

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA
GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

MARIA GABRIELA MONTEIRO DE CARVALHO ANDRADE

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BEGOMOVÍRUS ASSOCIADOS A
***Macrottilium* spp. NO ESTADO DE ALAGOAS**

Rio Largo – AL

2024

MARIA GABRIELA MONTEIRO DE CARVALHO ANDRADE

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BEGOMOVÍRUS ASSOCIADOS A
Macrottilium spp. NO ESTADO DE ALAGOAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
da Universidade Federal de Alagoas, como
requisito parcial para obtenção do título de
Engenheira Agrônoma.

Orientadora: Profa. Dra. Mayra
Machado de Medeiros Ferro

Rio Largo – AL

2024

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

A553c Andrade, Maria Gabriela Monteiro de Carvalho.

Caracterização molecular de begomovírus associados a *Macrottilium* spp. no estado de Alagoas. / Maria Gabriela Monteiro de Carvalho Andrade. – 2024.

39f.: il.

Orientador(a): Mayra Machado de Medeiros Ferro.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Graduação em Agronomia, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2024.

Inclui bibliografia

1. *Geminiviridae*. 2. *Polymerase chain reaction*. 3. Clonagem. 4. Filogenia. I. Título.

CDU: 632:(981.35)

FOLHA DE APROVAÇÃO


MARIA GABRIELA MONTEIRO DE CARVALHO ANDRADE

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BEGOMOVÍRUS ASSOCIADOS A *Macrottilium* spp. NO ESTADO DE ALAGOAS


Monografia apresentada ao curso de
Agronomia da Universidade Federal de
Alagoas, como requisito parcial para
obtenção do título de barachela em
Engenheira Agrônoma.

Aprovado em: 17/01/2024


Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 MAYRA MACHADO DE MEDEIROS FERRO
Data: 24/01/2024 19:21:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Mayra Machado de Medeiros Ferro
Universidade Federal de Alagoas – UFAL
Campus de Engenharias e Ciências Agrárias – CECA
(Orientadora)

Documento assinado digitalmente
 KEVISON ROMULO DA SILVA FRANÇA
Data: 25/01/2024 07:41:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Me. Kevison Romulo da Silva França
Universidade Federal de Alagoas – UFAL
Campus de Engenharias e Ciências Agrárias – CECA
(Examinador)

Documento assinado digitalmente
 MARIOTE DOS SANTOS BRITO NETTO
Data: 26/01/2024 17:06:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Mariote dos Santos Brito Netto
Universidade Federal de Alagoas – UFAL
Campus de Engenharias e Ciências Agrárias – CECA
(Examinador)

DEDICO

A todos que contribuíram em minha formação
pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela condução e auxílio durante todo o meu caminho trilhado na graduação.

A minha orientadora, Profa. Dra. Mayra Machado de Medeiros Ferro, por toda apoio, aprendizado, confiança e paciência. Minha admiração a você é imensa.

A Profa. Dra. Iraildes Pereira Assunção e Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima pela oportunidade de participar do laboratório que me fez encontrar a área de trabalho que almejo seguir.

A toda equipe do Laboratório de Fitopatologia Molecular e Virologia Vegetal, em especial, Iara Maria dos Santos Costa Luna, Mayara Oliveira de Lima, Yolanda de Melo de Oliveira, Lauristela da Silva Hermógenes Soares, Mariote dos Santos Brito Netto, Kevison Romulo da Silva França e Marcus Vinicius Santos da Silva, por toda amizade, ajuda e ensinamentos.

A coordenação do curso de Agronomia e a todos os docentes que contribuíram para a minha formação.

A minha família, em especial, minha mãe, Denise Monteiro de Carvalho; meu pai, Franscisco de Assis Santos de Andrade; meu irmão Ricardo Araújo Ferreira Junior, por todo incentivo e apoio.

A meus amigos, em especial, Débora Dulcésil da Silva e Renata Maria Chaves Ferreira, pela amizade e cumplicidade.

A minha dupla da graduação, Thayane Kelly dos Santos, pelos ensinamentos, amizade, apoio e cumplicidade. Uma grande amizade que iniciou ao primeiro dia de aula, se perpetuou durante toda a graduação, e que assim seja durante todo o nosso futuro.

Aos meus amigos de graduação, em especial, Nicácio Brito, Bartolomeu Junior, William Alexandre, Gabriela Castelo, Gabriela Calheiros, Emanuel Nascimento, Iannaele Cordeiro, Claudiano Leão, Ronald Santada, João Cruz Livino, Liandra Santos, Joyce Herculano, pela amizade.

RESUMO

O gênero *Begomovirus* possui um ou dois componentes genômicos, são transmitidos pela *Bemisia tabaci* e infectam plantas eudicotiledôneas. *Bean golden mosaic virus* (BGMV) e *Macrottilium yellow spot virus* (MaYSV) são os begomovirus de maior importância econômica no Brasil, e também infectam espécies de plantas daninhas. O DNA total foi extraído, individualmente, a partir de cada amostra vegetal, e utilizado como molde para a realização de PCR. Foi realizado a clonagem do DNA viral extraído das amostras que testaram negativo para a análise de PCR para as espécies BGMV e MaYSV. Para a clonagem foi realizada a amplificação utilizando o método do círculo rolante. Os genomas virais amplificados foram clivados com as enzimas *PstI* e *KpnI*, e ligados a um vetor plasmidial pBluescript KS+. As amostras resultantes foram transformadas em células de *Escherichia coli* e cultivadas em meio com ampicilina. O DNA plasmidial foi extraído e digerido para confirmar a clonagem. Os clones foram sequenciados pela Macrogen, Inc. Um total de 70 amostras foram obtidas a partir de *Macrottilium* sp., sendo todas essas PCR positivas para o gênero *Begomovirus*. 19 isolados virais foram selecionados para serem submetidos ao processo de clonagem e sequenciamento do genoma completo. Alinhamentos múltiplos de sequências nucleotídicas foram preparados para o conjunto de dados DNA-A, e foram realizadas análises filogenéticas. Um total de 29 clones correspondentes ao DNA-A foi obtido. Comparações pareadas indicaram a presença de apenas uma espécie de begomovírus: *Macrottilium yellow vein virus* (MaYVV) a partir de amostras de *Macrottilium* spp. Árvores filogenéticas bayesianas mostraram que isolados de MaYVV estavam estruturados segundo região geográfica. O begomovírus *Macrottilium yellow spot virus* não foi detectado infectando *Macrottilium* sp., no estado de Alagoas. *Macrottilium yellow vein virus* é o begomovírus predominante em *Macrottilium* spp., em diferentes municípios do estado de Alagoas, em 2019 e 2020. A análise filogenética mostrou que os isolados de MaYVV estão estruturados geograficamente, com divisão de quatro clados e dois subgrupos.

Palavras-chave: *Geminiviridae*; *Polymerase chain reaction*; Clonagem; Filogenia

ABSTRACT

The genus *Begomovirus* has one or two genomic components, is transmitted by *Bemisia tabaci* and infects eudicotyledonous plants. *Bean golden mosaic virus* (BGMV) and *Macrottilium yellow spot virus* (MaYSV) are the most economically important begomoviruses in Brazil, and also infect weed species. Total DNA was extracted individually, from each plant sample, and used as a template for PCR. The viral DNA was cloned and extracted from samples that tested negative for PCR analysis for BGMV and MaYSV species. For cloning, amplification was performed using the rolling circle method. The amplified viral genomes were cleaved with the enzymes *PstI* and *KpnI*, and ligated into a pBluescript KS+ plasmid vector. The resulting samples were transformed into *Escherichia coli* cells and cultivated in medium with ampicillin. Plasmid DNA was extracted and digested to confirm cloning. Clones were sequenced by Macrogen, Inc. Sequences were aligned and used to create phylogenetic trees. A total of 70 samples were obtained from *Macrottilium* sp., all of which were PCR positive for the genus *Begomovirus*. 19 viral isolates were selected to be subjected to the cloning and complete genome sequencing process. Multiple sequence alignments were prepared for the full-length DNA-A, and phylogenetic analyzes were performed. A total of 29 clones corresponding to DNA-A were obtained. Pairwise comparisons indicated the presence of only one species of begomovirus: *Macrottilium yellow vein virus* (MaYVV) from samples of *Macrottilium* spp. Bayesian phylogenetic trees showed that MaYVV isolates were structured according to geographic region. The *Macrottilium yellow spot virus* begomovirus was not detected infecting *Macrottilium* sp., in the state of Alagoas. *Macrottilium yellow vein virus* is the predominant begomovirus in *Macrottilium* spp., in different municipalities in the state of Alagoas, in 2019 and 2020. Phylogenetic analysis showed that MaYVV isolates are geographically structured, with division into four clades and two subgroups.

