



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS**



**MAYARA OLIVEIRA DE LIMA**

**INCIDÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BADNAVÍRUS EM  
BANANEIRA NO NORDESTE DO BRASIL**

**RIO LARGO - AL  
2024**

**MAYARA OLIVEIRA DE LIMA**

**INCIDÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BADNAVÍRUS EM  
BANANEIRA NO NORDESTE DO BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Proteção de Plantas.

Orientadora: Profa. Dra. Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva

Coorientadora: 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

L732i Lima, Mayara Oliveira de.

Incidência e caracterização molecular de badnavírus em bananeira no nordeste do Brasil. / Mayara Oliveira de Lima. – 2024.

86f.: il.

Orientador(a): Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva.

Coorientador(a): Mayra Machado de Medeiros Ferro.

Tese (Doutorado em Proteção de plantas) – Programa de Pós -Graduação em Proteção de plantas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2025.

Inclui bibliografia.

1. BSOLV. 2. BSGFV. 3. *Caulimoviridae*. 4. *Musa* spp. 5. Diversidade genética.  
I. Título.

CDU: 632.9 : 634.773

FOLHA DE APROVAÇÃO

MAYARA OLIVEIRA DE LIMA

**INCIDÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BADNAVÍRUS EM  
BANANEIRA NO NORDESTE DO BRASIL**

Tese apresentada ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas da Universidade Federal de Alagoas, como requisito à obtenção do título de Doutora em Proteção de Plantas apresentado em 29 de abril de 2024

**Banca examinadora:**

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** SARAH JACQUELINE CAVALCANTI DA SILVA  
Data: 17/06/2025 14:54:08-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

\_\_\_\_\_  
Orientadora – Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva

(Universidade Federal de Alagoas – Campus C

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** GILDEMBERG AMORIM LEAL JUNIOR  
Data: 17/06/2025 15:05:58-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

\_\_\_\_\_  
Examinadora Interno - Prof. Dr. Gildemberg Amorim Leal Júnior

(Universidade Federal de Alagoas – Campus CECA)

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** ADSO LEVI SOARES DE FIGUEIREDO MENDES  
Data: 16/06/2025 17:06:43-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

\_\_\_\_\_  
Examinador Externo - Dr. Adso Levi Soares de Figueiredo Mendes

(Universidade Federal de Alagoas – Campus CECA)

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** ROBERTO RAMOS SOBRINHO  
Data: 17/06/2025 14:35:42-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

\_\_\_\_\_  
Examinador Externo - Prof. Dr. Roberto Ramos Sobrinho

(Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser essencial em minha vida. Autor do meu destino, meu guia, que sempre me abençoou e iluminou meu caminho ao longo de minha vida.

Aos meus pais, João Batista e Lucineide, e ao meu irmão João Lucas, por todo amor, incentivo, apoio e paciência, sendo meu porto seguro.

À Universidade Federal de Alagoas, em especial, ao Campus de Engenharias e Ciências Agrárias e a todos professores e funcionários que contribuíram em toda minha formação acadêmica.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sarah Cavalcanti, que me orientou do PIBIC até aqui, por todo seu ensinamento e confiança em mim e em meu trabalho.

À minha coorientadora Dr<sup>a</sup>. Mayra Ferro, que além de estar sempre ao meu lado durante todos esses anos de laboratório, me ensinando, ajudando, orientando e apoiando, se tornou uma grande amiga que carregarei em meu coração. Serei sempre grata por tudo!

Aos professores Dr. Gaus Silvestre e Dr<sup>a</sup>. Iraildes Assunção pela oportunidade de fazer parte do Laboratório de Fitopatologia Molecular e Virologia Vegetal.

Ao professor Dr. Roberto Ramos Sobrinho, por seus ensinamentos e disposição em sempre me ajudar.

A todos que fizeram e fazem parte do laboratório. Foram longos anos que estarão marcados em meu coração, muitos estiveram ao meu lado nos momentos de trabalho, aflição, descontração e desabafos, que me ajudaram a chegar até aqui e contribuíram com ensinamentos essenciais para minha formação, em especial a técnica Lauristela e a todos professores, pós doutorandos e alunos de iniciação científica e da pós-graduação que cruzaram meu caminho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas CECA/UFAL, principalmente aos professores e colegas de turma, pela oportunidade de construir mais um degrau em minha formação.

A CAPES pela bolsa concedida.

E a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização desse trabalho. Deus continue os abençoando!

Agradecida!

O maior incentivo que você pode ter na vida é imaginar diariamente a sensação maravilhosa que sentirá quando alcançar sua conquista.

Autor desconhecido

## RESUMO

O Brasil é o quarto maior produtor de bananas do mundo, com destaque para região Nordeste, que contribui com cerca de 35% da produção nacional. No entanto, a produtividade da cultura no país é considerada baixa, sendo atribuída, principalmente, a problemas fitossanitários. A principal forma de propagação da cultura da banana é por micropropagação em massa, o que contribui para o acúmulo de patógenos, especialmente vírus. A estria da bananeira é uma das mais importantes viroses da cultura, causada por um complexo de nove diferentes espécies do grupo *banana streak viruses* (BSVs) (gênero *Badnavirus*, família *Caulimoviridae*), que são naturalmente transmitidos por cochonilhas (*Pseudococcidae*). Embora a doença esteja presente no Brasil há anos, estudos sobre a diversidade e variabilidade de badnavírus ocorrentes em bananeiras são escassos. Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo determinar a incidência e caracterização molecular de badnavírus que infectam bananeira na região Nordeste do Brasil através do sequenciamento de alto rendimento (*high throughput sequencing* - HTS) em plataforma *Illumina*. Foram testados primers universais para o gênero *Badnavirus* e primers espécie-específicos para detecção de *Badnavirus deltavirgamusae* (BSOLV), *Badnavirus alphavirgamusae* (BSGFV) e *Badnavirus betavirgamusae* (BSIMV). Foi observada uma alta incidência de infecção por badnavírus em todos os estados do Nordeste onde realizou-se coletas, entretanto, não foi detectado infecção por BSIMV. Amostras PCR-positivas para prováveis infecções episomais foram parcialmente sequenciadas na região transcriptase reversa (RT)-ribonuclease H (RNase H), as quais compartilharam maior identidade nucleotídica com *banana streak YM virus* (BSYMV). Um genoma completo contendo 7263 pb foi obtido, por HTS, que corresponde a primeira sequência completa de *Badnavirus alphavirgamusae* (comumente denominado BSGFV) no Brasil.

**Palavras-chave:** BSOLV, BSGFV, *Caulimoviridae*, *Musa* spp., diversidade genética.

## ABSTRACT

Brazil is the fourth largest producer of bananas in the world, with emphasis on the Northeast region, which contributes with about 35% of national production. However, the productivity of the crop in the country is considered low, being attributed mainly to phytosanitary problems. The main form of banana crop propagation is by mass micropropagation, which contributes to the accumulation of pathogens, especially viruses. Banana streak is one of the most important viruses of the crop, caused by a complex of nine different species of banana streak virus (BSV) [genus *Badnavirus*, family *Caulimoviridae*], which are also transmitted by mealybugs (*Pseudococcidae*). Although the disease has been present in Brazil for years, studies on the diversity and variability of badnaviruses occurring in banana trees are scarce. Thus, this work aimed to determine the incidence and characterization of badnaviruses that infect banana trees in northeastern Brazil and to obtain the complete genome through high-throughput sequencing using the Illumina platform. Universal primers for the genus *Badnavirus* and species-specific primers for detection of *Badnavirus deltavirgamusae* (BSOLV), *Badnavirus alphavirgamusae* (BSGFV) and *Badnavirus betavirgamusae* (BSIMV) were tested. As a result, a high incidence of badnavirus infection was observed in all Northeastern states where samples were analyzed, but BSIMV infection was not detected. Samples likely from episomal infections were partially sequenced in the RT/RNaseH region, which shared greater nucleotide identity with BSMYV. A genome containing 7,263 bp was obtained by HTS, which corresponds to the first complete sequence of *Badnavirus alphavirgamusae* (BSGFV) in Brazil.

**Keywords:** BSOLV, BSGFV, *Caulimoviridae*, *Musa* spp., genetic diversity

## LISTA DE FIGURAS

### REVISÃO DE LITERATURA

**Figura 1.** Representação esquemática da organização genômica do gênero *Badnavirus*.....21

### PRIMEIRO CAPÍTULO

**Figura 1.** Plantas de bananeira nas áreas de coleta com sintomas indicativos de infecção por badnavírus; Plantas de bananeira nas áreas de coleta com a presença do inseto-vetor, cochonilha; Plantas de *Commelina difusa*, espécie-tipo do gênero *Badnavirus* com sintomas típicos de infecção.....52

**Figura 2.** Gráfico bidimensional de comparações par-a-par para sequências da região genômica RT/RNase H de isolados virais. .... 53

**Figura 3.** Árvore filogenética de Inferência Bayesiana baseada nas sequências parciais da região RT/RNaseH de isolados virais. .... 54

### SEGUNDO CAPÍTULO

**Figura 1.** Organização genômica dos badnavírus recém-descobertos *Badnavirus alphavirgamusae* (BSGFV-BR) infectando *Musa* spp .....78

**Figura 2.** Gráfico bidimensional de comparações par-a-par para sequências do genoma completo isolados virais que infectam *Musa* spp .....79

**Figura 3.** Árvore filogenética de Inferência Bayesiana baseada nas sequências do genoma completo de isolados virais que infectam *Musa* spp .....80

**Figura 4.** Neighbor-net mostrando genomas completos baseados em evolução não semelhante a uma árvore de badnavírus que infectam banana ..... 81

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1.</b> Espécies do complexo <i>Banana streak virus</i> reconhecidas pelo ICTV .....   | 55 |
| <b>Tabela 2.</b> Quantidade de amostras foliares de bananeira coletadas por município do Nordeste brasileiro, durante os anos de 2021, 2022 e 2023 .....  | 56 |
| <b>Tabela 3.</b> Primers utilizados para amplificação da região genômica RT/RNaseH de badnavírus infectando bananeiras.....   | 57 |
| <b>Tabela 4.</b> Sequências depositadas no GenBank e utilizadas nas comparações par-a-par (SDT) e na construção da árvore filogenética e com base nos domínios da RT/RNaseH dos <i>Badnavirus</i> ..... | 57 |
| <b>Tabela 5.</b> Amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no Nordeste do Brasil.....   | 58 |
| <b>Tabela 6.</b> Amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no estado de Alagoas.....  | 59 |
| <b>Tabela 7.</b> Amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no estado de Pernambuco.....                                       | 59 |
| <b>Tabela 8.</b> Amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no estado de Sergipe.....  | 60 |
| <b>Tabela 9.</b> Amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no estado da Bahia.....  | 60 |
| <b>Tabela 10.</b> Amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no estado da Paraíba.....   | 60 |
| <b>Tabela 11.</b> Amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no estado do Ceará.....   | 61 |
| <b>Tabela 12.</b> Amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específico no estado do Rio Grande do Norte.....                              | 61 |

## **CAPÍTULO II**

**Tabela 1.** Amostras submetidas à amplificação do DNA viral circular por RCA .....82

**Tabela 2.** Eventos putativos de recombinação detectados nos badnavírus que infectam a banana, com base em sequências genômicas completas ..... 84

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>  | <b>13</b> |
| <b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>   | <b>15</b> |
| 2.1 <i>Musa</i> spp. – classificação botânica, origem e importância econômica.....   | 15        |
| 2.2 Infecção de <i>Musa</i> spp. por fitovírus .....   | 16        |
| 2.3 Família <i>Caulimoviridae</i> .....  | 18        |
| 2.4 Gênero <i>Badnavirus</i> .....   | 19        |
| 2.5 Diversidade de badnavírus infectando a cultura de <i>Musa</i> spp.....   | 22        |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>   | <b>26</b> |
| <b>3 CAPÍTULO I - INCIDÊNCIA E DIVERSIDADE POPULACIONAL DE<br/>BADNAVÍRUS QUE INFECTAM BANANEIRAS NO NORDESTE DO<br/>BRASIL.....</b>               | <b>33</b> |
| Resumo .....   | 34        |
| 3.1 Introdução .....   | 35        |
| 3.2 Material e Métodos .....   | 36        |
| 3.3 Resultados .....   | 38        |
| 3.4 Discussão .....  | 41        |
| Conclusão .....  | 46        |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>   | <b>47</b> |
| <b>4 CAPÍTULO II – DETECÇÃO EPISSOMAL E SEQUENCIAMENTO DO<br/>GENOMA COMPLETO DE <i>Banana alphavirgamusae</i> EM BANANEIRA NO<br/>BRASIL.....</b> | <b>62</b> |
| Resumo .....   | 63        |
| 4.1 Introdução .....   | 64        |
| 4.2 Material e Métodos .....   | 65        |
| 4.3 Resultados .....   | 68        |
| 4.4 Discussão .....  | 69        |
| Conclusão .....  | 73        |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>   | <b>74</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa* spp.) é uma planta herbácea pertencente à família *Musaceae*, com origem no Sudeste Asiático e no Pacífico Ocidental. Atualmente, seu cultivo é amplamente difundido em mais de 130 países. O Brasil é o quarto maior produtor, ficando atrás apenas da Índia, China e Indonésia, com uma produção de 6,8 milhões de toneladas em uma área plantada de 453 mil hectares, que movimenta cerca de R\$ 10 bilhões por ano (EMBRAPA, 2023; FAO, 2021).

A banana é a fruta *in natura* mais consumida no mundo, o que confere à cultura uma grande importância socioeconômica. Ela constitui a principal fonte de renda em muitas regiões e desempenha um papel fundamental na geração de empregos rurais (Ribeiro *et al.*, 2013; Ganga, 2002). A região Nordeste do Brasil possui a maior extensão de áreas cultivadas de bananais, abrangendo 35% da produção nacional, sendo responsável por cerca de 2,38 milhões de toneladas. Os maiores produtores são Bahia, Pernambuco e Ceará. Alagoas ocupa a sexta posição, com uma produção de 108.231 toneladas e uma área plantada de 8.682 ha no ano de 2022. (IBGE, 2022).

A produtividade média da cultura no país é de 15 t/ha, sendo considerada baixa. Um dos principais fatores que contribuem para isso é a ausência de cultivares resistentes a doenças, incluindo àquelas ocasionadas por vírus. Dentre os vírus que incidem nos cultivos no Brasil, merecem destaque os *Badnavirus* (família *Caulimoviridae*). Estes são pararetrovírus com genoma de DNA fita dupla (dsDNA) semicircular, com 7.2 – 9.2 kpb de comprimento, encapsidados em partículas baciliformes, os quais replicam através de um intermediário de RNA (Geering; Hull, 2012). Badnavírus que infectam bananeira são transmitidos horizontalmente por cochonilhas, e verticalmente por micropropagação em massa, principal forma para propagar a cultura comercialmente (Bhat *et al.*, 2016). Além disso, badnavírus são capazes de se integrar no genoma da bananeira na forma de sequências endógenas pararetrovirais (EPRV's), representando um grande desafio para taxonomia, diagnose e movimento de germoplasma (Bhat *et al.*, 2016; Ferreira *et al.*, 2019).

A estria da bananeira é uma das doenças mais importantes e está amplamente distribuída em todas as áreas de cultivo do mundo, incluindo o Brasil. A doença é causada por um complexo de nove diferentes espécies de badnavírus do grupo *banana streak virus* (BSV) (Bhat *et al.*, 2023). Diversos estudos revelam uma alta diversidade e variabilidade genética em badnavírus que infectam banana na Índia e África (James *et al.*, 2011). Um

cenário contrastante ocorre no Brasil, onde até o momento, apenas três espécies, *Badnavirus deltavirgamusae*, *Badnavirus alphavirgamusae* e *banana streak Uganda virus* (BSUgBV) foram identificadas molecularmente como agente causal da doença (Poltronieri et al., 2009; Carnelossi et al., 2014; Farias et al., 2018). É provável que a diversidade de espécies de badnavírus ocorrendo no Brasil seja subestimada. Um fator que corrobora com essa hipótese são os raros estudos sobre a diversidade genética e variabilidade de badnavírus ocorrendo em bananeira no país, especialmente na região Nordeste. Até o presente estudo, não existem sequências do genoma completo dos BSVs que incidem em bananeiras no país.

A determinação da diversidade de badnavírus é uma importante ferramenta para estudar como estes evoluem e suas implicações na implementação de estratégias de controle de fitoviroses. Portanto, este trabalho teve por objetivo determinar a incidência e caracterização molecular de badnavírus que infectam bananeiras na região Nordeste do Brasil.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *Musa* spp.: classificação botânica, origem e importância econômica

A família *Musaceae* (ordem Zingiberales) é composta por espécies monocotiledôneas herbáceas tropicais (Angiosperm Phylogeny Group, 2009) distribuídas entre três gêneros: *Musella* (Franch.), *Ensete* e *Musa* L., que é o gênero mais numeroso e mundialmente disseminado (Liu et al., 2002; Väre; Häkkinen, 2011; Roux et al., 2008).

A bananeira (*Musa* spp.) possui ampla distribuição geográfica, sendo cultivada em todas as regiões tropicais do mundo (Jones, 2000; Roux et al., 2008). Não se pode indicar com exatidão a origem da bananeira, entretanto, é admitido que a maioria das cultivares tenha se originado no Sudoeste Asiático, ainda que haja centros de origem secundários como na África Oriental e nas ilhas do Pacífico (Castro et al., 2008).

Estes frutos podem ser divididos em duas principais categorias: bananas de sobremesa e bananas para cocção. Bananas de sobremesa podem ser consumidas quando maduras, contém considerável quantidade de açúcar e são facilmente digeríveis (Jones, 2000), enquanto as bananas de cocção são usualmente amiláceas quando maduras e necessitam ser cozidas, fritas ou assadas para se tornarem palatáveis (Jones, 2000).

A banana verde apresenta alto conteúdo de amido, geralmente 20 a 25% do peso fresco da polpa do fruto verde, mas durante o seu amadurecimento ocorre a hidrólise desse amido e aumento da concentração de açúcares. Na banana madura, o teor de amido é apenas 1 a 2%, podendo variar com o tipo de cultivar (Mota; Lajolo; Cordenunsi, 1997).

Grande parte das variedades comerciais cultivadas de banana são derivadas de hibridizações de grupos selvagens das espécies *Musa acuminata* (genoma A) e *M. balbisiana* (genoma B) e, em menor proporção, *Musa schizocarpa* (genoma S) e *Musa textilis/Musa maclayi* (genoma T) (Daniells et al., 2001; Karanja et al., 2008, D'Hont et al., 2012). As variedades de bananeira mais difundidas no Brasil são: Prata, Pacovan, Prata Anã, Maçã, Mysore, Terra e D'Angola pertencentes ao grupo AAB e utilizadas unicamente para o mercado interno. Já as do grupo genômico AAA, Nanica, Nanicão e Grande Naine são usadas, principalmente, para exportação e industrialização. Em menor escala, também são plantadas a Ouro (AA), Figo Cinza e Figo Vermelho (ABB), Caru Verde e Caru Roxa (AAA). (Borges et al., 2009).

