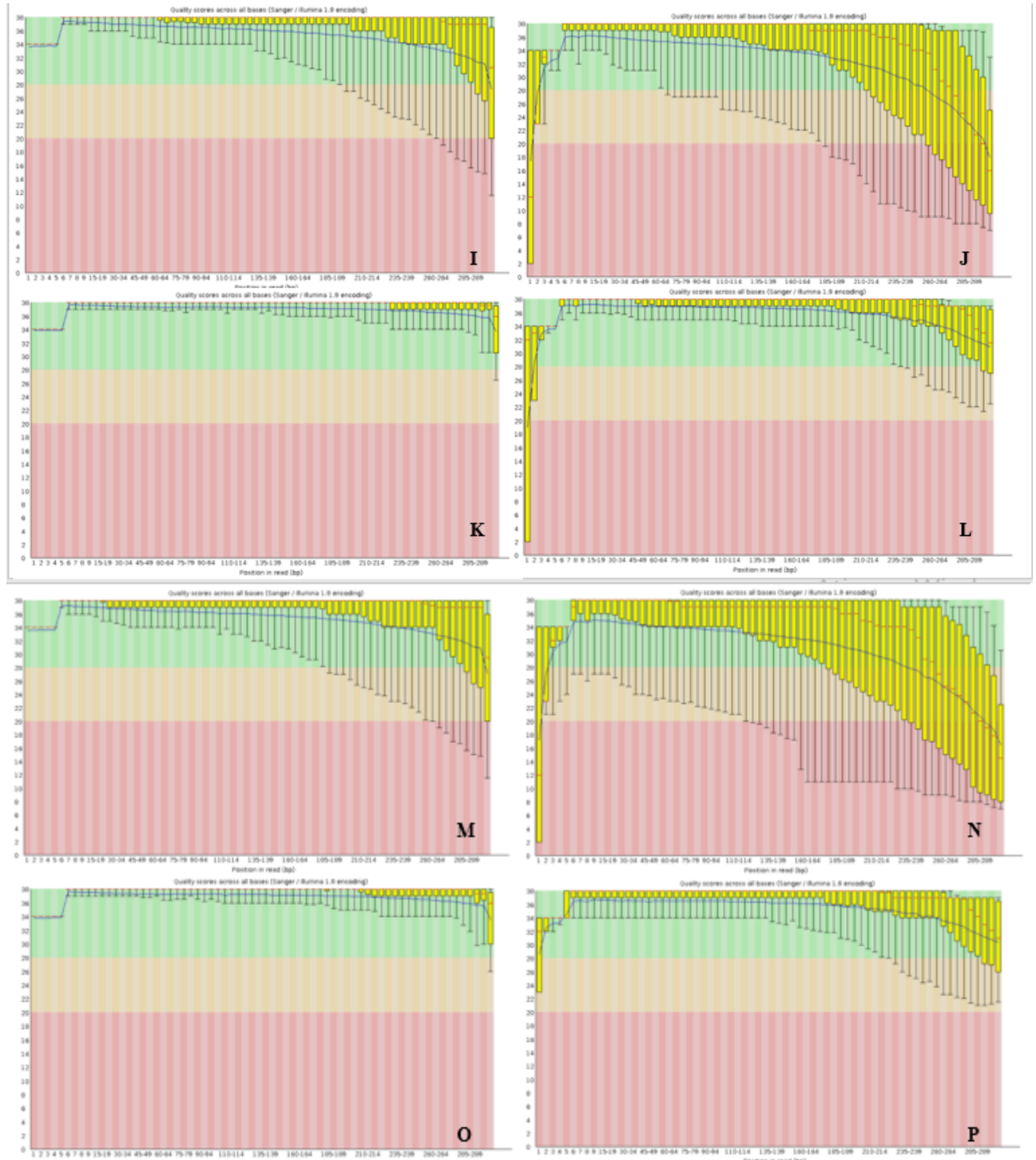


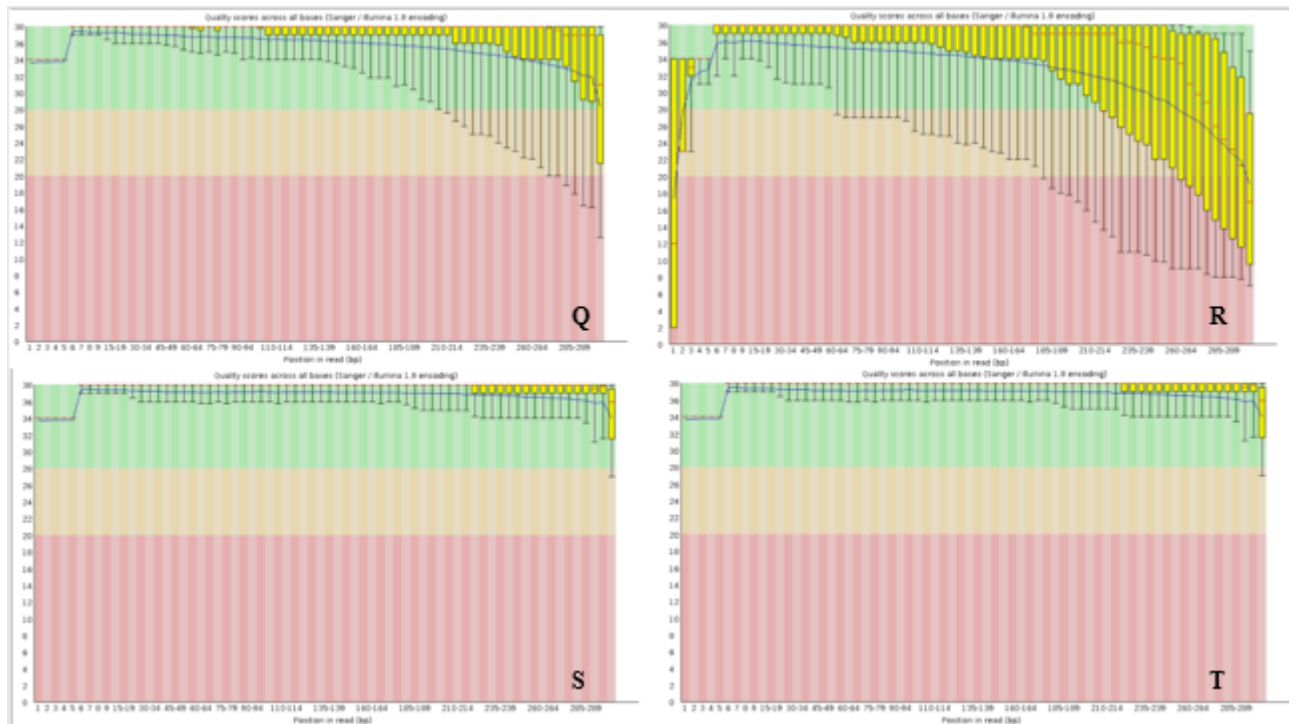
Anexo - 2 Amostras coletadas no estado do Acre. Folhas de maracujá com possíveis sintomas virais (A, B, D) em campo de maracujazeiro. Folhas de *Passiflora* sp. com possíveis sintomas virais.



Anexo - 3 Coleta de plantas daninhas/invasoras no estado do Acre. Plantas daninhas presentes no campo de maracujá (A), *Sida* sp. (B), *Pueraria* sp (C).







Anexo - 4. Representação gráfica da qualidade dos *reads* gerados pelo sequenciamento Illumina dos *pools* GS1, GS2, GS3, GS4 e GS5. Sequenciamento *forward* representado pelas figuras (A, E, I, M e Q) e *reverse* (B, F, J, N e R). Após a trimagem os *reads* foram representados pelas figuras (C, G, K, O e S) para o sequenciamento *forward* e (D, H, P e T,) para o *reverse* respectivamente.