Key words: *Geminiviridae*; *Polymerase chain reaction*; Cloning; Phylogeny

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Organização genômica dos begomovírus	16
Figura 2. Plantas de <i>Macropitium</i> sp. apresentando sintomas típicos de infecção por begomovírus	24
Figura 3. Matriz de identidades de sequências do DNA-A de isolados de MaYVV obtidas neste trabalho mais amostras disponíveis no GenBank.	30
Figura 4. Análise filogenética de inferência Bayesiana baseada no DNA-A mais amostras disponíveis no GenBank, mostrando a formação de quatro clados principais	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sequências de primers usadas para amplificação do componente genômico DNA-A de BGMV e MaYSV e primer universal para o gênero <i>Begomovirus</i>	20
Tabela 2. Sequências de begomovírus <i>Macrotidium yellow vein virus</i> (MaYVV) obtidas a partir do banco de dados não-redundante Genbank.....	21
Tabela 3. Hospedeiro, local, ano de coleta das amostras de <i>Macrotidium</i> spp. e resultado da PCR com pares de primers universais e específicos para MaYSV e BGMV.....	25

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Família <i>Geminiviridae</i>	13
2.2 Gênero <i>Begomovirus</i>	14
2.3 Diversidade de <i>Begomovirus</i> infectando <i>Macroptilium</i> spp.	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Coleta do material vegetal.....	19
3.2 Detecção de begomovírus via <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	19
3.3 Clonagem e sequenciamento do genoma completo de begomovírus	20
3.4 Análise de sequências e demarcação de espécies.....	21
3.5 Alinhamento e análises filogenéticas	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1 Detecção de begomovírus via <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	23
4.2 Análises de sequências e demarcação de espécie.....	29
4.3 Análise filogenética	31
5 CONCLUSÕES.....	33
REFERÊNCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

A família *Geminiviridae* engloba vírus com genoma de DNA circular de fita simples (ssDNA) encapsidado em partícula geminada de morfologia quasi-icosaédrica (BROWN et al., 2015). O ICTV (*International Comittee on Taxonomy of Viruses*) divide a família em quatorze gêneros (*Becurtovirus*, *Begomovirus*, *Capulavirus*, *Citlodavirus*, *Curtovirus*, *Eragrovirus*, *Grablovirus*, *Maldovirus*, *Mastrevirus*, *Mulcrilevirus*, *Opunvirus*, *Topilevirus*, *Topocuvirus*, *Turncurtovirus*) usando como critérios de demarcação a gama de hospedeiros, tipo de inseto vetor, organização genômica e relacionamento filogenético (ZERBINI et al. 2017). Os sintomas observados nas plantas hospedeiras são: nanismo, enrolamento foliar, ondulação, distorção, mosaico/mosqueado, amarelecimento internerval e clorose (INOUE-NAGATA et al. 2016).

O gênero *Begomovirus* é representado por espécies que possuem um (monopartido) ou dois (bipartido) componentes genômicos conhecidos como DNA-A e DNA-B. A transmissão destes vírus ocorre por um complexo de espécies crípticas da mosca-branca (*Bemisia tabaci*) (BARBOSA et al., 2014; NAVAS-CASTILLO et al., 2011) e a infecção é restrita a plantas eudicotiledôneas.

Dentre as espécies de begomovírus que infectam leguminosas, *Bean golden mosaic virus* (BGMV) e *Macroptilium yellow spot virus* (MaYSV) são consideradas as mais importantes no Brasil (RAMOS-SOBRINHO et al., 2014). Além de plantas cultivadas, *Macroptilium lathyroides*, uma planta não-cultivada comumente encontrada em associação com feijoeiros, tem sido relatada como hospedeira de begomovírus capazes de infectar sistematicamente plantas de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) e feijão-fava (*P. lunatus*) a exemplo de *Macroptilium yellow mosaic virus*, *Macroptilium yellow mosaic Florida virus*, *Macroptilium mosaic Puerto Rico virus*, MaYSV, e *Bean golden yellow mosaic virus* e BGMV, begomovírus de grande importância econômica na cultura dos feijoeiros nas Américas (BRACERO; RIVERA; BEAVER, 2003; RAMOS-SOBRINHO et al., 2014).

Além das espécies citadas anteriormente, *Macroptilium bright mosaic virus*, *Macroptilium common mosaic virus*, *Macroptilium golden mosaic virus*, *Macroptilium yellow net virus* e *Macroptilium yellow vein virus* são outros begomovirus já relatados infectando *Macroptilium* spp. (AMARAKOON et al., 2008; IDRIS et al., 2003; SILVA

et al., 2012; LIMA et al., 2013; RAMOS-SOBRINHO et al., 2014).

Durante muito tempo o BGMV foi considerado como o único begomovírus de importância econômica em feijoeiros no Brasil, levando ao desenvolvimento e aprovação do feijão comum transgênico Embrapa 5.1 resistente a este vírus (ARAGÃO et al., 2013). Contudo, estudos indicam a emergência do MaYSV como um dos principais begomovírus em plantios no Nordeste do país, apontando que BGMV não é mais o único begomovírus de relevância econômica para os feijoeiros (RAMOS-SOBRINHO et al., 2014).

Analisar o status atual de leguminosas não-cultivadas, como *Macroptilium* spp., como hospedeiras alternativas, bem como a identificação e caracterização de begomovírus associados a estas plantas são cruciais para compreensão das interações vírus/vetor/hospedeiros. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo realizar a caracterização molecular de begomovírus associados a *Macroptilium* spp. no estado de Alagoas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Família *Geminiviridae*

A família *Geminiviridae* é composta por quatorze gêneros, sendo eles: *Becurtovirus*, *Begomovirus*, *Capulavirus*, *Citlodavirus*, *Curtovirus*, *Eragrovirus*, *Grablovirus*, *Maldovirus*, *Mastrevirus*, *Mulcrilevirus*, *Opunvirus*, *Topilevirus*, *Topocuvirus*, *Turncurtovirus*. Estes são diferenciados com base nas características gama de hospedeiros, tipo de inseto vetor, organização genômica e relacionamento filogenético (VARSANI et al, 2014; 2017; ZERBINI et al., 2017). Os geminivírus possuem genoma constituído por DNA circular de fita simples (ssDNA), com tamanho variando entre 2,6 a 5,2 kb e encapsidados em partículas geminadas de morfologia quasi-icosaédrica (BROWN et al., 2012; 2015). O gênero *Begomovirus* é o único que pode possuir um ou dois (bipartidos) componentes genômicos, DNA-A e DNA-B, todos os outros representantes são monopartidos, possuindo um único componente genômico (BROWN et al., 2012; 2015).

Membros desta família infecta plantas mono e eudicotiledôneas, sendo a causa da perda de rendimento de várias culturas de grande importância econômica, bem como plantas ornamentais e silvestres/daninhas (HANLEY-BOWDOIN et al., 2013; INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016). Os impactos socioeconômicos negativos causados pelos vírus pertencentes a essa família são relatados em todo mundo. A cultura do feijão, em todo o continente Americano, é a mais afetada pelos begomovírus *Bean golden mosaic virus* (BGMV) e o *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV); A beterraba açucareira, na América do Norte e Oriente Médio, infectado por *Beet curly top virus* (BCTV; *Curtovirus*); na Europa, África, Ásia, América Central, Caribe, Estados Unidos e Austrália tomateiro é afetado pela infecção pelo *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV); *African cassava mosaic virus* (ACMV; *Begomovirus*) infectando mandioca e *Maize streak virus* (MSV; *Mastrevirus*) em milho na África; na Europa, em trigo, *Wheat dwarf virus* (WDV; *Mastrevirus*); *Cotton leaf curl virus* (CLCuV; *Begomovirus*) em algodoeiro na Ásia; são alguns exemplos de fitovírus causadores de grandes prejuízos na produção agrícola (HANLEY-BOWDOIN et al., 2013; SCHUBERT et al., 2014; INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016).

Os geminivírus são transmitidos por insetos que se alimentam do floema, incluindo diferentes espécies de cigarrinhas, moscas-brancas do complexo de espécies

crípticas *Bemisia tabaci*, membracídeos e afídeos (INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016). Dentre os quatorze gêneros da família, apenas *Citodlavirus*, *Eragrovirus*, *Maldovirus*, *Opunvirus*, *Topilevirus* possuem vetores desconhecidos (VARSANI et al., 2014; 2017). Os sintomas típicos de infecções causados por geminivírus incluem deformação foliar, enrolamento, amarelecimento, nanismo, mosaico e/ou estriações (VARSANI et al., 2017).

2.2 Gênero *Begomovirus*

O gênero *Begomovirus* possui 445 espécies reconhecidas pelo ICTV (<http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>), assim sendo o mais numeroso e mais importante dentro da família *Geminiviridae*. É transmitido por um complexo de espécies crípticas de *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), com destaque às pertencentes ao complexo MEAM1 (Middle East – Asia Minor 1), causando infecção a plantas eudicotiledôneas nas regiões tropicais e subtropicais (BROWN et al., 2012; 2015; NAVAS-CASTILLO; FIALLOOLIVÉ; SÁNCHEZ-CAMPOS, 2011; STANLEY et al., 2005; FARIA et al., 2000; FIALLO-OLIVÉ et al., 2021).

Com base na diversidade genética, organização genômica e distribuição geográfica os begomovírus são divididos em dois grupos: do "Velho Mundo" (VM) (Europa, África, Ásia e Austrália) e do "Novo Mundo" (NM) (Américas). Os inclusos no VM apresentam um (monopartido) ou dois (bipartido) componentes genômicos e frequentemente estão associados a moléculas de ssDNA satélites denominados alfassatélites e betassatélites (FAUQUET; STANLEY, 2005; ZHOU et al., 2013; LOZANO et al., 2016; ROSARIO et al., 2016). No entanto, a maioria dos pertencentes ao NM, apresenta dois componentes genômicos, denominados DNA-A e DNA-B, com relatos de ocorrência de associação a alfassatélites (PAPROTKA; METZLER; JESKE, 2010; ROMAY et al., 2010).