A banana é um dos mais importantes alimentos básicos do mundo fornecendo uma fonte vital de carboidratos para muitos habitantes dos trópicos úmidos (Karanja et al.,

2008; Christelová *et al.*, 2011). Para muitos países, além de ser um alimento complementar da dieta da população, apresenta grande relevância social e econômica. Em outros países, a banana é um produto de exportação responsável por uma parte muito significativa dos ingressos relativos à exportação agrícola (FIORAVANÇO, 2003).

No ranking dos maiores países produtores mundiais de banana, a Índia ocupa a primeira posição, com produção de aproximadamente 33 milhões de toneladas (Mt), seguido pela China (12 Mt) e Indonésia (8,7 Mt) (FAOSTAT, 2021). No Brasil, a banana é cultivada em todos os estados, desde a faixa litorânea até os planaltos do interior. O clima favorável possibilita a produção e a oferta da fruta o ano todo, colocando o país na quarta posição do ranking, com produção de 6,9 Mt em uma área colhida de 457.910 ha, e rendimento médio de 14,9 t/ha (IBGE, 2022). As regiões Sudeste e Nordeste merecem destaque, contribuindo com 68,6% da produção nacional. Em 2022, a região Nordeste produziu 2,4 Mt, tendo os estados da Bahia (0,8 Mt), Pernambuco (0,5 Mt) e Ceará (0,4 Mt) como os maiores produtores de banana dessa região. Alagoas ocupa a sexta posição, com produção de 0,1 Mt (IBGE, 2022).

A produtividade da banana no país é considerada baixa devido a uma série de fatores, dentre os quais merece destaque as doenças ocasionadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus, que são responsáveis por elevadas perdas na cultura (Borges *et al.*, 2009).

## 2.2 Infecção de *Musa* spp. por fitovirose

Espécies de *Musa* são propagadas vegetativamente usando rebentos ou mudas provenientes de cultura de tecidos, sendo propensas ao acúmulo de pragas e patógenos, especialmente vírus. Além de contribuir para a redução da produtividade e qualidade dos frutos, os vírus que infectam *Musa* spp. constituem barreiras para o intercâmbio internacional de germoplasma (Bhat *et al.*, 2016).

Diversos vírus são conhecidos por infectar bananas, dentre os mais importantes economicamente estão: *banana bunchy top virus* (BBTV; gênero *Babuvirus*, família *Nanoviridae*) (King *et al.*, 2012), que atualmente é uma praga quarentenária ausente no Brasil (Brandão *et al.*, 2017). Teve seu primeiro relato em Fiji em 1889, embora tenha evidências anteriores (Thomas; Iskra-Caruana, 2000). Nas plantas infectadas pelo BBTV, as folhas são mais estreitas, com tamanho reduzido, e ficam eretas lembrando um leque, além de apresentarem clorose marginal com mosqueado nas brácteas (Thomas, 2015).

Plantas afetadas podem não produzir cachos ou produzir frutos atrofiados e deformados (Meissner Filho; Brioso, 2000; Promusa, 2016; Thomas, 2015); b) *banana bract mosaic virus* (BBrMV; gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*), amplamente distribuído na Índia, Filipinas e Sri Lanka (Rodoni; Dale; Harding, 1999), mas já foi relatado na Colômbia e na Costa Rica (Alarcon et al., 2006). As plantas afetadas apresentam lesões cloróticas nas folhas, manchas no pseudocaule e faixas descontínuas nas brácteas das inflorescências. Teve seu primeiro relato nas Filipinas, em 1979, causando perdas de até 40% na produção (Caruana, 2003). c) *cucumber mosaic virus* (CMV; gênero *Cucumovirus*, família *Bromoviridae*) (Kumar et al, 2015). Seu complexo de sintomas recebe o nome de mosaico da bananeira, variando de lesões na forma de mosaico que se concentram no terço médio do limbo foliar, podendo causar necrose conforme a idade da planta e grau de infestação. Foi descrita pela primeira vez na Austrália, em 1930 (Brioso et al., 2000), e desde então é largamente disseminada pelo mundo. No Brasil, ocorrem surtos em bananeais jovens localizados no Vale do São Francisco (Silva-Neto; Silva, 2009).

Espécies de *Musa* também são suscetíveis a cinco outros vírus de menor importância como o *Abaca mosaic virus* (gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*), *Abaca bunchy top virus* (gênero *Babuvirus*, família *Nanoviridae*), *banana mild mosaic virus* (BanMMV) e *banana virus X* (BVX), ambos membros da família *Betaflexiviridae* (Sharman et al., 2008; Teycheney et al., 2007; Gambley et al., 2004). Entretanto, o de maior destaque é o complexo de espécies do *banana streak virus* (BSVs; gênero *Badnavirus*, família *Caulimoviridae*), que são conhecidas por sua distribuição mundial (Bhat et al., 2016). Até o momento, somente CMV e BSV têm sido relatados afetando a cultura da banana no Brasil (Brioso et al., 2000, Carnelossi et al., 2014; Alves, 2013; Brioso et al., 2011; Sant'Ana, 2013; Figueiredo et al., 2006).

No Brasil, o BSV foi relatado pela primeira vez em uma infecção mista com CMV, no estado de São Paulo, em mudas de bananeira da cv. Mysore (Brioso et al., 2000). Os sintomas causados pelo CMV são muito semelhantes àqueles causados pelo BSV (Lockhart et al., 1993). Posteriormente, foi detectado BSV em amostras coletadas em diferentes regiões do país, especificamente nos estados do Acre, Amazonas, Bahia, Ceará, Goiás, Minas Gerais, Piauí, Rio de Janeiro, Rondônia e Santa Catarina (Figueiredo; Brioso, 2007; Figueiredo et al., 2006), tendo seu primeiro relato em frutos no país no estado do Amazonas em 2011 (Brioso et al., 2011). Existem trabalhos demonstrando a ocorrência e diversidade de espécies de BSV em alguns estados do país (Carnelossi et al.,

2014; Alves, 2013; Brioso *et al.*, 2011; Sant'Ana, 2013; Figueiredo *et al.*, 2006), inclusive com a identificação de possíveis novas espécies de BSV.

### 2.3 Família *Caulimoviridae*

A família *Caulimoviridae* inclui vírus de plantas com genoma circular de DNA de fita dupla (dsDNA), não covalentemente fechado, de comprimento entre 7,1-9,8 kpb (Teycheney *et al.*, 2020). Membros desta família são classificados como pararetrovírus, um termo utilizado para definir vírus de plantas que se replicam por transcrição reversa, onde o genoma é diretamente transcrito em RNA mensageiro, sintetizado a partir do genoma original e transcrito de volta para DNA. Pararetrovírus diferem dos retrovírus com base em seu genoma de DNA e integração passiva no genoma do hospedeiro, não sendo necessário codificar uma enzima integrase para completar seu ciclo de replicação (Bhat *et al.*, 2016; Temin, 1985).

Com base nos critérios tipo de inseto vetor, gama de hospedeiros, organização genômica e relacionamento filogenético, as 99 espécies da família *Caulimoviridae* são distribuídas em 11 gêneros: *Badnavirus* (n=69) e *Tungrovirus* (n=2), que possuem partículas baciliformes; *Caulimovirus* (n=13), *Cavemovirus* (n=3), *Petuvirus* (n=1), *Rosadnavirus* (n=1), *Ruflodivirus* (n=1), *Solendovirus* (n=2) e *Soymovirus* (n=5), com partículas isométricas; *Dioscovirus* (n=1) e *Vaccinivirus* (n=1), sem morfologia definida (Bhat *et al.*, 2023). Esses gêneros são separados de acordo com a gama de hospedeiro, especificidade do vetor e sequência de nucleotídeos da região de codificação conservada da transcriptase reversa (RT) - Ribonuclease H (RT/RNase H). Já as espécies dessa família, são demarcadas com base na identidade de sequência RT/RNase H (King *et al.*, 2012; ICTV, 2023).

A maioria dos gêneros têm gama de hospedeiros restrita a plantas dicotiledôneas, entretanto, *Tungrovirus* e *Dioscovirus* infectam monocotiledôneas e *Badnavirus* infectam mono ou dicotiledôneas. Os membros desta família são amplamente distribuídos geograficamente, com a maioria das espécies dos gêneros *Tungrovirus*, *Badnavirus* e *Dioscovirus* localizadas em regiões tropicais e subtropicais, e os demais membros encontrados especialmente em áreas temperadas (Teycheney *et al.*, 2020).

Dependendo do gênero, a transmissão natural do vírus pode ocorrer por meio de um inseto vetor (Ordem: Hemiptera; Famílias: Aleyrodidae, Aphididae, Cicadellidae e

Pseudococcidae) ou pelo contato com plantas hospedeiras, bem como por sementes ou pólen e por propagação vegetativa. A transmissão também pode ser realizada por técnicas como inoculação mecânica e enxertia (Fauquet *et al.*, 2005; Teycheney *et al.*, 2020). Infecções causadas por espécies da família *Caulimoviridae* induzem sintomas variados que dependem da espécie viral, hospedeira e condições climáticas. Mosaico ou clareamento de nervura são sintomas que predominam nas infecções causadas por *Caulimovirus*, *Cavemovirus*, *Petuvirus*, *Rosadnavirus*, *Solendovirus* e *Soymovirus*, enquanto os sintomas mais frequentes induzidos por *Tungrovirus* e *Badnavirus* são estrias cloróticas ou necróticas, não apenas na lâmina foliar, mas também na nervura central, na bainha das folhas e no pedúnculo, nanismo, estrias amarelas-laranja e descoloração foliar (Bhat *et al.*, 2023; Teycheney *et al.*, 2020). *Ruflodivirus deformationrudbeckiae*, a única espécie do gênero *Ruflodivirus*, induz sintomas severos de deformação floral e filoidia, usualmente associados a infecções com fitoplasma (Lockhart *et al.*, 2017).

Sequências virais de pararetrovírus podem estar dispersas no genoma das plantas, originárias de uma infecção viral anterior que se prendeu à linhagem germinativa. Tais sequências são conhecidas como sequências endógenas de pararetrovírus (*Endogenous Pararetroviral Sequences – EPRVs*) e constituem a classe mais abundante de sequências virais endógenas em diferentes espécies vegetais (Gayral; Iskra-Caruana, 2009). Sequências endógenas da família *Caulimoviridae* foram descritas em 27 espécies de nove famílias de plantas e derivam dos gêneros *Caulimovirus*, *Petuvirus*, *Badnavirus*, *Solendovirus* e dos gêneros putativos *Orendovirus* e *Florendovirus* (Geering; Scharaschkin; Teycheney, 2010). A maioria dos EPRVs são não funcionais e incompletas, com alguns EPRVs competentes em replicação ocorrendo nas hospedeiras *Musa balbisiana*, *Petunia hybrida* e *Nicotiana edwardsonii* (Gayral; Iskra-Caruana, 2009; Teycheney; Geering, 2011)

#### 2.4. Gênero *Badnavirus*

*Badnavirus* é o segundo maior gênero entre os vírus de plantas com genoma de DNA e o mais numeroso da família *Caulimoviridae*, com 69 espécies atualmente reconhecidas pelo ICTV (<https://talk.ictvonline.org>). A origem do nome *Badnavirus* (*bacilliform DNA virus*) está relacionada à forma baciliforme de sua partícula viral e associada a constituição do seu genoma (DNA) (Migliori; Lastra, 1978). *Badnavirus*

possuem genoma dsDNA circular com aproximadamente 7,0 a 9,2 kpb de comprimento, com uma descontinuidade em cada uma das fitas e são encapsidados em partículas baciliformes não envelopadas com dimensões de 30 nm x 130 a 150 nm (Teycheney *et al.*, 2020).

Os *Badnavirus* codificam três ORFs conservadas (ORF I, II e III; Figura 1), entretanto, algumas espécies podem apresentar ORFs adicionais como: *Badnavirus maculapiperis* (*Piper yellow mottle virus* - PYMoV), *Bougainvillea spectabilis chlorotic vein banding virus* (BsCVBV), *Badnavirus etadioscoreae* (*Dioscorea bacilliform SN virus* - DBSNV), *Badnavirus decoloratiovitis* (*grapevine Roditis leaf discoloration-associated virus* - GRLDaV), *Badnavirus alphacolocalasiae* (*taro bacilliform virus* - TaBV) e *Badnavirus maculasmallanti* (*Yacon necrotic mottle virus* - YNMoV) que possuem uma ORF adicional; *cacao swollen shoot viruses* (CSSVs) e *Badnavirus tessellostypnolobii* (*pagoda yellow mosaic associated virus* - PYMAV), possuem duas; *Badnavirus tessellocitri* (*Citrus yellow mosaic virus* - CiYMV) e *Badnavirus alphacolocalasiae* (*Taro bacilliform CH virus* - TaBCHV), possuem três ORFs adicionais; e *Badnavirus macularacaenae* (*Dracaena mottle virus* - DrMV) e *Badnavirus reterubi* (*Rubus yellow net virus* - RYNV) possuem quatro ORFs adicionais (Bhat *et al.*, 2016). A proteína ORF1 está associada ao vírion (Cheng *et al.*, 1996) e a ORF2 codifica uma proteína de ligação a ácido nucleico (Jacquot *et al.*, 1996). A maior é a ORF3, que codifica uma poliproteína compreendendo os domínios do capsídeo viral e da proteína de movimento, a aspartato protease responsável pela clivagem da poliproteína e os domínios da transcriptase reversa (RT) e ribonuclease H (RNase H) envolvidos na replicação viral (Medberry *et al.*, 1990; Harper; Hull, 1998; Geering; Hull, 2012; Teycheney *et al.*, 2020). A demarcação das espécies de *Badnavirus* é baseada na gama de espécies hospedeiras, especificidade do vetor e determinação da sequência nucleotídica da região genômica que inclui os domínios RT-RNase H. O ICTV estabeleceu um critério de  $\geq 80\%$  de identidade nucleotídica para sequências de RT-RNase H (Geering; Hull, 2012; Teycheney *et al.*, 2020).

**Figura 1.** Organização genômica da ORF3 do gênero *Badnavirus* que infecta bananeira, compreendendo importantes domínios conservados, como proteína de movimento (VMP), proteína do capsídeo (CP), protease aspartato (AP), transcriptase reversa (RT) e ribonuclease H (RNase H).



**Fonte:** Pooggin *et al.*, 1999

Espécies incluídas no gênero *Badnavirus* infectam culturas economicamente importantes como cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) (Lockhart *et al.*, 1988), banana (*Musa* spp.) (Lockhart; Olszewki, 1993), cacau (*Theobroma cacao* L.) (Posnette, 1944), *Citrus* spp. (Ahlawat *et al.*, 1996), pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) (Lockhart *et al.*, 1997), inhames (*Dioscorea* spp.) (Phillips *et al.*, 1999), taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott.) (Yang *et al.*, 2003), videira (*Vitis* sp.) (Cieniewicz *et al.*, 2020), batata-doce (*Ipomoea batatas*) (Kreuze *et al.*, 2009) e abacaxi (*Ananas comosus*) (Thomson *et al.*, 1996).

A disseminação dos badnavírus ocorre principalmente por propagação vegetativa e inseto vetor. A transmissão natural pode ser realizada por diferentes espécies de cochonilhas como *Sacharicoccus sacchari*, *Planococcus citri*, *Planococcoides njalensis*, *Dysmicoccus neobrevipes*, *Ferrisia virgata* e *Pseudococcus solomonensis*. Enquanto as espécies *Badnavirus venaribis* (*gooseberry vein banding associated virus*), *Badnavirus reterubi* (*Rubus yellow net virus*) e *Badnavirus maculaspirae* (*Spiraea yellow leaf spot virus*) são transmitidas por pulgões. Já a espécie *Badnavirus maculapiperis* (*Piper yellow mottle virus*) é transmitida por cochonilhas (*P. citri* e *F. virgata*) e pelo percevejo *Diconocoris distanti* (Lockhart *et al.*, 1997; Bhat *et al.*, 2016; Teycheney *et al.*, 2020).

Transmissão por sementes tem sido relatada para as algumas espécies, como *Badnavirus maculacommelinae* (*Commelina yellow mottle virus*), *Badnavirus maculacalanchoes* (*Kalanchoe top-spotting virus*), *Badnavirus maculapiperis*, *Badnavirus etainflatheobromae* (*cacao swollen shoot Togo B virus*) e *Badnavirus alphacolocalasie* (*taro bacilliform virus*) (Hearon *et al.*, 1984; Quainoo *et al.*, 2008; Hareesh; Bhat, 2010; Deeshma *et al.*, 2014; Bhat *et al.*, 2016.).

Os badnavírus causam sintomas variáveis dependendo da espécie viral e do hospedeiro, podendo ser assintomáticos, leves e moderados a graves que são influenciados por fatores abióticos, especialmente condições ambientais e estado nutricional da cultura. Portanto, os sintomas não são critérios confiáveis para a detecção de infecção por badnavírus em uma planta (Bhat *et al.*, 2023). Mosaico, mosqueado clorótico, estrias necróticas, clorose de nervuras, clorose, deformação e redução do tamanho são os sintomas mais frequentes observados em infecções causadas por diferentes espécies do gênero (Bhat *et al.*, 2016; Geering; Hull, 2012).

## 2.5 Diversidade de badnavírus infectando a cultura de *Musa* spp.

O complexo do vírus *banana streak virus* (BSV) causa a doença da estria da bananeira e é conhecido por serem os vírus mais amplamente distribuídos em *Musa* spp. em todo o mundo (Bhat *et al.*, 2023). A doença foi observada, pela primeira vez, no Vale de Nieky, na Costa do Marfim, em 1958 (Lockhart; Jones, 2000) e, em 1964, uma doença grave, naquele momento não identificada, foi relatada na cultivar de banana triploide *M. acuminata* (AAA) Gros Michel. Lockhart (1986) purificou partículas baciliformes de banana anã (AAA) em campos no sul do Marrocos, confirmando a etiologia viral da doença, por isso, algumas literaturas consideram o primeiro relato sendo em Marrocos no ano de 1974 (Bhat *et al.*, 2023). Desde seu primeiro relato, BSV tem sido observado em muitos países da África, Ásia, América do Sul e Central, do Pacífico e, provavelmente, ocorre em todas as áreas de plantio de banana do mundo (Lockhart, 1994; Kumar *et al.*, 2015; Lockhart; Jones, 2000; Bhat; Selvarajan; Balasubramanian, 2023).