Begomovírus estão associados a três classes de ssDNA satélites: alfassatélites, betassatélites e deltassatélites (ZHOU 2013; LOZANO et al., 2016). Nos begomovírus do VM, a associação com os alfassatélites não altera os sintomas causados pelos vírus, porém, a presença de betassatélites, na maioria dos casos, é essencial para a manifestação de sintomas. Betasatélites codificam a proteína β C1 que tem papéis importantes na indução de sintomas e na supressão do silenciamento gênico transcricional e pós-transcricional (ZHOU, 2013). Os alfassatélites encontrados no NM são diferentes dos que estão presentes no VM e sua associação com begomovírus bissegmentados aumentam a severidade de sintomas. Os

deltassatélites não codificam nenhuma proteína, mas alguns deles afetam o acúmulo de DNA viral e sintomatologia (FERRO et al., 2021).

Os begomovírus bipartidos necessitam dos dois componentes genômicos (DNA-A e DNA-B) para estabelecimento da infecção (ROJAS et al., 2005), cada um com tamanho de 2.5-2.6 kb. O DNA-A dos begomovírus bipartidos podem replicar autonomamente e produzir vírions, mas requerem o DNA-B para infecção sistêmica. Componentes DNA-A e DNA-B cognatos compartilham aproximadamente 200 bases de sequência dentro da região intergênica (nomeada “Região Comum”, RC), englobando o stem-loop conservado com o nonanucleotídeo 5'-TAATATTAC-3' na origem de replicação viral (v-ori) (HANLEY-BOWDOIN et al., 2002; FIALLO-OLIVÉ et al., 2020).

O genoma dos begomovírus contém ORFs (open reading frames) que são responsáveis por codificar proteínas multifuncionais (WALSH; MOHR, 2006). O componente DNA-A dos begomovírus bipartidos é homólogo ao dos begomovírus monopartidos e possui entre cinco e seis ORFs (V1/AV1, V2/AV2, C1/AC1, C2/AC2, C3/AC3, C4/AC4, C5/AC5; Figura 1).

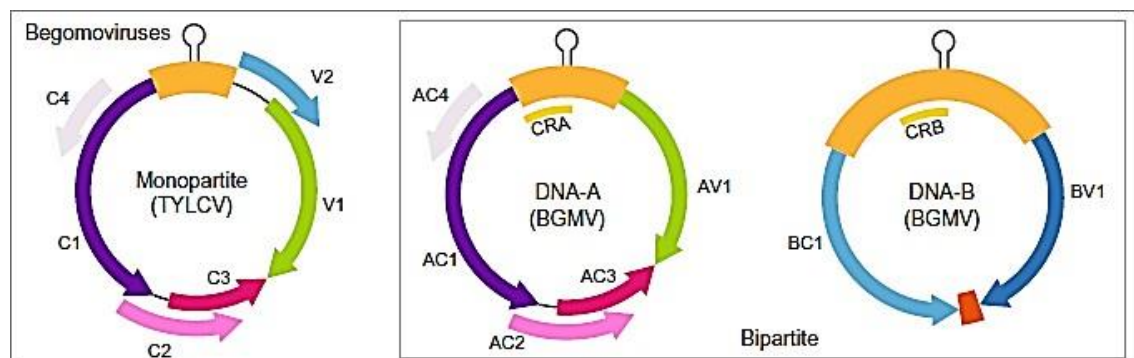
No componente DNA-A, um gene é transcrito no sentido viral (V1/AV1) denominado CP (*Coat Protein*), que codifica a proteína da capa proteica. Além disso, existem ORFs no sentido complementar: Rep, TrAP, Ren e C4. A ORF C1/AC1 codifica para a proteína Rep (*Replication associated Protein*) que é uma endonuclease associada à replicação do genoma viral (HANLEY-BOWDOIN et al., 2000). Ao se liga a regiões intergênicas (iterons) cliva a fita de DNA no nonanucleotídeo (5'-TAATATT↓AC-3'), iniciando o processo de replicação por círculo rolante (FONTES et al., 1992; SAXENA; TIWARI, 2017). A ORF C2/AC2 codifica a proteína TraAP (*Trans-Acting Protein*) ativadora da transcrição dos genes de sentido viral CP (AV1 do DNA-A) e atuar como supressora de silenciamento gênico (ZERBINI; CARVALHO; MACIEL-ZAMBOLIN, 2002; VANITHARANI et al., 2004; WANG et al., 2005; RAJA et al., 2008). A ORF C3/AC3 codifica a proteína Ren (*Replication Enhancer*) é intensificadora (enhancer) da replicação, porém não é essencial ao processo (SETTLAGE et al., 1996; SAXENA; TIWARI, 2017). A ORF C4/AC4 codifica uma proteína relacionada a supressão do sistema de defesa da planta (VANITHARANI et al., 2004). A ORF C5/AC5 codifica uma proteína que aparentemente não tem papel essencial no ciclo da infecção viral para alguns begomovírus ou isolados virais (KHEYR-POUR et al., 2000; FONTENELLE et al., 2007; MELGAREJO et al., 2013), mas sua ausência em mutantes ocasionou sintomas menos severos (MELGAREJO et al., 2013). No sentido viral (V2/AV2) outra proteína é sintetizada, a "*Pre-coat protein*", presente apenas em begomovírus do VM, que desempenha um papel importante

no movimento sistêmico mais eficiente do vírus dentro da planta, além de atua como uma proteína de supressão de defesa, inibindo o processo de silenciamento gênico (CHOWDA-REDDY et al., 2008; ZHANG et al., 2012).

No componente DNA-B, há duas ORFs, uma no sentido viral (BV1) e outra no sentido complementar (BC1). A ORF BV1 codifica a proteína NSP (*Nuclear Shuttle Protein*) responsável pelo transporte do DNA núcleo-citoplasma através do envelope nuclear (MCGARRY et al., 2003). A ORF BC1 codifica a proteína MP (*Movement Protein*) que é responsável pelo movimento célula-à-célula através do mecanismo de aumento do limite de exclusão dos plasmodesmas (NOUEIRY et al., 1994; SANDERFOOT; LAZAROWITZ, 1996; ZORZATTO et al., 2015).

Os sintomas típicos por infecções causadas por begomovírus são nanismo; uma combinação de mosaico/mosqueado verde-amarelo-dourado, enrolamento, enrugamento, deformação, manchas amarelas e amarelecimento das nervuras ou internervuras nas folhas. A observação de sintomas nos hospedeiros varia com a espécie e carga viral, espécie, fase e nutrição da cultura (PICÓ et al., 1996; MORALES, 2001; INOUE-NAGATA; LIMA; GILBERTSON, 2016).

Figura 1. Organização genômica dos begomovírus. LIR, região intergênica longa; SIR, região intergênica curta; CR, região comum; nsP (BV1), proteína de movimento nuclear; cp (V1/AV1), proteína capsidial; mp (V2/BC2), proteína de movimento; rep (C1), proteína associada a replicação; ren (C3/AC3), proteína potencializadora de replicação; trap (C2/AC2), proteína de transcrição/supressor de silenciamento gênico.



Fonte: (Varsani et al., 2017)

2.3 Diversidade de *Begomovirus* infectando *Macroptilium* spp.

Além de plantas cultivadas, muitas espécies de plantas silvestres/daninhas têm sido relatadas como hospedeiras de *Begomovirus* (IDRIS et al., 2003; JOVEL et al., 2004; FIALLO-OLIVE et al., 2013; MUBIN et al., 2010) e podem atuar como hospedeiros alternativos, na ausência do seu hospedeiro cultivado em campo, podendo se tornar fonte de inóculo (ROCHA et al. 2013). O gênero *Macroptilium* (família Fabaceae) é composto por cerca de 20 espécies distribuídas nas Américas. Algumas espécies deste gênero têm utilidade como forrageiras, como adubo verde e na medicina popular (BARBOSA-FEVEREIRO, 1986). *Macroptilium lathyroides* (L.) Urb., popularmente conhecida como “feijão-de-rola”, é uma leguminosa muito comum nas Américas do Sul e Central, que acabou se tornando uma planta espontânea no Nordeste brasileiro.

Nas américas, *Macroptilium* já foi relatada como hospedeira de diferentes begomovírus como *Macroptilium bright mosaic virus* (MacBMV), *Macroptilium common mosaic virus* (MaCMV), *Macroptilium golden mosaic virus* (MaGMV), *Macroptilium mosaic Puerto Rico virus* (MaMPRV), *Macroptilium yellow mosaic Florida virus* (MaYMFV), *Macroptilium yellow mosaic virus* (MaYMV), *Macroptilium yellow spot virus* (MaYSV), *Macroptilium yellow net virus* (MaYNV) e *Macroptilium yellow vein virus* (MaYVV), além de *Bean golden yellow mosaic virus* (BGMV) e *Bean golden mosaic virus* (BGMV) (AMARAKOON et al., 2008; IDRIS et al., 2003; SILVA et al., 2012; LIMA et al., 2013; RAMOS-SOBRINHO et al., 2014; PASSOS et al., 2017), mostrando sua importância como fonte de inóculo para plantas cultivadas.

O primeiro relato de MaYSV ocorreu em 2009, infectando *Macroptilium lathyroides*, nos estados de Sergipe e Paraíba (SILVA et al., 2012). Este mesmo vírus já foi descrito em outras hospedeiras leguminosas não-cultivadas como *Calopogonium mucunoides*, *Canavalia* sp. (SILVA et al., 2012) e *Desmodium glabrum* (FONTENELE et al., 2016). É também conhecido que *M. lathyroides* pode servir como hospedeiro alternativo para BGMV e BGYMV, begomovírus de grande importância econômica na cultura dos feijoeiros (BRACERO; RIVERA; BEAVER, 2003; RAMOS-SOBRINHO et al., 2014). No Brasil, outros begomovírus infectando *M. lathyroides* foram relatados como *Soybean chlorotic spot virus* (SoCSV, COCO et al., 2013), vírus inicialmente descrito em soja, *Macroptilium yellow net virus* (MaYNV) e *Macroptilium yellow vein virus* (MaYVV) (SILVA et al., 2012; RAMOS-SOBRINHO et al., 2014).

MaYVV foi descrito pela primeira vez em Maceió, Alagoas, em 2010, em *Macroptilium lathyroides*, e desde então tem sido relatado em plantas de *Macroptilium* spp. e *M. lathyroides*, associadas a cultivos de feijão comum e fava, exibindo sintomas de mosaico e clareamento de nervura (SILVA et al., 2012; RAMOS-SOBRINHO et al., 2014). Ainda é escasso os trabalhos sobre a importância do *Macroptilium* sp. como hospedeiro alternativo a esse vírus e a variabilidade e estrutura genética de suas populações.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta do material vegetal

Amostras foliares de *Macroptilium* spp. apresentando sintomas indicativos de infecção por begomovírus (mosaico, deformação foliar e nanismo) foram coletadas em diferentes municípios do estado de Alagoas, em 2019 e 2020 (Tabela 3). As amostras foram acondicionadas em sacos de papel e armazenadas em freezer (-80°C) no Laboratório de Fitopatologia Molecular e Virologia Vegetal do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas.

3.2 Detecção de begomovírus via *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

O DNA total foi extraído, individualmente, a partir de cada amostra vegetal (DOYLE; DOYLE, 1987), e utilizado como molde para detecção inicial do gênero *Begomovirus*, utilizando o par de primer universal PALIv1978/PARlc496 (componente genômico DNA-A, ROJAS et al., 1993). As amostras positivas foram, então, submetidas à amplificação, via PCR, usando os pares de primers espécie-específicos para o componente genômico DNA-A de BGMV (BGMV-Det_1191_For/BGMV-Det_1768_Rev) e MaYSV (MaYSV-Det_1137_For/MaYSV-Det_1427_Rev) (Tabela 1).

As reações de PCR foram realizadas em um volume final de 15 µL, contendo 1,5 µL de tampão 10X PCR, 1,2 µL da mistura de dNTPs a 10 mM, 1 µL de cada oligonucleotídeo a 10 µM, 10 ng do DNA molde, e uma unidade de *Taq* DNA Polymerase, completando-se o volume com H₂O ultrapura. As condições de termociclagem consistiram em uma desnaturação inicial de 94°C por 3 minutos e 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 45 segundos, anelamento a 55°C ou 52 °C por 30 segundos e extensão a 72°C por 90 segundos, seguindo de uma extensão final a 72°C por 10 minutos. Os produtos amplificados foram analisados em gel de agarose a 1% sob luz UV.

Tabela 1. Sequências de primers usadas para amplificação do componente genômico DNA-A de BGMV e MaYSV e primer universal para o gênero Begomovirus.

Nome	Sequência (5' – 3')	Alvo	Fragmento
PAL1v1978 PAR1c496	GCATCTGCAGGCCCACTYGTCTTYCCNGT AATACTGCAGGGCTTYCTRTACATRGG	DNA-A	1200pb
MaYSV_A_Det_308_For MaYSV_A_Det_1149_Rev	GGAGGTGGAGGTCCAAAAA TCTGGGACGACATATTTAGT	DNA-A	850 pb
BGMV-A_Det_1191_For BGMV-A_Det_1768_Rev	CCTTGTGTAGACCCAGTTTGT CAAAGGTGTTTTCAAATCATGCTG	DNA-A	570 pb

3.3 Clonagem e sequenciamento do genoma completo de begomovírus

Amostras de *Macroptilium* spp. testadas positivas para o gênero *Begomovirus*, tiveram os seus genomas completos amplificados via *Rolling Circle Amplification* (RCA, INOUE-NAGATA et al., 2004). Os produtos da RCA foram clivados com duas enzimas de restrição (*PstI* e *KpnI*) e analisadas em géis de agarose (0,8%). Alíquotas de reações de clivagem que apresentaram um fragmento de aproximadamente 2.600 nucleotídeos, correspondendo aos componentes DNA-A ou DNA-B de begomovírus bipartidos, foram clonadas no vetor plasmidial pBluescript-KS+ (Stratagene), previamente clivadas com a mesma enzima e desfosforiladas. Os plasmídeos recombinantes foram transformados em *Escherichia coli* DH5a por eletroporação (SAMBROOK; RUSSEL, 2001). Colônias contendo os possíveis plasmídeos recombinantes foram repicadas para meio LB líquido contendo ampicilina (Ampicilin, sodium salt USB©) e incubadas a 37 °C sob agitação orbital de 180 rpm por 16h. Após incubação, as culturas foram submetidas à extração de DNA plasmidial com Fast-n-Easy Plasmid Mini-Prep Kit (Cellco). O DNA plasmidial foi, então, digerido com a enzima utilizada para clonagem e o padrão de bandas foi visualizado em gel de agarose 0,8%, utilizado para confirmação do processo de clonagem. Os clones foram completamente sequenciados pela Macrogen, Inc. (Seul, Coreia do Sul) por primer walking.

3.4 Análise de sequências e demarcação de espécies

As sequências completas do DNA-A foram montadas utilizando o programa *CodonCode Aligner* v.10.0.3 (www.codoncode.com) e organizadas para iniciar no ponto de clivagem do nonanucleotídeo conservado (5'-TAATATT//AC-3'). As sequências obtidas foram, inicialmente, analisadas com o algoritmo BLASTn (ALTSCHUL et al., 1990) e o banco de dados de nucleotídeos não-redundante GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) para determinar as espécies virais com as quais elas compartilham maior identidade de sequência. Além das sequências geradas a partir dos isolados do presente estudo, foram utilizadas 19 sequências de MaYVV depositadas no GenBank (Tabelas 2). Comparações pareadas foram realizadas para o conjunto de dados de DNA-A utilizando-se o programa *Sequence Demarcation Tool* (SDT) v.1.2 (MUHIRE et al., 2014). Para demarcação de espécies do gênero Begomovirus, foi utilizado o critério de identidade $\geq 91\%$ para sequências completas de DNA-A, estabelecido pelo *Geminiviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) (BROWN et al., 2015).

Tabela 2. Sequências de begomovírus *Macropodium Yellow Vein Virus* (MaYVV) obtidas a partir do banco de dados não-redundante Genbank.

Nº de acesso no Genbank	Hospedeiro	Local	Data
KJ939915	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939914	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939913	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939912	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939911	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939910	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939909	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939908	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939907	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939906	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939905	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939904	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939903	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939902	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939901	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939900	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939899	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
KJ939898	<i>M. lathyroides</i>	Palmeira dos Índios - AL	2011
JN419021	<i>M. lathyroides</i>	Maceió - AL	2010

3.5 Alinhamento e análises filogenéticas

Alinhamentos múltiplos das sequências nucleotídicas foram preparados através do algoritmo MUSCLE implementado no pacote MEGAX (KUMAR et al., 2018) e ajustados manualmente. Árvore filogenética para o conjunto de dados DNA-A foi construída utilizando-se o método de Inferência Bayesiana com a software MrBayes v.3.2.6 (RONQUIST et al., 2012) disponibilizado no web-portal CIPRES (MILLER et al., 2010). Os modelos de substituição de nucleotídeos e distribuição de heterogeneidade foram escolhidos com o auxílio dos programas PAUP v.4.0b10 (SWOFFORD, 2003) e MrModelTest2 v.2.3 (NYLANDER, 2004), sendo GTR+I o melhor modelo para todos os conjuntos de dados. As análises foram rodadas por 20 milhões de gerações com amostragem a cada 1000 passos, totalizando 20.000 árvores, com as 2.500 primeiras sendo descartadas como uma fase de *burn-in*. Probabilidades posteriores (RANNALA; YANG, 1996) foram determinadas a partir de uma árvore consenso *majority-rule* gerada com as 17.500 árvores remanescentes. As árvores foram visualizadas e editadas nos programas FigTree v.1.4 (tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree) (RAMBAUT, 2014) e CorelDRAW 2021.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Detecção de begomovírus via *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Foram coletadas 70 amostras a partir plantas de *Macroptilium* spp., apresentando sintomas típicos de infecção por begomovírus (Tabela 3; Figura 2), nos municípios de Marechal Deodoro, Matriz de Camaragibe, Maceió, Belém, União dos Palmares, estado de Alagoas.