Os principais sintomas de BSV em *Musa* spp. são: pontos e estrias foliares cloróticas descontínuas que evoluem para estrias necróticas, paralelamente às nervuras da lâmina foliar e divisão do pseudocaule; divisão e apodrecimento do pseudocaule; deformação dos frutos; diminuição do vigor da planta e da produção de frutos (Bhat *et al.*, 2023). Geralmente, os sintomas são distribuídos de forma irregular na planta e não são mostrados em todas as folhas (Bhat *et al.*, 2016). Alguns isolados produzem retardo de crescimento com estrias necróticas severas, resultando em necrose da folha de charuto e levando rapidamente à morte da planta (Thangavelu *et al.*, 2000). Em alguns casos, necrose interna, emergência despadronizada do cacho, divisão da casca do fruto, e manchas necróticas dos frutos também são vistas (Bhat *et al.*, 2016). Os estágios

sintomáticos e assintomáticos se alternam em plantas infectadas, mas o vírus pode ser detectado em todos os estágios (Harper *et al.*, 2002; Lockhart; Jones, 2000).

O BSV não é transmitido mecanicamente e sua disseminação no campo ocorre horizontalmente por transmissão semipersistente mediada por cochonilha, dentre as quais *Planococcus citri* é a mais prevalente. Sua principal forma de disseminação ocorre através da transmissão vertical por mudas oriundas de micropropagação em massa e rebentos infectados (Bhat *et al.*, 2016).

Existem duas formas infecciosas de BSV: a) a forma epissomal, forma ativa da infecção, que ocorre após a transmissão do vírus por cochonilhas ou que pode ser desencadeada a partir de uma infecção endógena após a planta ser submetida a um estresse abiótico; e b) formas endógenas que são sequências virais de BSV (eBSV) integradas no genoma da banana (*M. balbisiana*) (Lockhart, 1994; Kumar *et al.*, 2015).

Por muito tempo, BSVs foram descritos como uma única espécie causando a estria clorótica da bananeira. Atualmente, um complexo de nove espécies distintas de BSVs, reconhecidas pelo ICTV, já foi atribuído como agente causal a doença: *Badnavirus alphavirgamusae*, *Badnavirus betavirgamusae*, *Badnavirus gammavirgamusae*, *Badnavirus deltavirgamusae*, *Badnavirus epsilonvirgamusae*, *Badnavirus zetavirgamusae*, *Badnavirus etavirgamusae*, *Badnavirus thetavirgamusae* e *Badnavirus iotavirgamusae* (ICTV, 2023; Bhat; Hohn; Selvarajan, 2016) (Tabela 1 e Anexo 1). Existem ainda outras espécies putativas como *Banana streak CA virus*, *Banana streak Peru virus*, *Banana streak UJ virus*, *Banana streak United Kingdom virus* e *Banana streak acuminata Yunnan virus*, as quais aguardam o reconhecimento do ICTV (Bhat *et al.*, 2023).

Para conhecer a diversidade do vírus, uma filogenia final de BSV foi estabelecida para esclarecer se as sequências parciais distribuídas pelos três cladogramas principais do gênero *Badnavirus* correspondem a vírus epissomais com ou sem uma contraparte endógena. Com base no relacionamento filogenético, as espécies de BSV podem ser ordenadas em três cladogramas: o clado 1 inclui várias espécies que causam a estria da bananeira em todo o mundo; o clado 2 abrange os badnavírus endógenos *Musa* sem contrapartes epissomais; e o clado 3 consiste em todas as espécies de BSV de Uganda, exceto BSUAV (Gayral; Iskra-Caruana, 2009; Iskra-Caruana *et al.*, 2014).

Várias espécies de *Musa* A (*M. acuminata*), B (*M. balbisiana*) e S (*M. schizocarpa*) podem abrigar em seu genoma sequências endógenas de BSV (eBSV)

(Geering *et al.*, 2005). Essas sequências endógenas são atualmente encontrados em infecções por BSOLV, BSGFV, BSIMV e BSMYV (Staginnus *et al.*, 2009), presentes em sua maioria em grupos de banana oriundas de cruzamentos com *M. balbisiana* (genoma B). Outras sequências de badnavírus endógenos nomeadas por Geering *et al.* (2005) como BEV (*banana endogenous badnavirus*), não possuem uma contraparte episomal identificada. Estes, provavelmente, correspondem a eventos de integração antigos de vírus ancestrais do BSV e são amplamente distribuídos entre todos os genomas de *Musa* (Iskra-Caruana *et al.*, 2014a; Iskra-Caruana *et al.*, 2014b, D'Hont *et al.*, 2012; Gayral *et al.*, 2009).

A maioria das sequências de badnavírus integradas ao genoma da bananeira são defeituosas como resultado da pseudoendogenização conduzida por evolução do genoma da hospedeira. Contudo, no genoma de *M. balbisiana*, três eBSVs são infectivos (Chabannes *et al.*, 2013; Gayral *et al.*, 2008; Ndowora *et al.*, 1999) e contêm genomas virais completos. O resgate do vírus infeccioso (forma episomal, dsDNA) de eBSVs foi relatado apenas para BSOLV, BSIMV e BSGFV. Este evento ocorreu por meio da ativação por cultura de tecidos, hibridização, ou diferença de temperatura em bananas híbridas interespecíficas recém-criadas (Côte *et al.*, 2010; Dallot *et al.*, 2001; Ndowora *et al.*, 1999). Sequências integradas não ativadas de outros eBSVs e BEVs são fragmentadas, reorganizadas e têm mutações inativadoras. Estas são defectivas para replicação e, portanto, não infecciosas (Geering *et al.*, 2005; Gayral; Iskra-Caruana, 2009).

As espécies de BSVs compreendem um grupo altamente diversificado e estudos recentes mostraram que suas subpopulações exibem altos níveis de variabilidade genética (Sharma *et al.*, 2015). Eventos de mutação e recombinação putativa podem estar envolvidos com os altos níveis de variabilidade genética e diversidade observada em *Badnavirus* (Ferreira *et al.*, 2019).

Um estudo da variabilidade e estrutura populacional de BSV ocorrendo na Índia demonstrou que as taxas de substituição de nucleotídeos variaram de  $1,59 \times 10^{-2}$  e  $7,13 \times 10^{-3}$  para subpopulações de BSMYV e de  $2,65 \times 10^{-3}$  a  $5,49 \times 10^{-3}$  nas subpopulações de BSOLV para diferentes regiões codificadoras. Também foram encontrados eventos de recombinação intra e interespecíficos. Estes eventos tinham como *hot-spots* a região intergênica e a região C-terminal da ORF3 (Sharma *et al.*, 2015).

No Brasil, há vários relatos de isolados de BSVs distintos causando estria da bananeira nos estados do Acre, Amazonas, Bahia, Ceará, Goiás, Minas Gerais, Paraná,

Piauí, Rio de Janeiro, Rondônia, Santa Catarina e São Paulo. No entanto, apenas três foram identificados em nível de espécies, causando infecções epissomais: *Badnavirus deltavirgamusae*, *Badnavirus alphavirgamusae*, e *Banana streak Uganda virus* (Brioso *et al.*, 2011; Figueiredo *et al.*, 2006; Poltronieri *et al.*, 2009; Carnelossi *et al.*, 2014). Até o momento, estudos para determinar a variabilidade e estrutura de populações de BSVs causando esta doença em banana e outras espécies de *Musa* no país ainda não foram realizados.

## REFERÊNCIAS

- AHLAWAT Y.S., PANT R.P., LOCKHART B.E.L., SRIVASTAVA M., CHAKRABORTY N.K., VARMA A. Association of a badnavirus with citrus mosaic disease in India. **Plant Disease**. v.80 p. 590–592. 1996, DOI: 10.1094/PD-80-0590.
- ALARCON, J.J et al. Banana bract mosaic virus. **Agron**, 14:65. 2006.
- ALVES, P. C. M. S. **Detecção e caracterização molecular de isolados de Banana Streak Vírus (BSV) no Brasil**. Dissertação (Biotecnologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras. Lavras - Minas Gerais, p. 74, 2013.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society** 161:105-121, 2009.
- BHAT, A.I.; HOHN. T.; SELVARAJAN, R. Badnaviruses: The Current Global Scenario. **Viruses**, 2016.
- BHAT, A.I.; SELVARAJAN, R.; BALASUBRAMANIAN, V. Emerging and Re-Emerging Diseases Caused by Badnaviruses. **Pathogens**, Basel, Switzerland, 12(2), 245. 2023. DOI <https://doi.org/10.3390/pathogens12020245>
- BORGES, A.L.; PEIXOTO, C. A. B.; SOUZA L. da S.; SANTOS JUNIOR, J. L. C. Sistema radicular da bananeira fertirrigada por microaspersão, em três combinações de nitrogênio e potássio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 19, 2006. Cabo Frio. **Anais...**Cabo Frio: SBF, 2006. p.520-520.
- BRANDÃO; S. C. N.; BARBOSA, C. de J.; OLIVEIRA, M. Z. A. de; SILVA, S. X. de B. Vírus quarentenários para a bananicultura brasileira: Banana Bunchy Top vírus (BBTV) e *Banana bract mosaic virus* (BBrMV). Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2017. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Comunicado Técnico, 163).
- BRIOSO, P.S.T.; CORDEIRO, Z.J.M.; REZENDE, J.A.M.; KITAJIMA, E.W.; PIMENTEL, J.P.; FIGUEIREDO, A.R. Infecção mista em bananeiras pelos vírus do mosaico do pepino (“*Cucumber Mosaic Virus*”, CMV) e da risca da bananeira (“*Banana Streak Virus*”, BSV) no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v.26, n.2, p. 254-257, 2000.
- BRIOSO, P. S. T.; PEREIRA, J. C.R.; GASPAROTTO, L. Ocorrência de *badnavirus* em frutos de bananeira no estado do Amazonas, Brasil. **Revista Brasileira Fruticultura**, V. 33, N. 4, P. 1353-1355, 2011.
- CARNELOSSI, P.; BIJORA, T.; FACCO, C. U.; SILVA, J. M.; PICOLI, M. H. S.; SOUTO, E. R.; OLIVEIRA, F. T. Epissomal detection of *Banana Streak OL virus* in single and mixed infection with *Cucumber mosaic virus* in banana ‘Nanicão Jangada’. **Tropical Plant Pathology**, v.39, n.4, p.342-346, 2014.

CARUANA, M. L. Banana bract mosaic potyvirus – BBrMV: ARP. CIRAD – França. 2003.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; SESTARI, I. **Manual de Fisiologia Vegetal: fisiologia dos cultivos** – Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 864p. 2008.

CHABANNES, M.; BAURENS, F. C.; DUROY, P. O.; BOCS, S.; VERNEREY, M. S.; GOUD, M. R.; BARBE, V.; GAYRAL, P.; ISKRA-CARUANA, M. L. Three infectious viral species lying in wait in the Banana Genome. **Journal of Virology**, v.87, p.862-863, 2013.

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.

CHRISTELOVÁ et al.: A multi gene sequence-based phylogeny of the *Musaceae* (banana) family. **BMC Evolutionary Biology** 11:103. 2011

CIENIEWICZ, E.J.; QIU, W.; SALDARELLI, P.; FUCHS, M. Believing is seeing: Lessons from emerging viruses in grapevine. **Journal of Plant Pathology**, 102, 619–632, 2020.

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. **Molecular Plant Pathology**, 11:137–144, 2010. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2009.00583.x.

D'HONT, A.; DENOEUDE, F.; AURY, J.-M.; BAURENS, F.-C.; CARREEL, F.; GARSMEUR, O.; NOEL, B.; BOCS, S.; DROC, G.; ROUARD, M.; et al. The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. **Nature**, 488, 213–217, 2012.

DALLOT S., ACCUNA P., RIVERA C., RAMIREZ P., COTE F., LOCKHART B.E.L., CARUANA M.-L. Evidence that the proliferation stage of micropropagation procedure is determinant in the expression of *Banana streak virus* integrated into the genome of the FHIA21 hybrid (*Musa* AAAB) **Archives of Virology**. 146:2179–2190. 2001. DOI 10.1007/s007050170028

DANIELLS, J.; JENNY, C.; KARAMURA, D.; TOMEKPE, K. Diversity in the Genus *Musa*. In: ARNAUD, E.; SHARROCK, S. (Ed.). *Musa logue: a catalogue of Musa* germplasm. **Montpellier: INIBAP**, p.213, 2001.

DEESHMA K P, BHAT A.I Further Evidence Of True Seed Transmission Of Piper Yellow Mottle Virus In Black Pepper (*Piper Nigrum* L.) **Journal of Plantation Crops**. 42: 289-293, 2014

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA Mandioca e Fruticultura – Base de dados dos produtos – Banana, 2023. Disponível em: [https://www.cnpmf.embrapa.br/Base\\_de\\_Dados/index\\_pdf/dados/mundo/banana/w1\\_banana.pdf](https://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/mundo/banana/w1_banana.pdf)

FAO - ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA (FAO). **FAO no Brasil: Fortes perspectivas de crescimento para produção.** Relatório 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/pt/c/1193684/>. Acesso em: 06 de Jun 2021

FAOSTAT - Food and agricultural commodities production. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QI>. Acesso em: 20 de janeiro de 2024.

FARIAS, A.R.G.; FIGUEIRA, A.R.; GERALDINO, P.S.; POMPEU, D.C. First Report of the Occurrence of Banana Streak Goldfinger Virus (BSGFV) in the State of Minas Gerais, Brazil. **Advances in Biotechnology and Microbiology** 10(5): AIBM.MS.ID.555799. 2018.

FAUQUET, C. et al. Virus taxonomy. Eight Report of the International committee on Taxonomy of Viruses. Amsterdam. **Elsevier**, 2005.

FERREIRA, C.H.L.H. et al. Diversification in to the genus Badnavirus: phylogeny and population genetic variability. **Ciência Agrícola**. Rio Largo. v.17. n.2, p. 59-72, 2019.

FIGUEIREDO, D. V.; BRIOSO, P. S. T. PCR multiplex para a detecção de BSV e CMV em bananeiras micropropagadas. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 3, p. 229-232, 2007.

FIGUEIREDO, D. V.; MEISSNER FILHO, P. E.; SILVA NETO, S. P.; BRIOSO, P. S. T. Detection and analysis of Banana streak vírus (BSV) sequences variability of banana from Brazil. **Summa Phytopathologica**, v.32, n. p. 118-123, 2006.

FIORAVANÇO, J. C. Mercado mundial de banana: produção, comércio e participação brasileira. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.33 n.10, out. 2003.

GAMBLEY, C.F., THOMAS, J.E., MAGNAYE, L.V. et al. Abacá mosaic virus: A distinct strain of Sugarcane mosaic virus. **Australasian Plant Pathology** 33, 475–484. 2004. DOI <https://doi.org/10.1071/AP04050>

GANGA, R.M.D. Resultados parciais sobre o comportamento de seis cultivares de banana (*Musa* spp) em Jaboticabal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17, 2002, Belém. **Anais...** Belém Embrapa/DDT, 2002. CD- ROM.

GAYRAL, P.; ISKRA-CARUANA, M.-L. Phylogeny of *Banana streak virus* reveals recent and repetitive end organization in the genome of its banana host (*Musa* sp.) **Journal of Molecular Evolution** . 69, 65–80 2009,

GAYRAL, P.; NOA-CARRAZANA J.C.; LESCOT, M.; LHEUREUX, F.; LOCKHART, B.E.; MATSUMOTO, T.; PIFFANELLI, P.; ISKRA-CARUANA, M.L. A Single Banana Streak Vírus Integration Event in the Banana Genome as the Origin of Infectious Endogenous Pararetrovirus. **Journal of Virology**. v. 82, n. 13, p. 6697-6710; 2008.

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.

GEERING A D, SCHARASCHKIN T, TEYCHENEY P Y. The Classification And Nomenclature Of Endogenous Viruses Of The Family Caulimoviridae. **Archives of Virology** 155: 123-31, 2010.

HAREESH, P.S.; BHAT, A.I. Seed transmission of Piper yellow mottle virus in black pepper (*Piper nigrum* L.). **Journal of Plantation Crops**, v. 38, n. 1, p. 62-65, 2010.

HARPER G., HULL R., LOCKHART B.E.N., OLSWESKI N. Viral sequences integrated in to plant genomes. **The Annual Review of Phytopathology**.40:119–136. 2002. DOI 10.1146/annurev.phyto.40.120301.105642.

HARPER, G.; HULL, R. Cloning and sequence analysis of banana streak vírus DNA. **Vírus Genes**, v.17, n., p. 271-278, 1998.

HEARON, S. S.; LOCKE, J. C. Graft, pollen and seed transmission of an agent associated with top spotting in *Kalanchoe blossfeldiana*. **Phytopathology**, v. 74, p. 347-50, 1984.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo agropecuário 2019. Cidades; Lavoura Permanente, 2021.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção agropecuária – Banana, 2022 – Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/banana/br>

ICTV - International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) Virus Taxonomy: 2021 Release. Available online: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>. Acesso em: 15 de Julho de 2023

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**, 225: 191-195, 1996.

JAMES, A. P. et al. Molecular characterization of six Badnavirus species associated with leaf streak disease of banana in East Africa. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 158, p. 346-53, 2011.

JONES, D.R. (Ed.). Diseases of Banana, Abaca and Enset. Wallingford: CAB International. 2000.

KARANJA, L.; WANGAI, A.; HARPER, G.; PATHAK,R.S. “Molecular Identification of *Banana streak virus* Isolates in Kenya,” **Journal of Phytopathology**, Vol. 156, No. 11-12, 2008, pp. 678-686. DOI 10.1111 / j.1439-0434.2008.01415.x

KING, A. M. Q., Adams, M. J., Lefkowitz, E. J., &Carstens, E. B. (Eds.) Virus taxonomy: Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. NY, USA: **Elsevier Academic Press**. 2012.

KREUZE, J.F.; PEREZ, A.; UNTIVEROS, M.; QUISPE, D.; FUENTES, S.; BARKER, I.; SIMON, R. Complete viral genome sequence and discovery of novel viruses by deep sequencing of small RNAs: A generic method for diagnosis, discovery and sequencing of viruses. **Virology**, 388, 1–7, 2009,

KUMAR, P.L.; SELVARAJAN, R.; ISKRA-CARUANA, M.-L.; CHABANNES, M.; HANNA, R. Biology, etiology, and control of virus diseases of banana and plantain. **Adv. Virus Research**. 91, 229–269. 2015,

LIMA, M.O., FERRO, M.M.M., RAMOS-SOBRINHO, R. *et al.* DNA virome of Brazilian sugarcane germplasm via high-throughput sequencing reveals divergent badnavirus species. **Tropical Plant Pathology**. 48, 713–719, 2023. DOI <https://doi.org/10.1007/s40858-023-00606-4>

LIU A-Z, KRESS WJ, WANG H, LI D-Z. Insect pollination of *Musella* (Musaceae), a monotypic genus endemic to Yunnan, China. **Plant Systematic and Evolution** 235: 135- 146. 2002.

LOCKHART B.E. L.; JONES, D. R. Banana streak virus. In: Jones DR (ed) Diseases of Banana. Abaca and Enset, **CABI Publishing**, 2000.

LOCKHART, B.E.L. and N.E. OLSZEWSKI. Serological and genomic heterogeneity of banana streak *Badnavirus*: implications for virus detection in *Musa* germplasm. Pages 105–113. *IN: G. PIETERSEN and J.E. THOMAS. Overview of Musa virus diseases. Plant virology in sub-Saharan Africa*. 1993.