Todas as amostras foram PCR positivas para o gênero *Begomovirus*. O par de oligonucleotídeos PAL1v1978/PAR1c496 direcionou a amplificação de um fragmento com aproximadamente 1,2 kb, a partir do DNA-A (dados não mostrados) (ROJAS et al., 1993). Os oligonucleotídeos espécie-específicos direcionaram amplificação de fragmentos com tamanho de aproximadamente 570pb e 850pb para o componente genômico DNA-A de BGMV e MaYSV, respectivamente (dados não mostrados). Interessantemente, a maioria das amostras, obtida a partir de *Macroptilium* spp., foi PCR negativa para BGMV e MaYSV.

As amostras oriundas de Marechal Deodoro, Matriz de Camaragibe e de União dos Palmares foram PCR negativas para BGMV e MaYSV. As 25 amostras de Maceió foram PCR negativas para MaYSV, porém 20 foram positivas para BGMV. Todas as amostras obtidas no município de Belém foram PCR positivas somente para BGMV.

Plantas não cultivadas podem atuar como hospedeiro alternativo de begomovírus para plantas cultivadas, favorecendo a ocorrência de epidemias (SILVA et al., 2012; ROCHA et al., 2013). No Brasil, a emergência de begomovírus infectando feijoeiro e tomateiro provavelmente ocorreu por transferência horizontal através de plantas não cultivadas, após a introdução de *Bemisia tabaci* MEAM1 (ROCHA et al., 2013; INOUE-NAGATA, LIMA, GILBERTSON, 2016; MAR et al., 2017).

Os isolados virais M1, M3, M11, M12, M16, M18 (Matriz de Camaragibe – AL); 3MC, 5MC, 14C, 15MC, 16MC (Maceió – AL); e 2UP, 3UP, 4UP, 6UP, 8UP, 9UP, 10UP, 11UP (União dos Palmares – AL) foram clonados e selecionados para sequenciamento dos genomas completos na Macrogen Inc.

Figura 2. Plantas de *Macroptilium* sp. apresentando sintomas típicos de infecção por begomovírus. (a) Município de Maceió; (b) Município de Marechal Deodoro; (c) Município de Matriz de Camaragibe; (d) Município de União dos Palmares.



Fonte: (Ferro, 2019)

Tabela 3. Hospedeiro, local, ano de coleta das amostras de *Macroptilium* spp. e resultado da PCR com pares de primers universais e específicos para MaYSV e BGMV.

(continua)

Código Amostra	Hospedeiro	Local de Coleta	Ano de Coleta	PCR primers universais DNA-A	PCR primers específicos BGMV DNA-A	PCR primers específicos MaYSV DNA-A	Código dos Clones	Espécie/Acrônimo
M1MD	<i>Macroptilium</i> sp.	Marechal Deodoro/AL	2019	+	-	-	--	--
M2MD	<i>Macroptilium</i> sp.	Marechal Deodoro/AL	2019	+	-	-	--	--
M3MD	<i>Macroptilium</i> sp.	Marechal Deodoro/AL	2019	+	-	-	--	--
M4MD	<i>Macroptilium</i> sp.	Marechal Deodoro/AL	2019	+	-	-	--	--
M5MD	<i>Macroptilium</i> sp.	Marechal Deodoro/AL	2019	+	-	-	--	--
M6MD	<i>Macroptilium</i> sp.	Marechal Deodoro/AL	2019	+	-	-	--	--
M7MD	<i>Macroptilium</i> sp.	Marechal Deodoro/AL	2019	+	-	-	--	--
M8MD	<i>Macroptilium</i> sp.	Marechal Deodoro/AL	2019	+	-	-	--	--
M9MD	<i>Macroptilium</i> sp.	Marechal Deodoro/AL	2019	+	-	-	--	--
M10MD	<i>Macroptilium</i> sp.	Marechal Deodoro/AL	2019	+	-	-	--	--
M11MD	<i>Macroptilium</i> sp.	Marechal Deodoro/AL	2019	+	-	-	--	--
M12MD	<i>Macroptilium</i> sp.	Marechal Deodoro/AL	2019	+	-	-	--	--
M13MD	<i>Macroptilium</i> sp.	Marechal Deodoro/AL	2019	+	-	-	--	--
M1	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	1MC1P	<i>Macroptilium</i> Yellow Vein Virus (MaYVV)
M2	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--
							3MC2P	<i>Macroptilium</i> Yellow Vein Virus (MaYVV)
M3	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	3MC5P	<i>Macroptilium</i> Yellow Vein Virus (MaYVV)
M4	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--
M5	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--
M6	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--

(continua)

M7	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--
M8	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--
M9	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--
M10	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--
							11MC4P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
M11	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	11MC7P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
M12	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	12MC2P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
M13	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--
M14	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--
M15	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--
							16MC3P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
M16	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	16MC5P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
M17	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--
							18MC10P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
M18	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	18MC11P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
M19	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--
M20	<i>Macroptilium</i> sp.	Matriz de Camaragibe/AL	2019	+	-	-	--	--
MMA1	<i>Macroptilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	<i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV)
MMA2	<i>Macroptilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	<i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV)
MMA3	<i>Macroptilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	<i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV)
MMA4	<i>Macroptilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	<i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV)
MMA5	<i>Macroptilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	<i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV)
MMA6	<i>Macroptilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	<i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV)
MMA7	<i>Macroptilium</i> sp.	Maceió/AL	2020		+	-	--	<i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV)
MMA8	<i>Macroptilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	<i>Bean golden mosaic virus</i> (BGMV)

(continua)

MMA9	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MMA10	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MMA11	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MMA12	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MMA13	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MMA14	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MMA15	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MMA16	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MMA17	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MMA18	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MMA19	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MMA20	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
3MC	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	-	-	3MCC6P	<i>Macrottilium</i> Yellow Vein Virus (MaYVV)
5MC	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	-	-	5MCC9P	<i>Macrottilium</i> Yellow Vein Virus (MaYVV)
							14MCC9P	<i>Macrottilium</i> Yellow Vein Virus (MaYVV)
14MC	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	-	-	14MCC10P	<i>Macrottilium</i> Yellow Vein Virus (MaYVV)
15MC	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	-	-	15MCC8P	<i>Macrottilium</i> Yellow Vein Virus (MaYVV)
16MC	<i>Macrottilium</i> sp.	Maceió/AL	2020	+	-	-	16MCC15P	<i>Macrottilium</i> Yellow Vein Virus (MaYVV)
MT1	<i>Macrottilium</i> sp.	Belém/AL	2023	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MT2	<i>Macrottilium</i> sp.	Belém/AL	2023	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MT3	<i>Macrottilium</i> sp.	Belém/AL	2023	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
MT4	<i>Macrottilium</i> sp.	Belém/AL	2023	+	+	-	--	Bean golden mosaic virus (BGMV)
							2UPC3K	<i>Macrottilium</i> Yellow Vein Virus (MaYVV)
2UP	<i>Macrottilium</i> sp.	União dos Palmares/AL	2020	+	-	-	2UPC5K	<i>Macrottilium</i> Yellow Vein Virus (MaYVV)

								(conclusão)
3UP	<i>Macroptilium</i> sp.	União dos Palmares/AL	2020	+	-	-	3UPC1P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
							3UPC7P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
4UP	<i>Macroptilium</i> sp.	União dos Palmares/AL	2020	+	-	-	4UPC3P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
							4UPC5P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
6UP	<i>Macroptilium</i> sp.	União dos Palmares/AL	2020	+	-	-	6UPC5P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
							6UPC7P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
8UP	<i>Macroptilium</i> sp.	União dos Palmares/AL	2020	+	-	-	8UPC3P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
							9UPC1P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
9UP	<i>Macroptilium</i> sp.	União dos Palmares/AL	2020	+	-	-	9UPC2P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
10UP	<i>Macroptilium</i> sp.	União dos Palmares/AL	2020	+	-	-	10UPC6K	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)
11UP	<i>Macroptilium</i> sp.	União dos Palmares/AL	2020	+	-	-	11UPC8P	<i>Macroptilium Yellow Vein Virus</i> (MaYVV)