LOCKHART B.E.L. Purification and serology of a bacilliform virus associated with banana streak disease. **Phytopathology**. 76:995–999, 1986. DOI 10.1094/Phyto-76-995

LOCKHART B.E.L., KIRTISAK K.A., JONES P., PADMINI D.D., OLSZIEWSKI N.E., LOCKHART N., NUARCHAN D., SANGALANG J. Identification of *Piper yellow mottle virus*, a mealy bug transmitted badnavirus infecting *Piper* spp. in south East Asia. **European Journal of Plant Pathology**. 103:303–311, 1997. doi: 10.1023/A:1008699414536

LOCKHART B.E.L., AUTREY L.J.C. Occurrence in sugarcane of a bacilliform virus related serologically to *banana streak virus*. **Plant Disease**. 72:230–233. 1988. DOI 10.1094/PD-72-0230

LOCKHART, B.E.L. Development of detection methods for banana streak virus (BSV). INIBAP Annual Report, p. 20. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France. 1994.

MEDBERRY S L, LOCKHART B E L, OLSZEWSKI N E Properties Of Commelina Yellow Mottle Virus Complete Dna Sequence, Genomic Discontinuities And Transcript Suggest That It Is A Pararetrovirus. **Nucleic Acids Research**, 18: 5505-5513, 1990.

MEISSNER FILHO, P.E. & BRIOSO P.S.T. Frutas do Brasil. Banana fitossanidade. Doenças causadas por vírus. Brasília. **Embrapa**. p.78-81, 2000.

MIGLIORI, A.; LASTRA, R. Study of viruses on *Commelina diffusa* Burm. in Guadeloupe. **Annales de Phytopathologie**, v. 4, p. 467-77, 1978.

MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Composição em carboidratos de alguns cultivares de banana (*Musa spp.*) durante o amadurecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 2, p. 94-97, 1997.

NDOWORA, T.; DAHAL, G.; LAFLEUR, D.; HARPER, G.; HULL, R.; OLSZEWSKI, N.; LOCKHART, B. Evidence that Badnavirus infection in *Musa* can originate from integrated sequences. **Virology**, v.255, p.214-220, 1999.

PHILLIPS, S. et al. The partial characterization of a Badnavirus infecting the greater asiatic or water yam (*Dioscorea alata*). **Journal of Phytopathology**, v. 147, p. 265-269, 1999.

POLTRONIERI, L.S.; FIGUEIREDO, D.V.; BRIOSO, P.S.T.; VERZIGNASSI, J.R.; CARDOSO, S.S. Constatação do Banana streak Uganda B virus em bananeiras no Estado do Pará. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 35, n. 1, p. 74, 2009.

QUAINOO A.K., WETTEN A.C., ALLAINGUILLAUME J. Transmission of cocoa swollen shoot virus by seeds. **Journal of Virological Methods**. 150:45–49, 2008. DOI 10.1016/j.jviromet.2008.03.009.

RIBEIRO, L. R.; OLIVEIRA, L. M.; SILVA, S. O. E.; BORGES, A. L. Avaliação de cultivares de bananeira em sistema de cultivo convencional e orgânico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 508-517. Jaboticabal – São Paulo, 2013.

RODONI, B. C., Dale, J. L., & Harding, R. M. Characterization and expression of the coat protein-coding region of banana bract mosaic potyvirus, development of diagnostic assays and detection of the virus in banana plants from five countries in South east Asia. **Archives of Virology**, 144, 1725–1737, 1999.

ROUX N, BAURENS F-C, DOLEŽEL J, HŘIBOVÁ E, HESLOP- HARRISON P, TOW C, SASAKI T, MATSUMOTO T, AERT R, REMY S, SOUZA M, LAGODA P. Genomics of banana and plantain (*Musa spp.*), major staple crops in the tropics. In: MOORE PH, MING R. Genomics of tropical crop plants. New York: Springer, 83–111. 2008.

POOGING MM, FUTTERE J, SKRYABIN KG, HOHN TA. A short open Reading frame terminating in front of a stable hairpin is the conserved feature in pregenomic RNA leaders of plant pararetroviruses. **Journal of General Virology**. 1999 (Pt 8): 2217-2228. DOI: 10.1099/0022-1317-80-8-2217.

SANT'ANA, M. M. **Ocorrência do Banana Streak vírus (BSV) e do Cucumber mosaic vírus (CMV) em cultivo convencional e orgânico de bananeiras (*Musa spp.*) no Vale do Ribeira**. p. 83. Dissertação (Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio). Instituto Biológico, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. São Paulo, p. 83, 2013.

SHARMA S.K., VIGNESH KUMAR P., GEETANJALI A.S., PUN K.B., BARANWAL V.K. Subpopulation level variation of banana streak viruses in India and common evolution of banana and sugarcane badnaviruses. **Virus Genes**, 50:450–465. 2015; DOI 10.1007/s11262-015-1179-8

SHARMAN M, THOMAS JE, SKABO S, HOLTON TA. Abacá bunchy top virus, a new member of the genus Babuvirus (family Nanoviridae). **Archives of Virology**. 153(1):135-47, 2008. DOI 10.1007/s00705-007-1077-z. Epub 2007 Nov 5. PMID: 17978886.

SILVA NETO, S.P., SILVA, M.S. Cultura de tecidos no controle de viroses da bananeira no Brasil. **Documentos Embrapa Cerrados**, 29p. 2009.

TEMIN, H. M. Reverse transcription in the eukaryotic genome: Retroviruses, pararetroviruses, retrotransposons, and retro transcripts. **Molecular Biology and Evolution**, v. 2, p.455-468, 1985.

TEYCHENEY P.-Y., ACINA I., LOCKHART B.E.L., CANDRESSE T. Detection of Banana mild mosaic virus and Banana virus X by polyvalent degenerate oligonucleotide RT-PCR (PDO-RT-PCR) **Journal of Virological Methods**, 142 (1-2) , pp. 41-49. 2007

TEYCHENEY, P. Y.; GEERING, A. D. W. Recent Advances in **Plant Virology**. In: CARANTA C.; ARANDA M. A.; TEPFER M.; LÓPEZ-MOYA J. J. Caister: Academic Press, pp. 343–362, 2011.

TEYCHENEY P-Y, GEERING ADW, DASGUPTA I, HULL R, KREUZE JF et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Caulimoviridae*. **Journal of General Virology**, 2020. DOI 10.1099/jgv.0.001497

THANGAVELU, R., SELVARAJAN, R & SINGH, H.P. Status of banana streak virus and banana bract mosaic virus diseases in India. *Banana: Improvement, production and utilization*. 364-376, 2000.

THOMAS, J.E.; LOCKHART, B.E.L.; ISKRA-CARUANA, M.-L. Banana mild mosaic virus. In: JONES, D. R. (Ed.). *Disease of banana, abaca and enset*. London: **CABI Publishing**. p. 275–279, 2000.

THOMSON, KG; DIETZGEN, RG; THOMAS, JE; TEAKLE, D.S. Detection of pineapple bacilliform virus using polymerase chain reaction. **Annals of Applied Biology** . 129, 57–69, 1996.

VÄRE H, HÄKKINEN M. Typification and check-list of Ensete Horan names (Musaceae) with nomenclatural notes. **Adansonia** 3, 33(2): 191–200, 2011. DOI 10.5252/a2011n2a3

YANG, I.C., HAFNER, G.J., DALE, J.L., HARDING, R.M. Genomic characterization of taro bacilliform virus. **Archives of Virology**. 148:937-949, 2003.

## **CAPÍTULO I**

### **INCIDÊNCIA DE BADNAVÍRUS EM BANANEIRA NO NORDESTE DO BRASIL**

## RESUMO

A doença estria da bananeira, causada por um complexo de espécies de badnavírus dentro do grupo *banana streak virus* (BSV), é amplamente distribuída nas áreas de cultivo de bananeira em todo o mundo. As espécies de BSVs podem infectar a planta na sua forma epissomal (genoma dsDNA circular), ou como sequências virais endógenas (eBSV) completas ou parciais inseridas no genoma do hospedeiro. Portanto, BSVs impõem grandes desafios para a produção, diagnose e movimento de germoplasma, constituindo importante ameaça para cultura da bananeira. No Brasil, as espécies *Badnavirus alphavirgamusae* (*banana streak GF virus* - BSGFV), *Badnavirus deltavirgamusae* (*banana streak OL virus* - BSOLV) e *banana streak Uganda virus* (BSUgBV), foram identificadas como agente causal da estria da bananeira. No entanto, estudos sobre a diversidade de espécies de BSV causando esta doença na região Nordeste são escassos. Portanto, esse estudo teve como objetivo determinar a incidência do gênero *Badnavirus* em áreas de produção de sete estados dessa região. Para isso, 510 amostras exibindo sintomas típicos de infecção por BSV ou assintomáticas foram coletadas. Sequências parciais dos domínios da RT-RNase H foram amplificadas por PCR e sequenciadas pelo método Sanger. Para a distinção entre infecções epissomais e endógenas, o DNA total das amostras foi usado como molde para amplificação do genoma viral via *Rolling Circle Amplification* (RCA). Níveis de incidência de 89,60% foram encontrados para detecção de *Badnavirus* utilizando primers para o gênero. Enquanto a incidência por BSGFV foi de 68,43%, a de BSOLV foi estimada em 61,69%, com 48,82% das amostras apresentando infecções mistas por ambos BSGFV e BSOLV. Nas análises moleculares, os isolados foram separados em dois grupos, apresentando maior identidade nucleotídica com a sequência de *banana streak MY virus* (BSMYV).

**Palavras-chave:** *Musa* spp., *banana streak virus*, *Caulimoviridae*, EPRVs

### 3.1 INTRODUÇÃO

A região Nordeste do Brasil possui a maior extensão de áreas cultivadas de bananais, abrangendo 35% da produção nacional, sendo responsável por cerca de 2,4 milhões de toneladas. A produtividade da cultura no país está em torno de 15 t/ha, sendo considerada baixa (IBGE, 2022). Um dos principais fatores que contribuem para isso é a ausência de cultivares resistentes a doenças, incluindo àquelas ocasionadas por viroses, destacando os *Badnavirus* (Família *Caulimoviridae*) (Bhat *et al.*, 2016).

Os badnavírus são pararetrovírus que possuem dsDNA circular, não covalentemente fechado e replicam por meio de um intermediário de RNA (Teycheney *et al.*, 2020). Um complexo do badnavírus *Banana streak virus* (BSV) causa a doença da estria clorótica da bananeira, observada pela primeira vez na Costa do Marfim, em 1958 (Lockhart & Jones, 2000). Atualmente, BSV é considerado o vírus mais amplamente distribuído infectando *Musa* spp. em todas as áreas que cultivam banana no mundo (Bhat *et al.*, 2023). Nove espécies aceitas pelo *International Committee on Virus Taxonomy* (ICTV) estão inseridas nesse complexo: *Badnavirus alphavirgamusae* (BSGFV); *Badnavirus betavirgamusae* (BSIMV), *Badnavirus gammavirgamusae* (BSMYV), *Badnavirus deltavirgamusae* (BSOLV), *Badnavirus epsilonvirgamusae* (BSUAV), *Badnavirus zetavirgamusae* (BSUIV), *Badnavirus etavirgamusae* (BSULV), *Badnavirus thetavirgamusae* (BSUMV) e *Badnavirus iotavirgamusae* (BSVNV) (ICTV, 2023).

A principal forma de disseminação de BSV consiste na transmissão vertical através de mudas provenientes de micropropagação em massa e rebentos infectados. No entanto, em condições de campo, podem ser transmitidos, horizontalmente, de forma semipersistente, por cochonilha, sendo a mais prevalente *Planococcus citri* (Risso) (Javer-Higginson *et al.*, 2014) *Planococcus minor* (Maskell), *Saccharicoccus sacchari* (Cockerell), *Dysmicoccus neobrevipes* (Cockerell) e cerca de outras 10 espécies (Hemiptera: Pseudococcidae) também foram identificadas como vetores de BSVs (Bhat *et al.*, 2016).

Infecções epissomais de BSVs (genoma circular) induzem sintomas foliares típicos de estrias clorótica ou necrótica. Em muitos casos, as infecções podem ser assintomáticas, uma vez que esses vírus podem ocorrer na forma de sequências virais endógenas (eBSV) integradas no cromossomo da hospedeira (Bhat *et al.*, 2023). Alguns eBSVs (BSOLV, BSGFV e BSIMV), podem ser ativados nas suas formas epissomais

quando submetidos a condições de estresse abiótico como temperatura e cultura de tecidos (Ndowora *et al.*, 1999; Dallot *et al.*, 2001; Harper *et al.*, 2002; Côte *et al.*, 2010). A presença de eBSVs no genoma da bananeira interfere na detecção baseada em PCR por gerar resultados falso positivos. Um método que inclui amplificação do genoma viral via RCA, seguido de PCR, tem sido usado com sucesso para diferenciar infecções causadas por formas endógenas (eBSVs) e epissomais (BSVs) de badnavírus em bananeira (Bhat *et al.*, 2016).

Diferentes badnavírus estão associados à doença da estria da bananeira, no Brasil, no entanto, infecções epissomais foram relatadas apenas para os vírus BSOLV, BSGFV e BSUGBV (Brioso *et al.*, 2011, Figueiredo *et al.*, 2006, Poltronieri *et al.*, 2009, Carnelossi *et al.*, 2014). Os relatos de ocorrência da doença foram descritos principalmente em estados das regiões Norte e Sudeste do país. Informações sobre a incidência e diversidade de espécies de BSVs, ocorrendo em bananeira na região Nordeste, são incipientes. Portanto, nesse estudo foi determinada a incidência de formas endógenas e epissomais de badnavírus causando estria da bananeira na região nordeste do Brasil, como forma de ampliar o conhecimento sobre a diversidade dessas espécies. Informações fornecidas nesse estudo podem contribuir para implementação de métodos de controle, diagnose e movimento seguro de germoplasma de bananeira.

## 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.2.1 Obtenção dos isolados virais

Foram coletadas amostras foliares de bananeiras assintomáticas e com sintomas indicativos de infecção por BSV, como estrias cloróticas, em áreas de produção nos estados de Sergipe, Bahia, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará (Tabela 2). Nessas áreas, foi identificada a presença do inseto-vetor, cochonilha, da planta não cultivada, *Commelina* sp. apresentando sintomas indicativos de infecção por badnavírus, e de frutos apresentando sintomas típicos de infecção por badnavírus (Figura 1). A presença de *Commelina* sp. apresentando sintomas nas áreas de cultivo teve importância significativa pois o primeiro relato de badnavírus, ocorreu nessa espécie de planta não-cultivada.

As amostras foliares foram acondicionadas em sacos de papel e armazenadas em ultra freezer a -80°C até o seu processamento no Laboratório de Fitopatologia Molecular

e Virologia Vegetal, do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo - AL.

O DNA total foi extraído, individualmente, a partir de cada amostra foliar seguindo o protocolo CTAB (Doyle & Doyle, 1987) adaptado por Ramos-Sobrinho, 2020.

### 3.2.2 Detecção de badnavírus e incidência de BSVs causando a estria da bananeira na região nordeste

O DNA total foi utilizado com molde para reações de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) para detecção de amostras infectadas por badnavírus usando os primers universais degenerados BADNA-FP e BADNA-RP (Tabela 3) que amplificam os domínios RT/RNaseH da ORF III do genoma dos membros de *Badnavirus* (Yang *et al.* 2003). Posteriormente, primers espécie-específicos foram utilizados para detecção de BSOLV, BSGFV e BSIMV (Tabela 3; Chabannes *et al.*, 2021).

As reações foram realizadas em volume final de 15 µL, contendo 1,5 µL de tampão 10x (KCl 100 mM, Tris-HCl 100 mM pH 9,0, Triton-X 1%), 1,2 µL de dNTPs 2,5 mM, 0,4 µL de MgCl<sub>2</sub> 50 mM, 0,2 µL da Taq DNA Polimerase, 0,7 µL de DMSO 1,0 µL de cada oligonucleotídeo, 1 µL (50ng) de DNA total e 8,0 µL de água ultrapura. As condições de termociclagem consistiram em uma desnaturação inicial de 94°C por 4 minutos e 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 50°C (BADNA FR/RP) ou 56,4°C (primers espécie-específicos) por 30 segundos e extensão a 72°C por um minuto, seguido de uma extensão final a 72°C por 10 minutos. Os produtos da amplificação foram analisados em gel de agarose a 1% em tampão TBE (Tris-Borato-EDTA), corado com brometo de etídeo e visualizado sobre luz ultravioleta.

A determinação da porcentagem de incidência das espécies de BSV em bananeira nas áreas de coleta foi determinada pela seguinte fórmula:

$$\text{Porcentagem de incidência} = \frac{\text{Amostras infectadas} \times 100}{\text{Amostras coletadas}}$$

Para detectar badnavírus ocorrendo na forma epissomal, os produtos positivos para PCR, utilizando os primers universais, foram enriquecidos via RCA (Inoue-Nagata, 2004), utilizando o kit Templiphi™ 100 amplification (Cytiva), seguindo as recomendações do fabricante. Posteriormente, as amostras foram submetidas a uma nova reação de PCR para verificar se o vírus estava presente de forma epissomal ou integrada ao genoma da planta (endógena).

### 3.2.3 Análises de sequência e demarcação de espécies

As amostras que testaram positivas para infecção por badnavírus, tiveram os produtos de PCR diretamente sequenciados na empresa MacroGen Inc., Seul, Coréia do Sul. Sequências nucleotídicas correspondentes a região RT/RNase H dos badnavírus foram montadas utilizando o programa CodonCode Aligner v. 4.1.1 ([www.codoncode.com](http://www.codoncode.com)). As sequências foram inicialmente analisadas com o algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1990) e com o banco de dados de nucleotídeos não-redundante GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank)) para determinar as espécies virais com as quais elas compartilham maior identidade de sequência. Sequências de badnavírus de banana obtidas a partir do GenBank foram utilizadas para demarcação de espécie dos isolados de badnavírus com base na análise de sequências pareadas no programa SDT, Sequence Demarcation Tool v. 1.2 (Muhire *et al.*, 2013) (Tabela 4).

### 3.2.4 Análises filogenéticas

Alinhamentos múltiplos de sequências nucleotídicas dos badnavírus provenientes de banana disponíveis no GenBank foram preparados para o conjunto de dados RT/RNaseH utilizando-se o algoritmo MUSCLE (Edgar, 2004), e ajustados manualmente no pacote MEGA 7.0 (Kumar *et al.*, 2015). O alinhamento do conjunto de dados RT/RNaseH foi usado para determinar o relacionamento filogenético dos badnavírus através de uma árvore filogenética de Inferência Bayesiana realizada no *web portal* CIPRES (Miller *et al.*, 2010) usando o MrBayes v.3.2.3 (Ronquist *et al.*, 2012). O melhor modelo de substituição de nucleotídeos foi determinado para cada conjunto de dados usando o MrModeltest 2.3 (Posada & Buckley, 2004) de acordo com o Akaike Information Criterion (AIC). A árvore foi visualizada no programa FigTree v.14 ([ztree.bio.ed.uk/software/figtree](http://ztree.bio.ed.uk/software/figtree)) e editada no software Adobe Illustrator (<https://www.adobe.com/br/products/illustrator.html>).

## 3.3 RESULTADOS

### 3.3.1 Detecção de isolados virais e incidência de BSVs causando a estria da bananeira na região Nordeste

Um total de 510 amostras foliares de bananeira foram obtidas em diferentes áreas de cultivo nos estados do Nordeste brasileiro (Tabela 5-12). Fragmentos com aproximadamente 580pb foram observados para 457 amostras, submetidas amplificação da região RT/RNaseH, direcionada pelo par de primers BADNAFP/RP. Adicionalmente, 316 amostras testaram positivas para o primer que detecta infecção por BSOLV, 349 amostras para BSGFV e 249 para infecção mista de BSGFV e BSOLV. Nenhuma amostra testou positiva para o primer espécie-específico para BSIMV. A maior parte das amostras testadas positivas, não apresentavam sintomas indicativos de infecção por badnavírus.

Foi determinada uma incidência de 89,60% de infecção pelo gênero *Badnavirus*, 61,69% de infecção por BSOLV, 68,43% de infecção por BSGFV e 48,82% de infecção mista dos vírus no Nordeste brasileiro.

Taxas de incidência de badnavírus superiores a 90% foram encontradas na maioria dos estados da Região Nordeste. Os estados da Bahia, Sergipe e Paraíba foram os mais afetados, onde o vírus foi detectado em 100% das amostras. A menor incidência (78,8%) foi observada em Alagoas.

BSGFV foi o badnavírus predominantemente encontrado em Alagoas, Rio Grande do Norte, Sergipe, Paraíba e Pernambuco. O vírus incidiu em 100% das amostras de Sergipe, sendo a menor incidência encontrada em Alagoas. Assim como BSGFV, incidência de 100% de infecção por BSOLV também foi detectada nas amostras de Sergipe. BSOLV também foi o vírus mais frequentemente encontrado na Bahia e Ceará com incidências de 91,1% e 80%, respectivamente.

Infecções mistas de BSGFV e BSOLV também foram encontradas em todos os Estados. Estas variaram quanto os níveis de incidência, sendo o maior encontrado em Sergipe (100%), e o menor na Paraíba (37,77%). BSGFV e BSOLV também foram encontrados em infecção mistas na maioria dos Estados. BSGFV foi encontrado em infecções simples, BSOLV foram observadas em Taquarana em Alagoas e Assu no Rio Grande do Norte.

Cinquenta e seis amostras (10,98% do total) testaram positivas para infecção por *Badnavirus* e negativas para BSOLV, BSGFV e BSIMV. Indicando que outros badnavírus previamente descritos e/ou novas espécies podem estar ocorrendo nos cultivos de banana da Região Nordeste. Dessas, 28 amostras são provenientes de Alagoas, 20 amostras de Pernambuco, 04 amostras da Bahia, 03 amostras da Paraíba e 01 amostra do

Ceará. Para diferenciar infecções causadas por sequências endógenas ou epissomais, as 56 foram submetidas a amplificação por RCA seguida de nova detecção PCR com primers universais para *Badnavirus*. Vinte amostras testaram positivas, sendo então consideradas sequências epissomais. No entanto, as outras 36 amostras testaram positivas somente para PCR e, possivelmente representam infecções por sequências endógenas de badnavírus em bananeira.

### 3.3.2 Análise de sequências e demarcação de espécies

Sequências nucleotídicas de boa qualidade foram obtidas através de PCR apenas para 24 das 56 amostras que testaram positivas para detecção com os primers universais para o gênero *Badnavirus* e negativas para BSOLV, BSGFV e BSIMV.

Usando comparações pareadas, os isolados virais foram classificados em dois grupos (Figura 2). No primeiro grupo, isolados da Paraíba (SS18), Alagoas (BL3, BL4 e CO1) e Bahia (SAJ5 e SAJ8), compartilharam entre 86,3% e 95,3% de identidade nucleotídica entre si e apresentaram maior identidade com a sequência de BSMYV com identidade nucleotídica entre 81,8% e 85,0%. O segundo grupo composto por isolados de Alagoas, UP36, UP17, UP20, UP31, UP18, UP15, UP34, UP14 e UP21 que compartilham 80,2% a 81,1% de identidade nucleotídica com BSMYV e 94,6% a 99,1% de identidade nucleotídica entre si. Já os isolados PL6 e PL8, compartilham 97,4% de identidade nucleotídica entre si, 96,4% a 97,8% com os isolados UP e 81,4% e 81,1% com BSMYV. Os resultados demonstram uma alta variabilidade nas sequências nucleotídicas entre os 24 isolados, mas todos compartilharam identidade de sequência  $\geq$  80% e, portanto, pertencem à espécie *Badnavirus gammavirgamusae* (banana streak MY vírus - BSMYV).

### 3.3.3 Análise filogenética

A árvore filogenética de inferência bayesiana baseada nas sequências parciais da RT/RNaseH mostrou que as sequências obtidas no presente estudo foram agrupadas em dois subclados diferentes (Figura 3). Essa separação dos isolado corroborou com o que foi identificado na matriz SDT. Onde os isolados de Alagoas BL3, BL4 e CO1, estão relacionados com os isolados da Bahia, SAJ5 e SAJ8. Esses isolados estão relacionados filogeneticamente com a sequência conhecida de BSMYV.

Os demais isolados de Alagoas, estão em um outro subclado, onde os isolados UP possuem maior relacionamento filogenético e os isolados PL6 e PL8, estão em ramificações diferenciadas. Esses isolados não agruparam filogeneticamente com sequências conhecidas depositadas no GenBank. Demais sequências de BSV disponíveis no GenBank ficaram em grupos filogenéticos divergentes.

### 3.4 DISCUSSÃO

A estria da bananeira, causada por um complexo de espécies de banana streak virus (BSV) é a maior ameaça a produção e melhoramento de banana em todas as áreas de cultivo do mundo (Bhat *et al.*, 2016; Bhat *et al.*, 2023). A diversidade e variabilidade de espécies de badnavírus que infectam banana tem sido extensivamente pesquisada (Martinez *et al.*, 2020; Sharma *et al.*, 2015; Javer-Hinginson *et al.*, 2014; Geering *et al.*, 2011; James *et al.*, 2011; Remans *et al.*, 2007, Figueiredo *et al.*, 2006, Harper *et al.*, 2005; Harper *et al.*, 2004; Geering *et al.*, 2000). As espécies *Badnavirus alphavirgamusae* (BSGFV), *B. betavirgamusae* (BSIMV), *B. deltavirgamusae* (BSOLV) e *B. gammavirgamusae* (BSMYV) são as mais comumente encontradas causando infecção em *Musa* spp. em todo o mundo (Ouattara *et al.*, 2023; Umber *et al.*, 2022; Martinez *et al.*, 2020; Caldas, 2019; Farias *et al.*, 2018; Koaudio *et al.*, 2016; Sharma *et al.*, 2014; Javer-Hinginson *et al.*, 2014, James *et al.*, 2011).

A banana é a fruta fresca mais consumida e a segunda mais produzida no Brasil, ficando atrás apenas da laranja (Abrafrutas, 2024). Apesar da sua importância como commodity agrícola e a ocorrência da estria da bananeira ser conhecida no país desde os anos 2000 (Brioso *et al.*, 2000) poucos esforços têm sido realizados no sentido de conhecer a diversidade e variabilidade genética desses vírus, especialmente na Região Nordeste (Carnelossi *et al.*, 2014; Figueiredo *et al.*, 2006, Brioso *et al.*, 2000). Ocorrência de infecção causada pelas espécies *Badnavirus alphavirgamusae*, *B. deltavirgamusae*, *B. gammavirgamusae* e *B. betavirgamusae* têm sido registradas nos cultivos de banana do Brasil (Caldas, 2019; Farias, 2016, Carnelossi *et al.*, 2014; Figueiredo *et al.*, 2006, Brioso *et al.*, 2000; Brioso *et al.*, 2011). No presente estudo, foi realizado um amplo levantamento da incidência de badnavírus e prevalência das espécies BSGFV, BSOLV e BSIMV em 510 amostras foliares de banana provenientes de áreas de cultivo de sete Estados do Nordeste brasileiro durante os anos de 2021 a 2023.

Elevadas taxas de incidência foram encontradas para detecção de *Badnavirus* em nível de gênero, tanto para o total de áreas amostradas (89,6%), quanto para cada estado (78,8% a 100%) (Tabela 5-13). Grande parte das amostras de banana coletadas não exibiam sintomas de estrias ou manchas foliares, e mesmo assim, testaram positivo para infecção por *Badnavirus*. Isso confirma que a expressão de sintomas é intermitente e depende do vírus bem como das condições ambientais (Dahal *et al.*, 2000; Umber *et al.*, 2022). Plantas assintomáticas podem atuar como reservatórios de BSVs, que pode implicar na transmissão horizontal e vertical desses vírus (Javer-Higgison *et al.*, 2014). Esses resultados reforçam a importância das infecções assintomáticas na disseminação de BSV, e que o monitoramento acurado da estria da bananeira com base na inspeção visual dos sintomas no campo é inefetivo. Taxas de incidência da doença superiores a 75%, elevado número de infecções assintomáticas e ampla distribuição geográfica de BSV também foram encontradas no Brasil (Farias, 2016) Burkina Faso (Ouattara *et al.*, 2023), Cuba (Javer-Higgison *et al.*, 2014), Costa do Marfim (Koaudio *et al.*, 2016) e Índia (Sharma *et al.*, 2014).

BSGFV foi o badnavírus predominantemente encontrado nessa região, incidindo em 68,43% das amostras quando comparado com BSOLV (61,69%). BSGFV também foi vírus mais frequentemente encontrado em Alagoas, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe. Já infecções causadas por BSOLV foram predominantemente encontradas nos estados da Bahia e Ceará (Tabela 9, Tabela 11). BSOLV, BSGFV e BSUGV são os badnavírus que predominam nos cultivos brasileiros de banana (Caldas, 2019; Farias *et al.*, 2018; Farias, 2016; Carnelossi *et al.*, 2014; Brioso *et al.*, 2011, Lombardi *et al.*, 2010). BSGFV, foi descrito pela primeira vez 2016 nos estados do Espírito Santo, Minas Gerais e Paraná (Farias, 2016; Farias *et al.*, 2018); e posteriormente no Pará e Piauí (Caldas, 2019). Enquanto BSOLV, foi relatado a primeira vez no país em cultivares de banana ‘Terra Anã’ no estado de São Paulo (Lombardi *et al.*, 2010), também no Paraná (Carnelossi *et al.*, 2014), Minas Gerais, Pará, Piauí e Santa Catarina (Caldas, 2019).

Estudos sobre a prevalência de espécies de badnavírus ocorrendo em áreas de cultivo de bananeira no âmbito mundial demonstraram que BSOLV é a espécie mais amplamente distribuída, e predomina em Burkina Faso (Ouattara *et al.*, 2023), Cuba (Javer-Higgison *et al.*, 2014) e nas Ilhas Guadalupe (Umber *et al.*, 2022). Semelhante ao que encontramos neste estudo, BSGFV foi o banavírus prevalente nos bananais da

República Dominicana (Martinez *et al.*, 2020). Enquanto BSMYV, é o badnavírus prevalente na Índia (Sharma *et al.*, 2014).

Em conjunto, os resultados aqui encontrados, ampliam a distribuição geográfica de BSGFV e BSOLV no Brasil, e demonstram que estes vírus se encontram amplamente disseminados nas áreas de cultivo de banana da Região Nordeste. A elevada prevalência do BSV nos campos de produção de bananas pode ser explicada por condições agroclimáticas favoráveis, modo de transmissão do vírus e material de propagativo (Ouattara *et al.*, 2023). Nas áreas de coleta dos sete estados, foi possível observar que a banana é propagada principalmente por via vegetativa e a disseminação da doença no campo realizada principalmente pelo uso de rebentos infectados. Os produtores obtêm o material propagativo do próprio plantio ou de viveiros de mudas não certificadas de diversas origens, provavelmente já contaminados, contribuindo assim para o aumento da disseminação desses vírus. Entretanto, não se pode excluir que a transmissão natural esteja contribuindo para disseminar a doença. Uma evidência que reforça esta hipótese, foi a constante presença de cochonilhas nas bananeiras exibindo sintomas de estrias e da *Commelina* sp., hospedeira alternativa de BSV, nas áreas de coleta (Figura 1b, Figura 1c).

Banana streak virus é capaz de integrar seu DNA de forma parcial ou completa no genoma de *Musa* spp., impactando diretamente na precisão dos métodos de diagnose e controle dessas viroses (Dallot *et al.*, 2001; Gayral *et al.*, 2008; Côte *et al.*, 2010; Chabannes *et al.*, 2013; Duroy *et al.*, 2016; Umber *et al.*, 2022). Alelos infecciosos de vírus endógenos da estria da bananeira (eBSVs) estão presentes no genoma de todas as cultivares interespecíficas de banana. A ativação desses alelos infecciosos do eBSV por estresses bióticos e abióticos leva a infecções espontâneas por vírus cognatos, e aumenta a preocupação sobre sua capacidade de promover surtos de estria da bananeira em condições de cultivo no campo (Umber *et al.*, 2022). Sequências eBSVs de BSOLV, BSGFV, BSIMV e BSMYV têm sido encontrados frequentemente no genoma de *Musa balbisiana* (Chabannes *et al.*, 2013; Iskra-Caruana *et al.*, 2014; Umber *et al.*, 2022).

BSVs epissomais e eBSVs compartilham alta homologia de sequência e, os primers universais e espécie-específicos disponíveis foram desenhados para uma região genômica altamente conservada, RT-RNaseH. Portanto, a detecção baseada apenas em PCR não é capaz de diferenciar essas formas virais (Geering *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2003; Bhat *et al.*, 2023). Para realizar a distinção das formas epissomal e endógena de BSV, é necessária a associação de outros métodos como Southern ou hibridização *in situ*

do cromossomo com a sonda viral, imunocaptura (IC-PCR), PCR de transcrição reversa, microscopia eletrônica, amplificação por círculo rolante (RCA) e sequenciamento do genoma do hospedeiro (Bhat *et al.*, 2023).

A técnica de RCA acoplada a detecção por PCR tem sido usada com sucesso para diferenciação de BSVs e eBSVs (James *et al.*, 2011; Wambulwa *et al.*, 2012; Sharma *et al.*, 2014; Farias, 2016; Farias *et al.*, 2018, Caldas, 2019). No presente estudo 56 amostras de banana que testaram negativas para detecção de BSGFV e BSOLV e positivas para *Badnavirus*, foram submetidas a amplificação por RCA, seguida por detecção com primer universais para o gênero via PCR. Apenas 12,25% dessas infecções foram epissomais, evidenciando assim a alta taxa de integração do vírus no genoma das bananeiras na região Nordeste. No entanto, para conhecer a real taxa de incidência dos vírus nas formas epissomal e integrada, se faz necessária amplificação de RCA seguida de detecção por PCR no total de amostras, o que seria muito dispendioso, devido ao alto custo dos Kits de RCA.

O sequenciamento parcial da região RT-RNaseH das amostras desse estudo contendo vírus epissomais, revelou que BSMYV infecta bananas do grupo AAB, e na maioria dos casos de forma assintomática. BSMYV é uma espécie amplamente disseminada na Índia, e frequentemente encontrada em infecção epissomal em bananas do grupo AAB (Sharma *et al.*, 2014). Em Cuba, uma taxa de infecção epissomal de BSMYV foi obtida em 81,4% em amostras da cultivar Yangambi provenientes de cultivo *in vitro* (Javer-Higginson *et al.*, 2014). Em Guadalupe, foi realizado um estudo do risco de ativação de eBSV durante 10 anos. Neste, foi demonstrado que a prevalência de BSGFV e BSOLV é significativamente maior nos genótipos AAB do que nos genótipos AAA. Também que as infecções por BSGFV e BSOLV surgem da ativação de eBSGFV e eBSOLV, mas do que por transmissão por vetor; e que em banana-da-terra causam infecções assintomáticas. Além disso, que a cultura de tecido e cultivo em campo disparam vias distintas de ativação de eBSVs. Porém, a ativação eBSVs decresce ao longo dos ciclos sucessivos, seja de cultura de tecido ou cultivo em campo, portanto no caso de Guadalupe os riscos de surto eram remotos (Umber *et al.*, 2022).

No Brasil, infecção epissomal por BSMYV foi detectada no Ceará e Minas Gerais (Farias, 2016), confirmando os nossos resultados e ampliando a sua distribuição geográfica. Além de BSMYV, relatos de infecção epissomal em bananeiras no país já foram descritos para as espécies BSOLV (Bahia, Paraná e São Paulo), BSGFV (Bahia,

Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná), BSBAV (Espírito Santo), BSUCV (Rio de Janeiro) e BSUGV (Amazonas e São Paulo) (Lombardi *et al.*, 2010; Briosso *et al.*, 2011; Carnelossi *et al.*, 2014, Farias, 2016; Farias *et al.*, 2018; Caldas, 2019). A micropropagação *in vitro* para a produção de mudas de bananeira, vem sendo utilizada de maneira crescente no Brasil, com instalação de laboratórios comerciais em diferentes regiões, permitindo assim, acesso mais rápido dos agricultores a mudas de melhor qualidade, especialmente das variedades tradicionais e dos novos híbridos produzidos por melhoramento genético. Contudo, nenhuma pesquisa tem sido desenvolvida sobre o impacto desse método na ativação de eBSVs infecciosos, mecanismos da ativação e quais riscos epidêmicos estes representam. Tampouco, sobre as espécies das cochonilhas vetoras que ocorrem nos cultivos e importância desse modo de transmissão. Portanto, compreender a dinâmica de distribuição dos BSVs e eBSVs nas diferentes regiões produtoras do Brasil é fundamental para mapear os riscos desses vírus para a bananicultura no país.