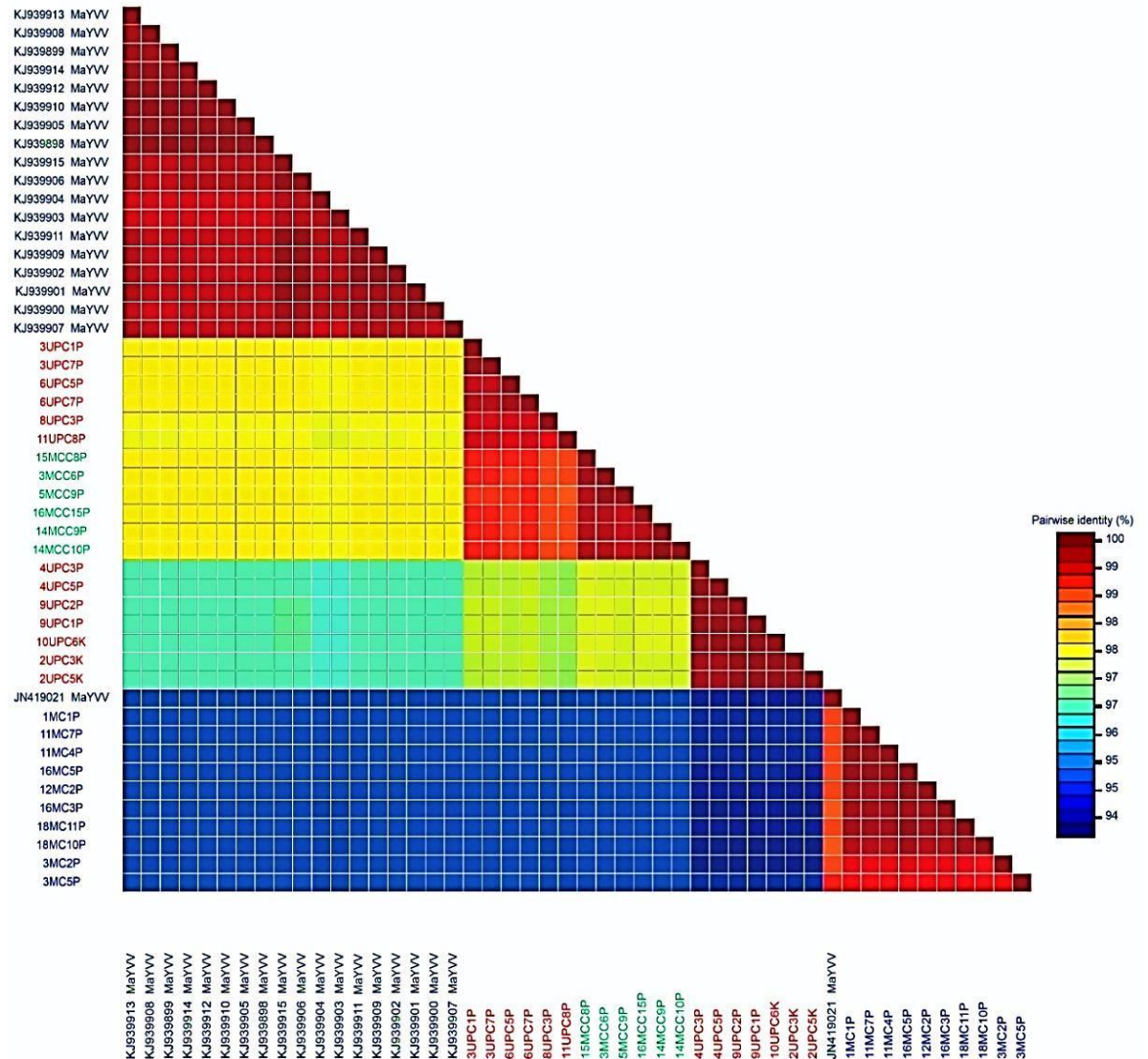
4.2 Análises de sequências e demarcação de espécie

Um total de 19 amostras, provenientes dos municípios de Matriz de Camaragibe Maceió e União dos Palmares, Alagoas, foram submetidas à amplificação de genomas completos via RCA (INOUE-NAGATA et al., 2004). Foi possível obter com sucesso a clivagem das amostras utilizando as enzimas de restrição *PstI* e *KpnI*.

Foram obtidos 29 clones correspondentes ao componente genômico DNA-A. Com base nos critérios estabelecidos para demarcação de espécies dentro de gênero *Begomovirus* (BROWN et al., 2015), a análise de comparações pareadas de sequências nucleotídicas do DNA-A, usando SDT, mostrou que todos os isolados pertencem a uma única espécie: *Macroptilium yellow vein virus* (MaYVV). No entanto, foi observada a segregação dos isolados em quatro grupos distintos: O Grupo I, formado por isolados de Palmeira dos Índios (RAMOS-SOBRINHO et al., 2014), apresentando identidades de sequências variando entre 99,7-100%. O Grupo II, com os isolados de União dos Palmares e Maceió, apresentou identidades de sequências variando entre 97,6-99,8%. O Grupo III, englobando os demais isolados de União dos Palmares, apresentou identidades de sequências variando entre 96,4-100%. O Grupo IV, formado por isolados de Matriz do Camaragibe apresentou identidades de sequências variando entre 93,9-100%. Ao comparar os isolados foi observado que as identidades de sequência variaram entre 93,9-97,4% (Figura 3).

O primeiro relato de *Macroptilium yellow spot virus* ocorreu em 2010, infectando *Macroptilium lathyroides*, nos estados de Sergipe e Paraíba (SILVA et al., 2012), sendo, posteriormente, descrito em outras hospedeiras leguminosas cultivadas e não-cultivadas nos estados de Alagoas e Pernambuco (FONTENELE et al. 2016; RAMOS-SOBRINHO et al. 2014). É conhecido que *M. lathyroides* pode servir como hospedeiro alternativo para BGMV e BGYMV, begomovírus de grande importância econômica na cultura dos feijoeiros (BRACERO; RIVERA; BEAVER, 2003; RAMOS-SOBRINHO et al., 2014). No Brasil, outros begomovírus infectando *M. lathyroides* foram relatados como *Soybean chlorotic spot virus* (SoCSV, COCO et al., 2013), vírus inicialmente descrito em soja, *Macroptilium yellow net virus* (MaYNV) e *Macroptilium yellow vein virus* (MaYVV) (SILVA et al., 2012; RAMOS-SOBRINHO et al., 2014). Os resultados do presente estudo sugerem a reemergência do MaYVV como um dos principais begomovírus que infetam leguminosas em Alagoas.

Figura 3. Matriz de identidades de seqüências do DNA-A de isolados de MaYVV obtidas neste trabalho mais amostras disponíveis no GenBank. Amostras do GenBank em preto, amostras de União dos Palmares em vermelho, amostras de Maceió em verde e amostras de Matriz do Camaragibe em azul.



Fonte: (Autor, 2023)

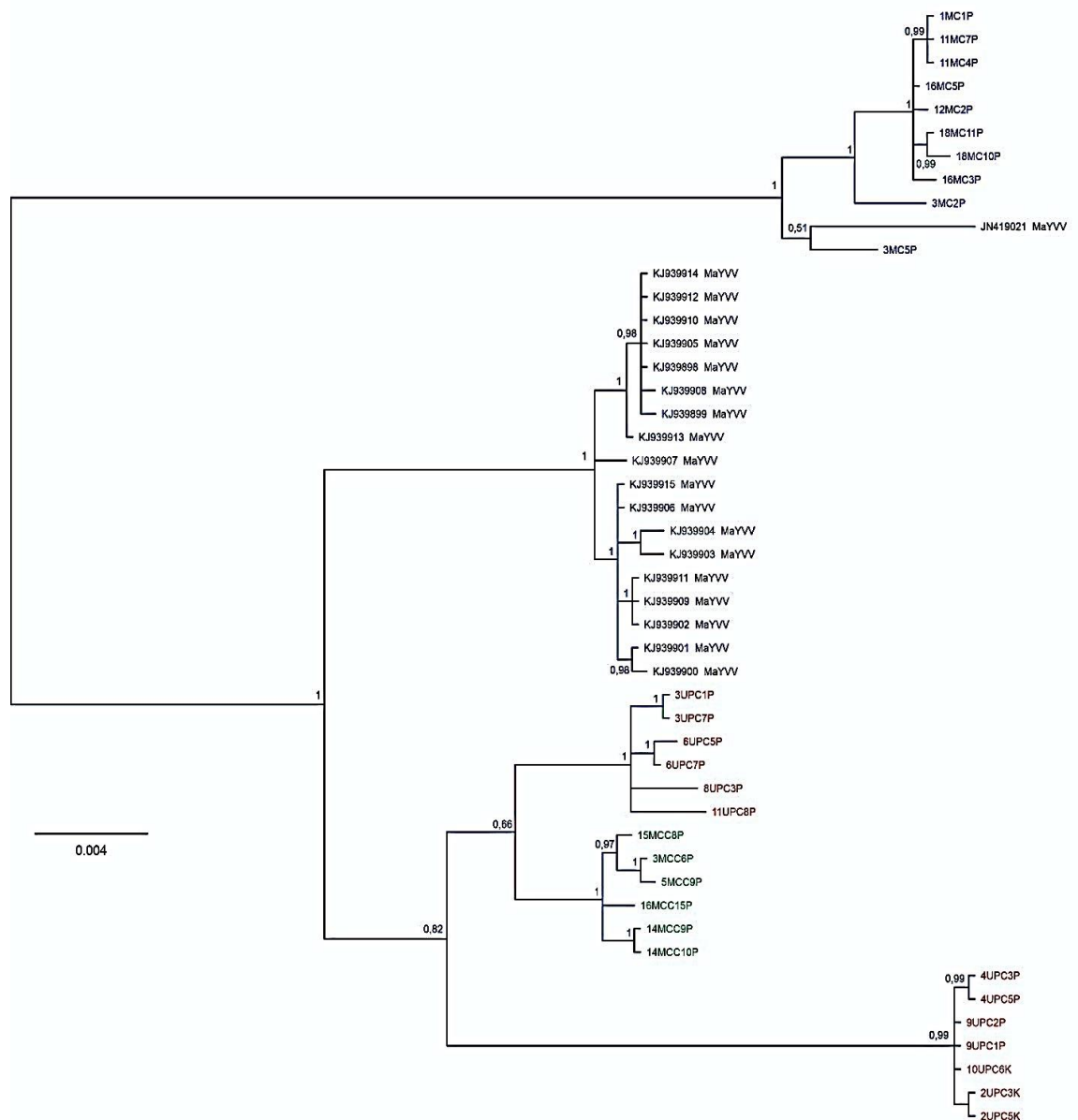
4.3 Análise filogenética

Análise filogenética baseada na sequência de nucleotídeos do conjunto de dados DNA-A das populações de MaYVV incluiu isolados obtidos aqui e outros disponíveis no GenBank (Tabelas 2). A árvore mostrou que os isolados de MaYVV estão distribuídos em quatro clados bem suportados (Figura 4).