## CONCLUSÃO

- A doença estria da bananeira está amplamente disseminada na Região Nordeste do Brasil, estando presente em todas as áreas de cultivo dos sete estados;
- A incidência de *Banana streak virus* é alta em todas as áreas de cultivo, provavelmente por esse vírus estar presente na sua forma integrada (eBSV);
- BSIMV está ausente em todas as áreas de coleta;
- BSGFV e BSOLV, respectivamente, são os vírus predominantes nos cultivos dessa região, sendo encontrados em alta incidência, porém variando em prevalência em todos os estados;
- BSMYV foi o único badnavírus recuperado das amostras contendo infecções episomais

## REFERÊNCIAS

- AGHDAM, S. A., LAHOWETZ, R. M., & BROWN, A. M. V. Divergent endophytic viromes and phage genome repertoires among banana (*Musa*) species. **Frontiers in microbiology**, 14, 1127606. 2023. DOI <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1127606>
- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology** 215, 403–410, 1990.
- BHAT, A.I.; HOHN. T.; SELVARAJAN, R. Badnaviruses: The Current Global Scenario. **Viruses**, 2016.
- BHAT, A.I.; SELVARAJAN, R.; BALASUBRAMANIAN, V. Emerging and Re-Emerging Diseases Caused by Badnaviruses. **Pathogens**, Basel, Switzerland, 12(2), 245. 2023 DOI <https://doi.org/10.3390/pathogens12020245>
- BRIOSO, P.S.T.; CORDEIRO, Z.J.M.; REZENDE, J.A.M.; KITAJIMA, E.W.; PIMENTEL, J.P.; FIGUEIREDO, A.R. Infecção mista em bananeiras pelos vírus do mosaico do pepino (“*Cucumber Mosaic Virus*”, CMV) e da risca da bananeira (“*Banana Streak Virus*”, BSV) no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v.26, n.2, p. 254-257, 2000.
- BRIOSO, P. S. T.; PEREIRA, J. C. R.; GASPAROTO, A. Ocorrência de badnavirus em frutos de bananeira no estado do Amazonas, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1353-1355, 2011.
- BRIOSO, P. S. T. Detecção e controle dos vírus das estrias e do mosaico da bananeira. **V Simpósio brasileiro sobre bananicultura**, v. 1, p. 94-100, 2003.
- CALDAS, C.N.P. **Detecção de espécies do vírus das estrias da bananeira (BSV) em *Musa spp.*** 2019. 99p. Tese (Doutorado - Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, 2019.
- CARNELOSSI, P.; BIJORA, T.; FACCO, C. U.; SILVA, J. M.; PICOLI, M. H. S.; SOUTO, E. R.; OLIVEIRA, F. T. Epissomal detection of *Banana Streak OL virus* in single and mixed infection with *Cucumber mosaic virus* in banana ‘Nanicão Jangada’. **Tropical Plant Pathology**, v.39, n.4, p.342-346, 2014.
- 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. **Molecular plant pathology**, 22(2), 216–230, 2021. DOI <https://doi.org/10.1111/mpp.13019>
- 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. **Molecular Plant Pathology**;11:137–144. 2010. DOI 10.1111/j.1364-3703.2009.00583.x.
- DAHAL, G.; PASBERG-GAUHL, C.; GAUHL, F.; THOTTAPPILLY, G.; D'A HUGHES, J. Studies on a Nigerian isolate of Banana streak badnavirus: II. Effect of

intraplant variation on virus accumulation and reliability of diagnosis by ELISA. **Annals of Applied Biology**, London, v.132, n.2, p.263-275, 1998.

DALLOT S., ACCUNA P., RIVERA C., RAMIREZ P., COTE F., LOCKHART B.E.L., CARUANA M.-L. Evidence that the proliferation stage of micropropagation procedure is determinant in the expression of *Banana streak virus* integrated into the genome of the FHIA21 hybrid (*Musa* AAAB) **Archives of Virology**. 146:2179–2190. 2001. DOI 10.1007/s007050170028

DEESHMA, K. P.; BHAT, A. I. Complete genome sequencing of Piper yellow mottle virus infecting black pepper, betelvine, and Indian long pepper. **Virus Genes**, v., 50, p. 172–175, 2015.

DOYLE, J.J., DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemistry**. Bull., 19:11-15, 1987.

EDGAR, R.C. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. **BMC Bioinformatics**, 5:1-19, 2004.

FARIAS, A. R. G. de. Diagnose e caracterização molecular de espécies de Badnavirus que causam a estria da bananeira no Brasil. 2016. 55 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016

FIGUEIREDO, D.V.; MEISSNER FILHO, P.E.; SILVA NETO, S.P.; BRIOSO, P.S.T. Detection and analysis of *Banana streakvirus* (BSV) sequences variability of banana from Brazil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 2, p. 118-123, 2006.

GEERING, A.D.W.; OLSZEWSKI, N.E.; DAHAL, G.; THOMAS, J.E.; LOCKHART, B.E.L. Analysis of the distribution and structure of integrated Banana streak virus DNA in a range of *Musa* cultivars. **Molecular Plant Pathology**, Bristol, v.2, n 4. p.207-213, 2001.

GEERING, A.D.W., POOGIN, M.M., OLSZEWSKI, N.E., LOCKHART, B.E.L. and Thomas, J.E. Characterization of Banana Streak Mysore Virus and Evidence That Its DNA Is Integrated in the Genome of Cultivated *Musa*. **Archives of Virology**, 150, 787-796, 2005. DOI <https://doi.org/10.1007/s00705-004-0471-z>

HARPER, G.; OSUJI, J.O.; HESLOP-HARRINSON, P.; HULL, R. Integration of Banana streak badnavirus into the *Musa* genome: molecular and cytogenetic evidence. **Virology**, San Diego, v.255, n.2, p.207-213, 1999.

HARPER G., HULL R., LOCKHART B.E.N., OLSWESKI N. Viral sequences integrated in to plant genomes. **The Annual Review of Phytopathology**.40:119–136. 2002. DOI 10.1146/annurev.phyto.40.120301.105642.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário 2019**. Cidades; Lavoura Permanente, 2021.

ICTV - International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) Virus Taxonomy: 2021 Release. Available online: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>. Acesso em: 28 de novembro de 2022

INOUE-NAGATA, A.K. A simple method for cloning the complete begomovirus genome using the bacteriophage  $\phi$ 29 DNA polymerase. **Journal of Virological Methods** 116:209–211, 2004.

ISKRA-CARUANA, M.; DUROY, P.O.; CHABANNES, M.; MULLER, E. The common evolution ary history of badnaviruses and banana. **Infection, Genetics and Evolution**. 21, 83–89. 2014,

JAMES, A. P. et al. Molecular characterization of six Badnavirus species associated with leaf streak disease of banana in East Africa. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 158, p. 346-53, 2011a

JAMES, A. P.; GEJSKES, R. J.; DALE, J. L.; HARDING, R. M. Development of a novel rolling-circle amplification technique to detect Banana streak vírus that also discriminates between integrated and episomal vírus sequences. **Plant Disease**, v. 95, p. 57-62, 2011b.

JAVER-HIGGINSON, E.; ACINA-MAMBOLE, I.; FONT, C.; QUIALA, I.; GONZALEZ, G.; ECHEMENDIA, A. L.; TEYCHENEY, P. Y. Identification of *Banana streak vírus* species Goldfinger, Imovè, Mysore and Obino l'Ewai in *Musa* spp. in Cuba. **Plant Pathology**, v. 58, p. 787. 2009.

JAVER-HIGGINSON, E.; ACINA-MAMBOLE, I.; GONZALEZ, J. E.; FONT, C.; GONZÁLEZ, G.; ECHEMENDIA, A. L.; MULLER, E.; TEYCHENEY, P. Y. Occurrence, prevalence and molecular diversity of banana streak víruses in Cuba. **European Journal Plant Pathology**, v. 138, p. 157-166. 2014. DOI 10.1007/s10658-013-0319-z.

KARUPPAIAH, R.; VISWANATHAN, R.; KUMAR, V.G.; Genetic diversity of Sugarcane bacilliform virus isolates infecting *Saccharum* spp. In India. **Virus Genes** 46:505–516, 2013.

KOUADIO, K. T.; DE CLERCK, C.; AGNEROH, T.A.; LASSOIS, L.; PARISI, O.; MASSART, S.; Le POIVRE, P.; JIJAKLI, M.H. Prevalence of víruses infecting plantain (*Musa* sp., AAB genome) in the major growing regions in Cote d'Ivoire. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, n. 44, p. 4532-4541, 2016.

KUMAR, P.L.; SELVARAJAN, R.; ISKRA-CARUANA, M.L.; CHABANNES, M.; HANNA, R. Biology, etiology and control of vírus diseases of banana and plantain. **Advances in Vírus Research**, v. 9, p. 229-269. 2014.

KUMAR, S., STECHER, G., TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7. **Mol. Biol. Evol.**, 33:1870-1874, 2015.

LOCKHART B.E. L.; JONES, D. R. Banana streak virus. In: Jones DR (ed) **Diseases of Banana**. Abaca and Enset, CABI Publishing, 2000.

LOCKHART, B.E.L. Development of detection methods for banana streak virus (BSV). INIBAP Annual Report, p. 20. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France. 1994.

MEYER, J. B., KASDORF, G. G. F., NEL, L. H., & PIETERSEN, G. Transmission of activated episomal banana streak OL virus (BSOLV) to cv. Williams banana (*Musa* sp.) by threemealybug species. **Plant Disease**, 92, 1158–1163, 2008.

MILLER, M.A., PFEIFFER, W., SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, LA, Ieee, 1-8, 2010.

MUHIRE, B.M., VARSANI, A., MARTIN, D.P. SDT: A Virus Classification Tool Based on Pairwise Sequence Alignment and Identity Calculation. **PLoS ONE**, 9:e108277, 2014.

MULLER, E. et al. High molecular variability of sugarcane bacilliform viruses in Guadeloupe implying the existence of at least three new species. **Virus Research** 160:414–419, 2011.

NDOWORA T., DAHAL G., LAFLEUR D., HARPER G., HULL R., OLSZEWSKI NE, LOCKHART B. Evidence that badnavirus infection in *Musa* can originate from integrated pararetroviral sequences. **Virology**. 1999; 255 (2):214–220. DOI: 10.1006/viro.1998.9582.

OUATTARA, B. , SÉRÉMÉ, D. , KOALA, M. , NITIÉMA, L.W. , KOÏTA, K. , KABORÉ, E. AND WONNI, I. Prevalence and Spatial Distribution of Badnavirus in the Banana (*Musa* spp) Major Growing Areas in Burkina Faso. **American Journal of Plant Sciences**, 14, 427-447. 2023. DOI 10.4236/ajps.2023.144028.

POLTRONIERI LS., FIGUEIREDO DV., BRIOSO PST., VERZIGNASSI JR., CARDOSO SS. Constatação do Banana streak Uganda B virus em bananeiras no Estado do Pará. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 35, n. 1, p. 74, 2009.

POSADA, D.; BUCKLEY, T. Model Selection and Model Averaging in Phylogenetics: Advantages of Akaike Information Criterion and Bayesian Approaches Over Likelihood Ratio Tests. **Systematic Biology**, v. 53, p. 793–808, 2004.

RONQUIST, F., TESLENKO, M., VAN DER MARK, P., AYRES, D.L., DARLING, A., HOHNA, S., LARGET, B., LIU, L., SUCHARD, M.A., HUELSENBECK, J.P. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. **Systematic Biology**. 61:539-542, 2012.

SILVA, J.M. et al. Incidence and species diversity of badnaviruses infecting sugarcane from a germplasm collection in Brazil. **Tropical Plant Pathology**. 40:212–217, 2015.

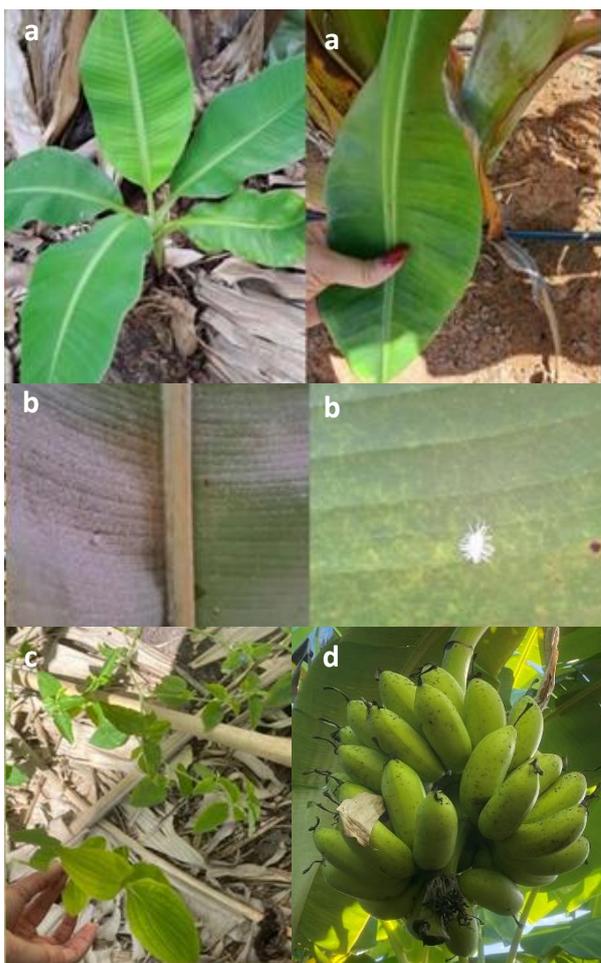
TEYCHENEY PY, GEERING AD, DASGUPTA I et al (2020) ICTV Virus taxonomy profile: *Caulimoviridae*. **Journal of General Virology** 101(10):1025, 2020.

WAMBULWA MC, FRANCIS N, WACHIRA FN, KARANHA LS, MUTURI SM  
Rolling circle amplification is more sensitive than PCR and serology-based methods in detection of Banana streak virus in Musa germplasm. **American Journal of Plant Sciences** 3:1581- 1587, 2012.

YANG, I.C.; HAFNER, G.J.; DALE, J.L.; HARDING, R.M. Genomic characterization of taro bacilliform virus. **Archives of Virology** 148:937-949, 2003.

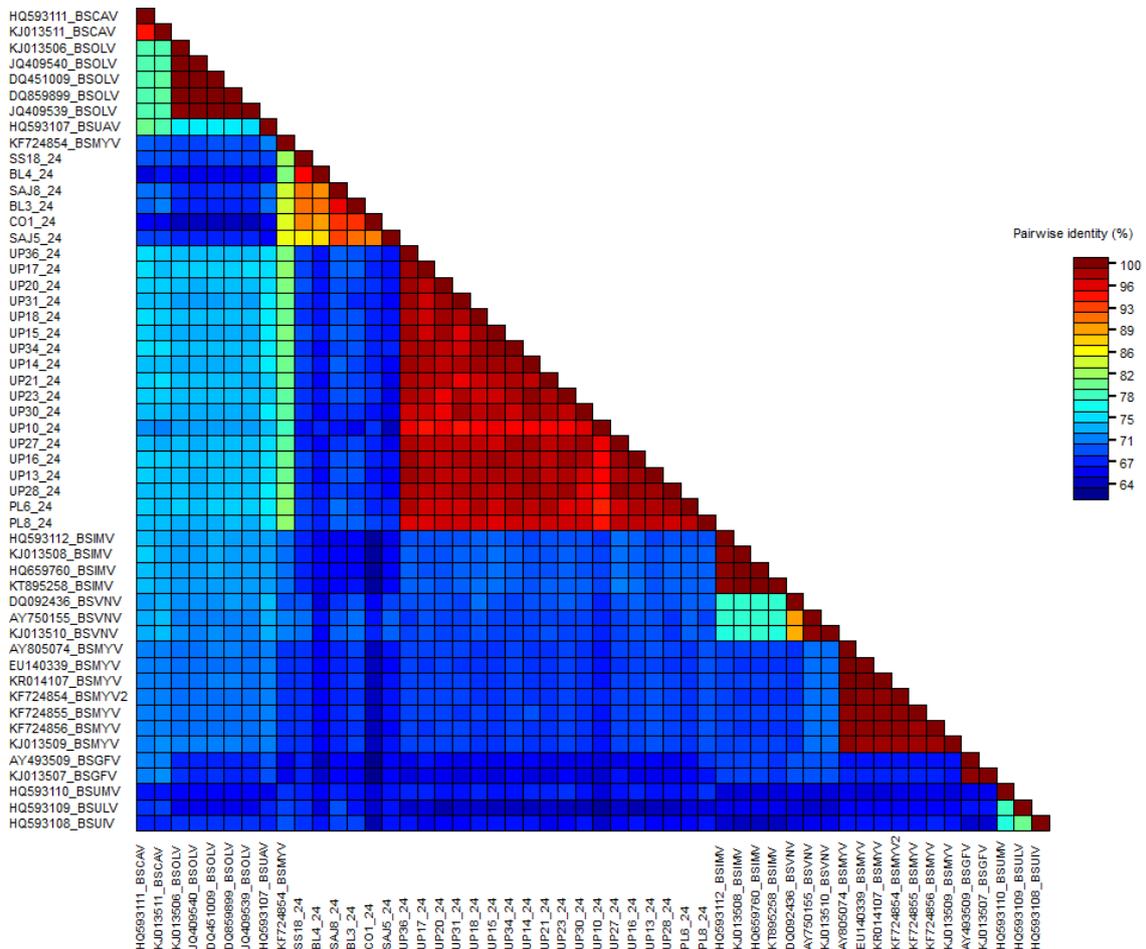
## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Imagens das áreas comerciais de banana que foram realizadas as coletas. a) Plantas de bananeira com sintomas indicativos de infecção por badnavírus; b) Plantas de bananeira com a presença do inseto-vetor, cochonilha; c) Plantas de *Commelina* sp., com sintomas típicos de infecção por badnavírus; d) Frutos de bananeira contendo sintomas indicativos de infecção por badnavírus.