O Clado I englobou, predominantemente, os isolados de MaYVV provenientes de Matriz do Camaragibe e um isolado proveniente do município de Maceió. O Clado II abrigou os isolados de Palmeira dos Índios (RAMOS-SOBRINHO et al., 2014). No Clado III foi formado dois subgrupos, no primeiro foram agrupados os isolados de União dos Palmares e no segundo os isolados de Maceió. No Clado IV foram incluídos os demais isolados de União dos Palmares. Estes resultados corroboram com o que já foi observado nas análises de comparações de sequências pareadas (SDT) e sugerem a existência de estruturação das populações por região geográfica.

Trabalhos vêm demonstrando uma tendência das populações brasileiras de begomovírus se estruturarem geograficamente (SILVA et al., 2012; LIMA et al., 2013; ROCHA et al., 2013; RAMOS-SOBRINHO et al., 2014; MENDES et al., 2021). Similarmente, no presente estudo foi observado que isolados de MaYVV, infectando a espécie silvestre *Macropodium* sp., no Estado de Alagoas, estão estruturadas em pelo menos quatro subpopulações locais.

Figura 4. Análise filogenética de inferência Bayesiana baseada no DNA-A mais amostras disponíveis no GenBank, mostrando a formação de quatro clados principais. Clado I = predominantemente os isolados de MaYVV provenientes de Matriz do Camaragibe mais um isolado de Maceió, Clado II = os isolados de Palmeira dos Índios, Clado III = formação de dois subgrupos, no primeiro foram agrupados os isolados de União dos Palmares e no segundo os isolados de Maceió, e Clado IV = os demais isolados de União dos Palmares. Amostras do GenBank em preto, amostras de União dos Palmares em vermelho, amostras de Maceió em verde e amostras de Matriz do Camaragibe em azul.



Fonte: (Autor, 2023)

5 CONCLUSÕES

O begomovírus *Macrotidium yellow spot virus* não foi detectado infectando *Macrotidium* sp., no estado de Alagoas.

MaYVV é o begomovírus predominante em *Macrotidium* spp., em diferentes municípios do estado de Alagoas, em 2019 e 2020.

A análise filogenética mostrou que os isolados de MaYVV estão estruturados geograficamente, com divisão de quatro clados e dois subgrupos.

REFERÊNCIAS

- ALTSCHUL, S.F. et al. Basic local alignment search tool. **Journal Molecular Biology**, 215:403-10, 1990.
- AMARAKOON, I. I. et al. Molecular and biological characterization of *Macropodium yellow mosaic virus* from Jamaica. **Plant Pathology**, v. 57, n. 3, p. 417- 426, 2008.
- ARAGÃO, F.J. et al. Molecular characterization of the first commercial transgenic common bean immune to the *Bean golden mosaic virus*. **Journal of Biotechnology**, v. 166, p. 42-50, 2013.
- BARBOSA, L.F. et al. Indigenous American species of the *Bemisia tabaci* complex are still widespread in the Americas. **Pest Management Science**, Sussex, Inglaterra, 70: 1440–1445, 2014.
- BARBOSA-FEVEREIRO, V. P. *Macropodium* (Bentham) Urban do Brasil (Leguminosae-Faboideae-Phaseoleae-Phaseolinae). **Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, v. 28, p. 109-192, 1986.
- BRACERO, V., RIVERA, L.I., BEAVER, J.S. DNA analysis confirms *Macropodium lathyroides* as alternative host of *Bean golden yellow mosaic virus*. **Plant Disease**, v. 87, p. 1022-1025, 2003.
- BROWN J.K., et al. Family *Geminiviridae*. 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 Viruses*. Elsevier Academic Press, p. 351-373, 2012.
- BROWN, J.K. et al. Revision of *Begomovirus* taxonomy based on pairwise sequence Comparisons. **Archives of Virology**, v. 160, p. 1593-1619, 2015.
- CHOWDA-REDDY, R. V. et al. 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.
- COCO, D. et al. *Soybean chlorotic spot virus*, a novel begomovirus infecting soybean in Brazil. **Archives of Virology**, v. 158, p. 457-462, 2013.
- DOYLE J.J.; DOYLE J.L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11-15, 1987.
- FARIA, J.C. et al. Situação atual das geminiviroses no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, p. 125-137, 2000.
- FAUQUET, C. M.; STANLEY, J. Revising the way we conceive and name viruses below the species level: a review of geminivirus taxonomy calls for new standardized isolate descriptors. **Archives of virology**, v. 150, n. 10, p. 2151-2179, 2005.
- FERRO, Camila G. et al. Revealing the complexity of sweepovirus-deltasatellite–plant host interactions: expanded natural and experimental helper virus range and effect dependence on virus-host combination. **Microorganisms**, v. 9, n. 5, p. 1018, 2021.
- FIALLO-OLIVÉ, Elvira et al. Complete genome sequences of two begomoviruses infecting weeds in Venezuela. **Archives of virology**, v. 158, p. 277-280, 2013.

FIALLO-OLIVÉ, Elvira et al. Transmission of begomoviruses and other whitefly-borne viruses: Dependence on the vector species. **Phytopathology**, v. 110, n. 1, p. 10-17, 2020.

FIALLO-OLIVÉ, et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Geminiviridae* 2021. **Journal of General Virology**, v. 102, 2021.

FONTENELE, R.S. First Report of *Macrotidium yellow spot virus* in *Desmodium glabrum* in Brazil. **Plant Disease**, v. 100, p. 657, 2016.

FONTENELLE, M. R., LUZ, D. F., GOMES, A. P. S., FLORENTINO, L. H., ZERBINI, F. M., & FONTES, E. P. Functional analysis of the naturally recombinant DNA-A of the bipartite begomovirus *Tomato chlorotic mottle virus*. **Virus research**, 126(1-2), 262-267, 2007.

FONTES, E.P.B.; LUCKOW, V.A.; HANLEY-BOWDOIN, L. A geminivirus replication protein is a sequence-specific DNA binding protein. **Plant Cell**, v. 4, p. 597-608, 1992.

HANLEY-BOWDOIN, L. KONG, L. J. A geminivirus replication protein interacts with a protein kinase and a motor protein that display different expression patterns during plant development and infection. **The Plant Cell**, 14(8), 1817-1832, 2002

HANLEY-BOWDOIN, L.; SETTLAGE, S.B.; OROZCO, B.M.; NAGAR, S.; ROBERTSON, D. Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 35, p. 105-140, 2000.

HANLEY-BOWDOIN, Linda et al. Geminiviruses: masters at redirecting and reprogramming plant processes. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 11, p. 777-788, 2013.

IDRIS, A. et al. Two newly described begomoviruses of *Macrotidium lathyroides* and common bean. **Phytopathology**, v. 93, p. 774-783, 2003.

INOUE-NAGATA, A.K. et al. A simple method for cloning of the complete begomovirus using the bacteriophage phi 29 DNA polymerase. **Journal of Virological Methods**, v. 11, p. 209-211, 2004.

INOUE-NAGATA, A.K.; LIMA, M.F.; GILBERTSON, R.L. A review of geminivirus (begomovirus) diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. **Hortic. bras.**, v. 34, 18p., 2016.

JOVEL, J., RESKI, G., ROTHENSTEIN, D., RINGEL, M., FRISCHMUTH, T., & JESKE, H. Sida micrantha mosaic is associated with a complex infection of begomoviruses different from *Abutilon mosaic virus*. **Archives of Virology**, 149, 829-841, 2004

KHEYR, K. POUR, A. BANANEJ, G. A. DAFALLA, P. CACIAGLI, E. NORIS, A. AHOONMANESH, H. LECOQ; GRONENBORN, B. *Watermelon chlorotic stunt virus* from the Sudan and Iran: Sequence Comparisons and Identification of a Whitefly-Transmission Determinant, 2000.

KUMAR, S., STECHER, G., LI, M., KNYAZ, C., & TAMURA, K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular biology and evolution**, 35(6), 1547, 2018

LIMA, A.T.M. et al. Synonymous site variation due to recombination explains higher genetic variability in begomovirus populations infecting noncultivated hosts. **Journal of General Virology**, v. 94, p. 418-431, 2013.

LOZANO, Gloria et al. Characterization of non-coding DNA satellites associated with sweepoviruses (genus Begomovirus, Geminiviridae)—definition of a distinct class of begomovirus-associated satellites. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 162, 2016.