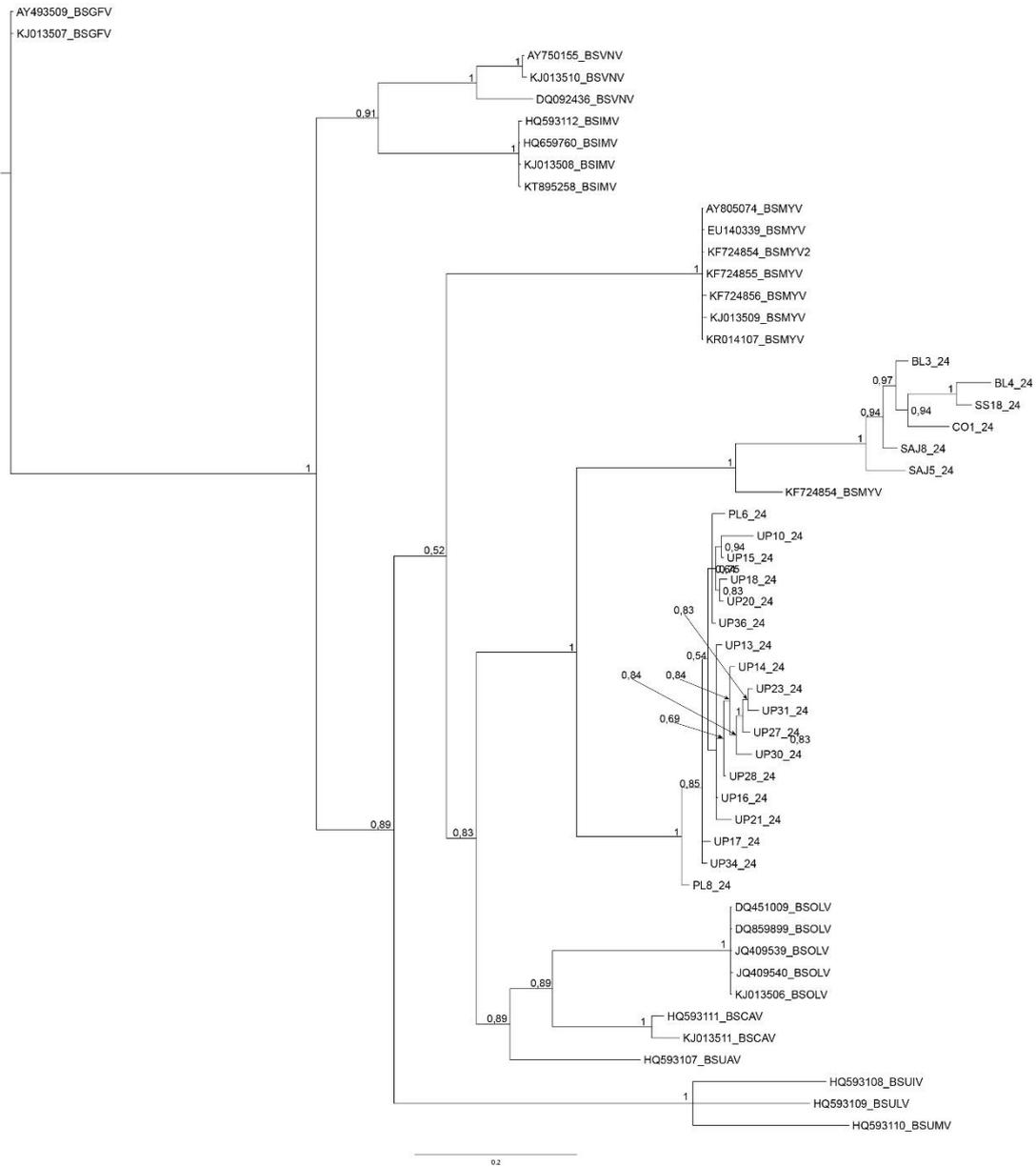
**Fonte:** Autora (2024)

**Figura 2.** Matriz bidimensional codificado por cores representando as porcentagens de identidade de nucleotídeos par-a-par para sequências da região genômica RT/RNase H dos isolados virais obtidos de genótipos de banana infectados por badnavírus depositadas no GenBank e dos isolados virais obtidos nesse trabalho. A escala representa porcentagem, de identidade referente a cada cor.



**Fonte:** Autora (2024)

**Figura 3.** Árvore filogenética de Inferência Bayesiana baseada na sequência parcial da região RT/RNaseH dos vírus provenientes de coletas em áreas de plantio de banana no nordeste brasileiro e outros badnavírus obtidos no GenBank.



**Fonte:** Autora (2024)

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Espécies do complexo *Banana streak virus* reconhecidas pelo ICTV

| <b>Espécie</b>                      | <b>Nomenclatura anterior</b>  | <b>Acrônimo</b> | <b>Hospedeiro</b>               | <b>Número de acesso no GenBank</b> | <b>Comprimento do genoma (nucleotídeo)</b> |
|-------------------------------------|-------------------------------|-----------------|---------------------------------|------------------------------------|--|
| <i>Badnavirus alphavirgamusae</i>   | <i>Banana streak GF virus</i> | BSGFV           | banana-da-terra                 | AY493509                           | 7263 pb                                    |
| <i>Badnavirus betavirgamusae</i>    | <i>Banana streak IM virus</i> | BSIMV           | <i>Musa sp. cv. Mshule</i>      | HQ593112                           | 7769 pb                                    |
| <i>Badnavirus gammavirgamusae</i>   | <i>Banana streak MY virus</i> | BSMYV           | <i>Musa sp.</i>                 | AY805074                           | 7650 pb                                    |
| <i>Badnavirus deltavirgamusae</i>   | <i>Banana streak OL virus</i> | BSOLV           | <i>Musa sp.</i>                 | AJ002234                           | 7389 pb                                    |
| <i>Badnavirus epsilonvirgamusae</i> | <i>Banana streak UA virus</i> | BSUAV           | <i>Musa sp. cv. Likhako</i>     | HQ593107                           | 7519 pb                                    |
| <i>Badnavirus zetavirgamusae</i>    | <i>Banana streak UI virus</i> | BSUIV           | <i>Musa sp. cv. Kisansa</i>     | HQ593108                           | 7458 pb                                    |
| <i>Badnavirus etavirgamusae</i>     | <i>Banana streak UL virus</i> | BSULV           | <i>Musa sp. cv. kibuzi</i>      | HQ593109                           | 7401 pb                                    |
| <i>Badnavirus thetavirgamusae</i>   | <i>Banana streak UM virus</i> | BSUMV           | <i>Musa sp. cv. Mbwarzirume</i> | HQ593110                           | 7532 pb                                    |
| <i>Badnavirus iotavirgamusae</i>    | <i>Banana streak VN virus</i> | BSVNV           | banana-da-terra                 | AY750155                           | 7801 pb                                    |

**Fonte:** Autora (2024)

**Tabela 2.** Amostras foliares de bananeira coletadas em diferentes estados da região Nordeste do Brasil, durante os anos de 2021, 2022 e 2023.

| <b>Quantidade de amostra</b> | <b>Município</b>            | <b>Estado</b>       | <b>Código</b> |
|------------------------------|-----------------------------|---------------------|---------------|
| 36                           | União dos Palmares          | Alagoas             | UP            |
| 27                           | Santana do Mundaú           | Alagoas             | SM            |
| 15                           | Murici                      | Alagoas             | UM            |
| 4                            | Taquarana                   | Alagoas             | TQ            |
| 19                           | Palmeira dos Índios         | Alagoas             | PI            |
| 20                           | Palmeira dos Índios - Serra | Alagoas             | SP            |
| 3                            | Tanque d'arca               | Alagoas             | TD            |
| 5                            | Colônia Leopoldina          | Alagoas             | CL            |
| 7                            | São Miguel dos Campos       | Alagoas             | SC            |
| 8                            | Pilar                       | Alagoas             | PL            |
| 22                           | Coruripe                    | Alagoas             | CO            |
| 8                            | Maribondo                   | Alagoas             | MB            |
| 10                           | Belém                       | Alagoas             | BL            |
| 72                           | Petrolina                   | Pernambuco          | PT            |
| 20                           | Itaporanga d'ajuda          | Sergipe             | IA            |
| 20                           | Casa Nova                   | Bahia               | CN            |
| 20                           | Santo Antônio de Jesus      | Bahia               | SAJ           |
| 14                           | Pombal                      | Paraíba             | PB            |
| 21                           | Sousa                       | Paraíba             | SS            |
| 10                           | São Gonçalo                 | Paraíba             | SG            |
| 30                           | Missão Velha                | Ceará               | MV            |
| 15                           | Umari                       | Ceará               | UM            |
| 3                            | Assu                        | Rio Grande do Norte | AS            |
| 20                           | Apodi                       | Rio Grande do Norte | AP            |
| 20                           | Mossoró                     | Rio Grande do Norte | MS            |
| 20                           | Alto do Rodrigues           | Rio Grande do Norte | AR            |
| 21                           | Touros                      | Rio Grande do Norte | TO            |
| 20                           | Rio do Fogo                 | Rio Grande do Norte | RF            |
| <b>TOTAL =</b>               |                             |                     |               |
| <b>510 amostras</b>          |                             |                     |               |

**Fonte:** Autora (2024)

**Tabela 3.** Primers para utilizados para amplificação da região genômica RT/RNaseH de badnavírus infectando bananeiras.

| Primer         | Sequência                        |
|----------------|----------------------------------|
| BADNAFP/RP - F | 5'-ATGCCITTYGGIITIAARAAYGCICC-3' |
| BADNAFP/RP - R | 5'-CCAYTTRCAIACISCICCCCAICC-3'   |
| BSOLV – F      | 5' ATCTGAAGGTGTGTTGATCAATGC 3'   |
| BSOLV – R      | 5' GCTCACTCCGCATCTTATCAGTC 3'    |
| BSGFV – F      | 5' ACGAACTATCACGACTTGTTC AAGC 3' |
| BSGFV - R      | 5' TCGGTGGAATAGTCCTGAGTCTTC 3'   |
| BSIMV-F        | 5' TGCCAACGAATACTACATCAAC 3'     |
| BSIMV-R        | 5' CACCCAGACTTTTCTTTCTAGC 3'     |

Fonte: Autora (2024)

**Tabela 4.** Sequências depositadas no GenBank e utilizadas nas comparações par-a-par (SDT) e na construção da árvore filogenética e com base nos domínios da RT/RNaseH dos Badnavírus.

| Nome anterior da espécie                    | Nome atual da espécie               | Acrônimo | Número de acesso no GenBank |
|---|-------------------------------------|----------|-----------------------------|
| <i>Banana streak CA virus</i>               | -                                   | BSCAV    | HQ593111                    |
| <i>Banana streak CA virus</i>               | -                                   | BSCAV    | KJ013511                    |
| <i>Banana streak OL virus</i>               | <i>Badnavirus deltavirgamusae</i>   | BSOLV    | KJ013506                    |
| <i>Banana streak OL virus</i>               | <i>Badnavirus deltavirgamusae</i>   | BSOLV    | JQ409540                    |
| <i>Banana streak OL virus</i>               | <i>Badnavirus deltavirgamusae</i>   | BSOLV    | DQ451009                    |
| <i>Banana streak OL virus</i>               | <i>Badnavirus deltavirgamusae</i>   | BSOLV    | DQ859899                    |
| <i>Banana streak OL virus</i>               | <i>Badnavirus deltavirgamusae</i>   | BSOLV    | JQ409539                    |
| <i>Banana streak UA virus</i>               | <i>Badnavirus epsilonvirgamusae</i> | BSUAV    | HQ593107                    |
| <i>Banana streak IM virus</i>               | <i>Badnavirus betavirgamusae</i>    | BSIMV    | HQ593112                    |
| <i>Banana streak IM virus</i>               | <i>Badnavirus betavirgamusae</i>    | BSIMV    | KJ013508                    |
| <i>Banana streak IM virus</i>               | <i>Badnavirus betavirgamusae</i>    | BSIMV    | HQ659760                    |
| <i>Banana streak IM virus</i>               | <i>Badnavirus betavirgamusae</i>    | BSIMV    | KT895258                    |
| <i>Banana streak virus Acuminata Yunnan</i> | <i>Badnavirus iotavirgamusae</i>    | BSVNV    | DQ092436                    |
| <i>Banana streak virus Acuminata Yunnan</i> | <i>Badnavirus iotavirgamusae</i>    | BSVNV    | AY750155                    |

|   |                                   |       |          |
|---|-----------------------------------|-------|----------|
| <i>Banana streak virus Acuminata Yunnan</i> | <i>Badnavirus iotavirgamusae</i>  | BSVNV | KJ013510 |
| <i>Banana streak Mysore virus</i>           | <i>Badnavirus gammavirgamusae</i> | BSMYV | KF724854 |
| <i>Banana streak Mysore virus</i>           | <i>Badnavirus gammavirgamusae</i> | BSMYV | AY805074 |
| <i>Banana streak Mysore virus</i>           | <i>Badnavirus gammavirgamusae</i> | BSMYV | EU140339 |
| <i>Banana streak Mysore virus</i>           | <i>Badnavirus gammavirgamusae</i> | BSMYV | KR014107 |
| <i>Banana streak Mysore virus</i>           | <i>Badnavirus gammavirgamusae</i> | BSMYV | KF724854 |
| <i>Banana streak Mysore virus</i>           | <i>Badnavirus gammavirgamusae</i> | BSMYV | KF724855 |
| <i>Banana streak Mysore virus</i>           | <i>Badnavirus gammavirgamusae</i> | BSMYV | KF724856 |
| <i>Banana streak Mysore virus</i>           | <i>Badnavirus gammavirgamusae</i> | BSMYV | KJ013509 |
| <i>Banana streak GF virus</i>               | <i>Badnavirus alphavirgamusae</i> | BSGFV | AY493509 |
| <i>Banana streak GF virus</i>               | <i>Badnavirus alphavirgamusae</i> | BSGFV | KJ013507 |
| <i>Banana streak GF virus</i>               | <i>Badnavirus alphavirgamusae</i> | BSGFV | HQ593110 |
| <i>Banana streak UM virus</i>               | <i>Badnavirus thetavirgamusae</i> | BSUMV | HQ593109 |
| <i>Banana streak UI virus</i>               | <i>Badnavirus zetavirgamusae</i>  | BSUIV | HQ593108 |

Fonte: Autora (2024)

**Tabela 5.** Quantidade de amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no Nordeste do Brasil.

| Estado              | Quantidade de amostra coletada | Positivas para Badnavírus | Positivas para BSOLV | Positivas para BSGFV | Positivas para BSIMV | Infecção mista (BSOLV-BSGFV) |
|---------------------|--------------------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|------------------------------|
| Alagoas             | 184                            | 145                       | 92                   | 94                   | 00                   | 69                           |
| Pernambuco          | 72                             | 67                        | 32                   | 43                   | 00                   | 31                           |
| Sergipe             | 20                             | 20                        | 20                   | 20                   | 00                   | 20                           |
| Bahia               | 40                             | 40                        | 32                   | 29                   | 00                   | 25                           |
| Paraíba             | 45                             | 45                        | 33                   | 36                   | 00                   | 17                           |
| Ceará               | 45                             | 43                        | 41                   | 35                   | 00                   | 33                           |
| Rio Grande do Norte | 104                            | 97                        | 66                   | 92                   | 00                   | 54                           |

|              |            |            |            |            |           |            |
|--------------|------------|------------|------------|------------|-----------|------------|
| <b>TOTAL</b> | <b>510</b> | <b>457</b> | <b>316</b> | <b>349</b> | <b>00</b> | <b>249</b> |
|--------------|------------|------------|------------|------------|-----------|------------|

**Fonte:** Autora (2024)

**Tabela 6.** Quantidade de amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no estado de Alagoas.

| <b>Quantidade de amostra</b>         | <b>Município</b>            | <b>FP/RP</b> | <b>BSOLV</b> | <b>BSGFV</b> | <b>BSIMV</b> |
|--------------------------------------|-----------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 36                                   | União dos Palmares          | 26           | 06           | 05           | 00           |
| 27                                   | Santana do Mundaú           | 18           | 08           | 16           | 00           |
| 15                                   | Murici                      | 13           | 06           | 13           | 00           |
| 04                                   | Taquarana                   | 3            | 00           | 03           | 00           |
| 19                                   | Palmeira dos Índios         | 13           | 13           | 13           | 00           |
| 20                                   | Palmeira dos Índios - Serra | 16           | 13           | 16           | 00           |
| 03                                   | Tanque d'arca               | 03           | 03           | 03           | 00           |
| 05                                   | Colônia Leopoldina          | 05           | 05           | 05           | 00           |
| 07                                   | São Miguel dos Campos       | 07           | 06           | 00           | 00           |
| 08                                   | Pilar                       | 08           | 05           | 05           | 00           |
| 22                                   | Coruripe                    | 15           | 13           | 03           | 00           |
| 08                                   | Marimbondo                  | 08           | 08           | 05           | 00           |
| 10                                   | Belém                       | 10           | 06           | 07           | 00           |
| <b>TOTAL:</b><br><b>184 amostras</b> |                             | 145          | 92           | 94           | 00           |

**Fonte:** Autora (2024)

**Tabela 7.** Quantidade de amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no estado de Pernambuco.

| <b>Quantidade de amostras</b> | <b>Município</b> | <b>FP/RP</b> | <b>BSOLV</b> | <b>BSGFV</b> | <b>BSIMV</b> |
|-------------------------------|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 72                            | Petrolina        | 67           | 32           | 43           | 00           |
| <b>TOTAL: 72 amostras</b>     |                  |              |              |              |              |

**Fonte:** Autora (2024)

**Tabela 8.** Quantidade de amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no estado de Sergipe.

| Quantidade de amostra     | Município          | FP/RP | BSOLV | BSGFV | BSIMV |
|---------------------------|--------------------|-------|-------|-------|-------|
| 20                        | Itaporanga d'ajuda | 20    | 20    | 20    | 00    |
| <b>TOTAL: 20 amostras</b> |                    |       |       |       |       |

**Fonte:** Autora (2024)

**Tabela 9.** Quantidade de amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no estado da Bahia.

| Quantidade de amostra | Município              | FP/RP | BSOLV | BSGFV | BSIMV |
|-----------------------|------------------------|-------|-------|-------|-------|
| 20                    | Casa Nova              | 20    | 20    | 20    | 00    |
| 20                    | Santo Antônio de Jesus | 20    | 12    | 09    | 00    |
| <b>TOTAL:</b>         |                        | 40    | 32    | 29    | 00    |
| <b>40 amostras</b>    |                        |       |       |       |       |

**Fonte:** Autora (2024)

**Tabela 10.** Quantidade de amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no estado da Paraíba.

| Quantidade de amostra     | Município   | FP/RP | BSOLV | BSGFV | BSIMV |
|---------------------------|-------------|-------|-------|-------|-------|
| 14                        | Pombal      | 14    | 13    | 10    | 00    |
| 21                        | Sousa       | 21    | 11    | 19    | 00    |
| 10                        | São Gonçalo | 10    | 09    | 07    | 00    |
| <b>TOTAL: 45 amostras</b> |             | 45    | 33    | 36    | 00    |

**Fonte:** Autora (2024)

**Tabela 11.** Quantidade de amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no estado do Ceará.

| Quantidade de amostra | Município    | FP/RP | BSOLV | BSGFV | BSIMV |
|-----------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|
| 30                    | Missão Velha | 30    | 29    | 28    | 00    |
| 15                    | Umari        | 13    | 12    | 07    | 00    |
| <b>TOTAL:</b>         |              | 43    | 41    | 35    | 00    |
| <b>45 amostras</b>    |              |       |       |       |       |

**Fonte:** Autora (2024)

**Tabela 12.** Quantidade de amostras foliares de bananeira coletadas e testadas positivas para o primer universal e primers espécie-específicos no estado do Rio Grande do Norte.

| Quantidade de amostra | Município         | FP/RP | BSOLV | BSGFV | BSIMV |
|-----------------------|-------------------|-------|-------|-------|-------|
| 03                    | Assu              | 03    | 00    | 03    | 00    |
| 20                    | Apodi             | 20    | 08    | 20    | 00    |
| 20                    | Mossoró           | 14    | 15    | 09    | 00    |
| 20                    | Alto do Rodrigues | 20    | 20    | 20    | 00    |
| 21                    | Touros            | 20    | 14    | 20    | 00    |
| 20                    | Rio do Fogo       | 20    | 09    | 20    | 00    |
| <b>TOTAL:</b>         |                   | 97    | 66    | 92    | 00    |
| <b>104 amostras</b>   |                   |       |       |       |       |

**Fonte:** Autora (2024)

## **CAPÍTULO II**

### **DETECÇÃO EPISSOMAL E SEQUENCIAMENTO DO GENOMA COMPLETO DE *Badnavirus alphavirgamusae* (BSGFV) EM BANANEIRA NO BRASIL**

## RESUMO

A banana é a fruta *in natura* mais consumida no mundo, o que confere à cultura uma grande importância socioeconômica. O Brasil é o quarto maior produtor mundial, produzindo 6,8 milhões de toneladas e produtividade de 15t/ha, sendo considerada baixa. Um dos principais fatores que contribuem para essa baixa produtividade é a ausência de cultivares resistentes a doenças, incluindo àquelas ocasionadas por vírus. Para análise dos vírus associados a bananeiras (*Musa* sp.) foram coletadas amostras foliares assintomáticas ou apresentando sintomas semelhantes a infecções por badnavírus em áreas de cultivos no Nordeste brasileiro entre 2021 e 2023, realizado extração de DNA total, amplificação por PCR e as amostras testadas positivas foram usadas como molde para amplificação por RCA do genoma viral e submetidas a sequenciamento de alto rendimento usando a plataforma Illumina MiSeq no Laboratório Central de Tecnologias de Alto Desempenho em Ciências da Vida (LaCTAD), da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Com isso, foi montada uma sequência de *Badnavirus alphavirgamusae* (BSGFV). Em análises de comparações pareadas, o isolado de BSGFV, compartilhou entre 98,4% a 99,0% de identidade com outras sequências de BSGFV que infectam banana disponíveis no GenBank. Na árvore filogenética de Inferência Bayesiana, o isolado do presente estudo agrupou com o vírus BSGFV em um clado isolado, confirmando as análises de comparação pareadas. O novo isolado de BSGFV é uma provável sequência recombinante, com breakpoints de recombinação nas posições de nucleotídeos inicial 954 e final 2360, que abrange o final da ORF1, ORF2 e início da ORFIII. Até então, essa é a primeira sequência de genoma completo caracterizada a partir de bananeira no Brasil.