MAR, Talita Bernardon et al. Interaction between the New World begomovirus Euphorbia yellow mosaic virus and its associated alpha-satellite: effects on infection and transmission by the whitefly Bemisia tabaci. **Journal of General Virology**, v. 98, n. 6, p. 1552-1562, 2017.

MCGARRY, R.C. et al. A novel Arabidopsis acetyltransferase interacts with the geminivirus movement protein NSP. **Plant Cell**, v. 15, p. 1605-18, 2003.

MELGAREJO, T. A., KON, T., ROJAS, M. R., PAZ-CARRASCO, L., ZERBINI, F. M., & GILBERTSON, R. L. Characterization of a new world monopartite begomovirus causing leaf curl disease of tomato in Ecuador and Peru reveals a new direction in geminivirus evolution. **Journal of virology**, 87(10), 5397-5413, 2013

MENDES, A. L. S. F. et al. High molecular diversity and divergent subpopulations of the begomovirus *Cnidoscolus mosaic leaf deformation virus* associated with *Cnidoscolus urens*. **Archives of Virology**, v. 166, p. 3289-3299, 2021.

MILLER, M.A., PFEIFFER, W., AND SCHWARTZ, T. (2010) "Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees" in Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), v. 14, p. 1-8, 2010.

MORALES, F.J.; ANDERSON, P.K. The emergence and dissemination of whitefly transmitted geminiviruses in Latin America. **Archives of Virology**, New York, v. 146, n. 3, p. 415-441, 2001.

MUBIN, M., SHAHID, M. S., TAHIR, M. N., BRIDDON, R. W., & MANSOOR, S. Characterization of begomovirus components from a weed suggests that begomoviruses may associate with multiple distinct DNA satellites. **Virus Genes**, 40, 452-457, 2010

MUHIRE, B.M.; VARSANI, A., MARTIN, D.P. SDT: A Virus Classification Tool Based on Pairwise Sequence Alignment and Identity Calculation. **PLoS ONE**, v. 9, p. 1-8, 2014.

NAVAS-CASTILLO, Jesús; FIALLO-OLIVÉ, Elvira; SÁNCHEZ-CAMPOS, Sonia. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. **Annual review of phytopathology**, v. 49, p. 219-248, 2011.

NOUEIRY, Amine O.; LUCAS, William J.; GILBERTSON, Robert L. Two proteins of a plant DNA virus coordinate nuclear and plasmodesmal transport. **Cell**, v. 76, n. 5, p. 925-932, 1994.

NYLANDER, J. A., RONQUIST, F., HUELSENBECK, J. P., & NIEVES-ALDREY, J. Bayesian phylogenetic analysis of combined data. **Systematic biology**, 53(1), 47-67, 2001

PAPROTKA, T.; METZLER, V.; JESKE, H. The first DNA 1-like α satellites in association with New World begomoviruses in natural infections. **Virology**, v. 404, n. 2, p. 148-157, 2010.

- PASSOS, L. S., RODRIGUES, J. S., SOARES, É. C. S., SILVA, J. P., ZERBINI, F., ARAÚJO, A. S. F., & BESERRA, J. E. A. Complete genome sequence of a new bipartite begomovirus infecting *Macroptilium lathyroides* in Brazil. **Archives of virology**, 162, 3551-3554, 2017
- PICÓ, Belén; DíEZ, María José; NUEZ, Fernando. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. II. The Tomato yellow leaf curl virus—A review. **Scientia Horticulturae**, v. 67, n. 3-4, p. 151-196, 1996.
- RAJA, P. et al. Viral genome methylation as an epigenetic defense Against geminiviruses. **Journal of Virology**, v. 82, n. 18, p. 8997-9007, 2008.
- RAMBAUT, A. FigTree v1. 4.2, a graphical viewer of phylogenetic trees. 2014.
- RAMOS-SOBRINHO, R. et al. Contrasting genetic structure between two begomoviruses infecting the same leguminous Hosts. **Journal of General Virology**, v. 95, p. 2540–2552, 2014.
- RANNALA, B., & YANG, Z. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method of phylogenetic inference. **Journal of molecular evolution**, 43, 304-311, 1996
- ROCHA, C. S. et al. Brazilian begomovirus populations are highly recombinant, rapidly evolving, and segregated based on geographical location. **Journal of Virology**, v. 87, p. 5784-5799, 2013.
- ROJAS, M.R.; GILBERTSON, R.L.; MAXWELL, D.P. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. **Plant Disease** 77: 340-347, 1993
- ROJAS, M.R.; HAGEN, C.; LUCAS, W.J.; GILBERTSON, R.L. Exploiting chinks in the plant's armor: Evolution and emergence of geminiviruses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 43, p. 361-394, 2005.
- ROMAY, Gustavo et al. Association of an atypical alphasatellite with a bipartite New World begomovirus. **Archives of virology**, v. 155, n. 11, p. 1843-1847, 2010.
- RONQUIST, F. et al. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice across a Large Model Space. **Systematic Biology Advance Access**, v. 61, p. 539-42, 2012.
- ROSARIO, Karyna et al. Begomovirus-associated satellite DNA diversity captured through vector-enabled metagenomic (VEM) surveys using whiteflies (Aleyrodidae). **Viruses**, v. 8, n. 2, p. 36, 2016.
- SAMBROOK J.; RUSSEL D. Molecular Cloning -A Laboratory Manual (3^a ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2001.
- SANDERFOOT, A.A.; LAZAROWITZ, S.G. Getting it together in plant virus movement: cooperative interactions between bipartite geminivirus movement proteins. **Trends in Cell Biology**, v. 6, p. 353-358, 1996.
- SAXENA, S.; TIWARI, A.K. **Begomoviruses: occurrence and management in Asia and Africa**. Springer, 2017.

- SCHUBERT, J. Analysis of complete genomes of isolates of the Wheat dwarf virus from new geographical locations and descriptions of their defective forms. **Virus Genes**, v. 48, p. 133–9, 2014.
- SETTLAGE, S.B.; MILLER, A.B.; HANLEY-BOWDOIN, L. Interactions between geminivirus replication proteins. **Journal of Virology**, v. 70, p. 6790-6795, 1996.
- SILVA, S.J.C. et al. Species diversity, phylogeny and genetic variability of begomovirus populations infecting leguminous weeds in northeastern Brazil. **Plant Pathology**, v. 61, p. 457–467, 2012.
- STANLEY, J. et al. Family Geminiviridae. In *Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier, p. 301–326, 2005.
- SWOFFORD, D. L., & SULLIVAN, J. Phylogeny inference based on parsimony and other methods using PAUP. **The phylogenetic handbook: a practical approach to DNA and protein phylogeny**, cap. 7, 160-206, 2003
- TAVARES, S.S. et al. Further molecular characterization of weed-associated begomoviruses in Brazil with an emphasis on *Sida* spp. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 2, p. 305-315, 2012.
- VANITHARANI, R. et al. Differential roles of AC2 and AC4 of cassava geminiviruses in mediating synergism and suppression of posttranscriptional gene silencing. **Journal of Virology**, v. 78, p. 9487-9498, 2004.
- VARSANI, A. et al. *Capulavirus* and *Grablovirus*: two new genera in the family *Geminiviridae*. **Arch Virol**. 2017; doi:10.1007/s00705-017-3268-6.
- VARSANI, A. et al. Establishment of three new genera in the family *Geminiviridae*: *Becurtovirus*, *Eragrovirus* and *Turncurtovirus*. **Archives of Virology**, Springer Vienna, v. 159, p. 2193-2203, 2014.
- WALSH, D.; MOHR, I. Assembly of an active translation initiation factor complex by a viral protein. **Genes & Development**, v. 20, n. 4, p. 461-472, 2006.
- WANG, H.; BUCKLEY, K.J.; YANG, X.; BUCHMANN, R.C.; BISARO, D.M. Adenosine kinase inhibition and suppression of RNA silencing by geminivirus AL2 and L2 proteins. **Journal of Virology**, Washington, v. 79, p. 7410-7418, 2005.
- ZERBINI, F.M. et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Geminiviridae*. **Journal of General Virology**, v. 98, p. 131-133, 2017.
- ZERBINI, F.M.; CARVALHO, M.G.; MACIEL-ZAMBOLIM, E. **Introdução à Virologia Vegetal**. Viçosa: Ed. UFV, 2002. 145p
- ZHANG, J., DONG, J., XU, Y., & WU, J. V2 protein encoded by *Tomato yellow leaf curl China virus* is an RNA silencing suppressor. **Virus research**, 163(1), 51-58, 2012.
- ZHOU, X. Advances in understanding begomovirus satellites. **Annual Review of Phytopathology**, v. 51, p. 357-381, 2013.
- ZORZATTO, C.; MACHADO, J.P.; LOPES, K.V.; NASCIMENTO, K.J.; PEREIRA, W.A.; BRUSTOLINI, O.J.; REIS, P.A.; CALIL, I.P.; DEGUCHI, M.; SACHETTOMARTINS, G.; GOUVEIA, B.C.; LORIATO, V.A.; SILVA, M.A.; SILVA, F.F.; SANTOS, A.A.; CHORY, J.; FONTES, E.P. NIK1-mediated translation

suppression functions as a plant antiviral immunity mechanism. **Nature**, v. 520, p. 679-682, 2015.