**Palavras-chave:** *Badnavirus*, Banana streak GF virus, *Caulimoviridae*, Sequenciamento de nova geração, *Musa*, *Musaceae*.

## 4.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas no mundo, sendo o quarto maior produtor de bananas (*Musa* sp.), ficando atrás da Índia, China e Indonésia, segundo os dados da FAO (FAOSTAT, 2021). A produção brasileira de bananas está distribuída nos 27 estados brasileiros, sendo a segunda fruta mais importante em área colhida, quantidade produzida, valor de produção e consumo, ficando atrás apenas da laranja (EMBRAPA, 2021). A nível nacional, destacam-se os estados de São Paulo, Bahia, Minas Gerais, Ceará e Pará, que juntos representam 51,6% da produção nacional (IBGE, 2022). Na região Nordeste, além da Bahia e Ceará, se destacam Pernambuco, Alagoas e Sergipe (Amaro et al., 2021). A cultura constitui uma importante fonte de receita para os agricultores, já que seu cultivo é realizado principalmente por pequenos e médios produtores. A banana também desempenha um papel fundamental como fornecedora de nutrientes essenciais, tais como vitaminas, minerais e fibras, contribuindo para a segurança alimentar da população geral. Por ser uma fruta versátil, pode ser consumida de várias maneiras, tanto *in natura*, cozida, ou usada em bolos, doces e outros alimentos (Perrier et al., 2011).

A produtividade brasileira de 15 t/ha, sendo considerada baixa. Um dos principais fatores que contribuem para isso é a ausência de cultivares resistentes a doenças, incluindo àquelas ocasionadas por vírus. A estria da bananeira é uma das doenças mais importantes para a cultura, sua transmissão é em maioria através de cochonilhas (Hemiptera: Pseudococcidae) de maneira semi-persistente. Essa doença causa perdas significativas de produção e afeta a qualidade dos frutos. Um complexo de nove diferentes espécies do badnavírus banana streak virus (BSV) causa a estria da bananeira e está amplamente distribuída em todas as áreas de cultivo do mundo (Bhat et al., 2016; Bhat et al., 2023). Os vírus do complexo BSV pertencem ao gênero *Badnavirus* (família *Caulimoviridae*), que engloba vírus com genomas semi circulares de DNA de fita dupla (dsDNA) com tamanho de 7,0-9,2 kbp e encapsidados em partículas baciliformes não-envelopadas (Teycheney et al., 2020). Em grande parte das espécies desse gênero, o genoma viral codifica ao menos três *open reading frames* (ORF), referidas como ORF1, 2 e 3. A proteína codificada pela ORF1 está associada ao vírion (Cheng et al., 1996), enquanto a ORF2 codifica uma proteína de ligação a ácidos nucleicos (Jacquot et al., 1996). Já a ORF3, representa quase 80% do genoma dos badnavírus e codifica uma poliproteína incluindo domínios conservados como capsídeo viral, proteína de movimento, aspartato protease, transcriptase reversa (RT) e ribonuclease H (RNase H),

que são responsáveis pela replicação dos badnavírus (Medberry *et al.*, 1990; Geering; Hull, 2012). Os badnavírus são conhecidos como pararetrovírus porque se replicam por meio de um intermediário de RNA, que também serve como modelo para a tradução de proteínas (Geering; Hull, 2012; Bhat *et al.*, 2016).

Adicionalmente, o genoma nuclear de todas as cultivares interespecíficas de bananeira abrigam sequências endógenas de BSV (eBSVs) (Chabannes *et al.*, 2013, Umber *et al.*, 2022). Sequências infecciosas de eBSVs podem ser ativadas por estresse abiótico e biótico, levando a infecções espontâneas por vírus cognatos, impactando diretamente na diagnose e melhoramento genético da bananeira, além de aumentar a preocupação com o risco de surtos da estria da bananeira (Umber *et al.*, 2022).

No Brasil, há relatos do vírus da estria da banana (BSV) em diferentes estados, no entanto, até o presente momento, apenas três espécies foram identificadas de forma epissomal: *Badnavirus deltavirgamusae* (BSOLV), *Badnavirus alphavirgamusae* (BSGFV), *Banana streak Uganda virus* (BSUgBV), *Badnavirus gammavirgamusae* (BSMYV), BSBV (Brioso *et al.*, 2011, Figueiredo *et al.*, 2006, Poltronieri *et al.*, 2009, Carnelossi *et al.*, 2014, Farias, 2016; Farias *et al.*, 2018; Caldas, 2019). Essas espécies foram identificadas com base na detecção com primers espécie específicos e/ou sequenciamento da região RT-RNaseH, usada para demarcar as espécies que pertencem a este gênero de acordo com o critério de  $\geq 80\%$  de identidade nucleotídica, adotado pelo Comitê Internacional em Taxonomia de Vírus – ICTV (Teycheney *et al.*, 2020). No entanto, nenhum isolado das espécies de BSV que ocorrem no Brasil teve seu genoma completamente caracterizado. Portanto, o presente estudo, teve como objetivo analisar o viroma de DNA circular associado a bananeiras (*Musa* sp.) infectadas por BSV na região Nordeste do Brasil.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Amostras de plantas e amplificação viral

Entre os anos de 2021 e 2023, foram coletadas amostras foliares de bananeiras assintomáticas e com sintomas indicativos de infecção por BSV, como estrias cloróticas, em áreas de produção nos estados de Sergipe, Bahia, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará.

As amostras foliares foram acondicionadas em sacos de papel e armazenadas em ultra freezer a -80°C até o seu processamento no Laboratório de Fitopatologia Molecular e Virologia Vegetal, do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo - AL.

O DNA total foi extraído, individualmente, a partir de cada amostra foliar seguindo o protocolo CTAB (Doyle & Doyle, 1987) adaptado por Ramos-Sobrinho, 2020. As amostras foram testadas, por PCR, usando um primers para amplificação da região genômica da RT-RNase H do gênero *Badnavirus* (Yang *et al.*, 2003). Para caracterização molecular do viroma de DNA circular, preparações individuais de DNA total foram usadas como molde para amplificação por círculo rolante (RCA) (Inoue-Nagata, 2004) usando o kit de amplificação Illustra TempliPhi (Cytiva) de acordo com as instruções do fabricante. Posteriormente, o produto de RCA foi submetido a uma nova amplificação por PCR, utilizando os primers BadnaFP/BadnaRP (Yang *et al.*, 2003), para detecção da forma episomal do vírus.

#### 4.2.2 Sequenciamento de alto rendimento

Um pull de amostras foi formado com as reações RCA, que posteriormente foi submetida ao sequenciamento de alto rendimento (HTS) usando a plataforma Illumina MiSeq no Laboratório Central de Tecnologias de Alto Desempenho em Ciências da Vida (LaCTAD), da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) (Campinas, São Paulo, Brasil). As bibliotecas *paired-end* foram construídas usando o kit Illumina DNA Prep (Illumina Inc., Califórnia, EUA) seguindo o protocolo do fabricante.

#### 4.2.3 Montagem de sequência *de novo*

A qualidade das leituras do Illumina foi avaliada usando o programa FastQC v.0.11.5 ([www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/](http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/)), e as leituras de baixa qualidade (pontuação Q < 20) e as sequências do adaptador foram cortadas usando Trimmomatic v.0.38 (Bolger *et al.*, 2014). As leituras cortadas do Illumina foram montadas de novo no SPAdes v.3.15.4 (Bankevich *et al.*, 2012). Para avaliar adicionalmente a qualidade dos contigs circulares, leituras aparadas foram mapeadas contra as sequências do genoma do gênero *Badnavirus* usando Bowtie2 (Langmead & Salzberg, 2012) e ajustadas manualmente no IGV v.2.4.13 (Robinson *et al.*, 2017). Por

fim, os contigs baseados em Illumina foram analisados usando BLASTn (Altschul *et al.*, 1990) para procurar suas sequências de vírus mais intimamente relacionadas disponíveis no banco de dados não redundante NCBI-GenBank. As ORFs virais previstas foram identificadas usando o NCBI-ORF Finder ([www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder)).

#### 4.2.4 Demarcação de espécies virais e análise de recombinação

O conjunto de dados foi composto pelo novo isolado de *Musa* spp. e genomas completos das espécies de BSVs que infectam banana, obtidos pelo NCBI-GenBank. Além disso, as sequências de nucleotídeos de RT-RNase H foram recuperadas dos genomas completos. Ambos os conjuntos de dados do genoma completo e RT-RNase H foram usados para comparações de sequências de nucleotídeos pareados por meio do programa SDT (*Sequence Demarcation Tool* v. 1.2) (Muhire *et al.*, 2013). Para detectar eventos de recombinação, os genomas completos foram analisados por nove métodos, usando o *Recombination Detection Program* (RDP) v.4. (Martin *et al.*, 2015).

#### 4.2.5 Análise filogenética

Alinhamentos múltiplos de sequências nucleotídicas baseado no genoma completo e nas sequências de nucleotídeos RT-RNase H dos badnavírus provenientes de banana e outros isolados disponíveis no GenBank foram preparados para o conjunto de dados utilizando o algoritmo MUSCLE (Edgar, 2004) e ajustados manualmente no pacote MEGA 7.0 (Tamura *et al.*, 2013). O alinhamento do conjunto de dados foi utilizado para gerar árvores filogenéticas de inferência bayesiana no portal CIPRES (Miller *et al.*, 2010) usando MrBayes v.3.2.3 (Ronquist *et al.*, 2012). O melhor modelo de substituição de nucleotídeos foi determinado para cada conjunto de dados usando o MrModeltest v.2.3 (Posada & Buckley, 2004) de acordo com o *Akaike Information Criterion* (AIC). As análises consistiram em duas repetições com quatro cadeias cada para 10 milhões de gerações e amostragem a cada 1.000 gerações. As primeiras 2.500 árvores por corrida foram descartadas como um burn-in. Os valores de probabilidade posterior (Rannala & Yang, 1996) foram determinados a partir da árvore de consenso da regra da maioria reconstruída com as 15.000 árvores restantes. As árvores filogenéticas foram visualizadas e editadas em FigTree v.1.4 ([ztree.bio.ed.ac.uk/software/figtree](http://ztree.bio.ed.ac.uk/software/figtree)) e Inkscape v.1.1 (<https://inkscape.org/pt/>).

#### 4.2.6 Análise de recombinação

Possíveis sequências parentais e pontos de interrupção de recombinação foram determinados usando os métodos rdp, Geneconv, Bootscan, Maximum Chi Square, Chimaera, SisterScan e 3Seq implementados no *Recombination Detection Program* (RDP) v. 3.44 (Martin *et al.*, 2010). Os alinhamentos foram escaneados com configurações padrão para os diferentes métodos e a significância estatística foi inferida por um valor de P menor que um corte corrigido por Bonferroni de 0,05. Apenas eventos de recombinação detectados por pelo menos três métodos diferentes foram considerados confiáveis. Porções supostamente recombinantes de genomas foram comparadas por BLAST com o banco de dados de nucleotídeos não redundantes do GenBank para identificar espécies adicionais que podem ter servido como sequências parentais. Evidências de evolução não semelhante a uma árvore foram avaliadas para conjuntos de dados CP e Rep usando o método Neighbor-Net (Bryant & Moulton, 2004) implementado no SplitsTree v. 4.10 (Huson & Bryant, 2006).

### 4.3 RESULTADOS

Um total de 22 amostras foliares de bananeira testaram positivas através de amplificação por PCR para infecção epissomal de badnavírus (Tabela 1). Foi formado um pull com duas amostras selecionadas para o sequenciamento de alto rendimento (HTS), sendo elas, uma proveniente de União dos Palmares (UP21) e uma de Santana do Mundaú (SM15), ambas do estado de Alagoas. O sequenciamento Illumina produziu uma única sequência de genoma completo de badnavírus com 7263 pb de comprimento, denominada como UFAL2024 (Figura 1). As ORFs 1 (483 – 1010 pb); 2 (1007 – 1345 pb) e 3 (1342 – 6837 pb) foram previstas a partir do genoma viral e foram encontradas características adicionais do gênero, como sequência do sítio de ligação do primer tRNA<sup>met</sup>, TATA box e sinal de poliadenilação. Com base no limite de identidade de nucleotídeos  $\geq 80\%$  para a demarcação de espécies de *Badnavirus*, a análise SDT mostrou que a sequência desses isolados pertencem a *Badnavirus alphavirgamusae* (BSGFV) com genomas completos compartilhando 98,2% - 99,0% de identidade (Figura 2). A árvore de Inferência Bayesiana a qual mostrou que o isolado UFAL2024 agrupou com isolados previamente conhecidos de *Badnavirus alphavirgamusae* (BSGFV), confirmando as análises SDT (Figura 3).

A análise de evolução reticulada de badnavírus que infetam bananeira revelou forte evidência de recombinação com um importante mecanismo evolutivo que molda a

diversidade genética desses vírus (Figura 4). A análise *neighbor-net* mostrou que o isolado UFAL2024, e outros BSGFV previamente caracterizados são provavelmente de origem recombinante. Para melhor confirmar o padrão de recombinação, os genomas completos foram analisados utilizando o pacote RDP4. Ao menos oito eventos de recombinação independentes associados a *P-values* estatisticamente significativos foram detectados por ao menos 5 métodos (Tabela 2). Três eventos de recombinação foram preditos para o isolado UFAL2024, nos quais este foi identificado como um provável recombinante ou sequência parental. O isolado UFAL2024 e BSOLV foram detectados como menor parental e maior parental no evento de recombinação 3, com breakpoints localizados na região codificadora (ORF 1) (Figura 4; Tabela 2). O evento de recombinação 4, o isolado UFAL2024 foi identificado como provável recombinante, com breakpoints localizados entre os nucleotídeos 954 a 2630, que corresponde as regiões codificadoras (ORFs 1, 2 e 3). Neste evento, BSMYV e BSCAV foram previstos como sequências menor e maior parentais, sugerindo que pode ser um evento de recombinação interespecie (Figura 4; Tabela 2). Enquanto, o evento de recombinação 6 detectou o isolado UFAL 2024 e BSCAV, respectivamente, como maior e menor parental, com breakpoints localizados na região codificadora da ORF 3 e região intergênica. (Tabela 2).

#### 4.4 DISCUSSÃO

A banana é uma importante cultura alimentar básica cultivada em países tropicais e subtropicais. A banana sobremesa é a fruta fresca mais exportada no mundo, tanto em volume como em valor, representando uma fonte essencial de rendimento e emprego para centenas de milhares de famílias rurais nos países em desenvolvimento (Scott, 2021), como o Brasil, sobretudo na região Nordeste (Ribeiro *et al.*, 2013; ABRAFRUTAS *et al.*, 2024).

A estria da bananeira, doença causada por um complexo de espécies do badnavírus banana streak virus (BSVs), está presente em todas as áreas de cultivo de banana em escala mundial e considerada a principal ameaça para a sua produção (Chabannes *et al.*, 2013, Sharma *et al.*, 2014; Bhat *et al.*, 2016; Duroy *et al.*, 2016, Tripathi *et al.*, 2019, Chabannes *et al.*, 2021; Umber *et al.*, 2022; Bhat *et al.*, 2023).

Desde 1999 é conhecido que o genoma de *Musa balbisiana* (Harper *et al.*, 1999) e mais recentemente *M. acuminata* (Chabannes *et al.*, 2021) abriga um grande número de sequências endógenas de badnavírus (eBSVs), que tem desafiado o melhoramento, o

tráfego de germoplasma e a diagnose viroses causadas por BSV na cultura da banana (Harpper *et al.*, 1999; Chabannes *et al.*, 2013, Sharma *et al.*, 2014; Duroy *et al.*, 2016, Tripathi *et al.*, 2019, Chabannes *et al.*, 2021; Umber *et al.*, 2022).

Sequências de eBSVs inseridas na sua forma integral no genoma de cultivares híbridas de *Musa* podem ser ativadas por várias condições de estresse, como propagação *in vitro*, hibridização e/ou condições desfavoráveis como estresse hídrico e térmico (Iskra-Caruana *et al.*, 2010; Chabannes *et al.*, 2013; Chabannes *et al.*, 2021; Umber *et al.*, 2022) representando um risco potencial de grande escala disseminação de BSVs se a ativação for combinada com transmissão vetorial transmissão das partículas virais (Meyer *et al.*, 2008; Umber *et al.*, 2022).

A ocorrência de badnavírus na forma episomal (BSVs) e integrada (eBSVs) no genoma da banana, impacta diretamente na precisão da diagnose dessas viroses. Embora os primers de PCR descritos por Yang *et al.* (2003) são bem conhecidos por serem incapazes de distinguir entre sequências de RT-RNase H episômicas (BSVs) e integradas (eBSVs), ainda é uma ferramenta importante e frequentemente usada para detecção de badnavírus, mesmo podendo causar resultados falso-positivos (Geering & Hull, 2012; Bhat *et al.*, 2016; Luo *et al.*, 2022). Uma alternativa que tem sido utilizada com sucesso para evitar resultados diagnósticos equivocados, consiste na caracterização de BSV baseada em amplificação de círculo rolante (RCA) seguida por detecção com primers universais e/ou espécie-específicos (James *et al.*, 2011a, James *et al.*, 2011b). RCA também é usado com sucesso no enriquecimento de amostras de badnavírus para o sequenciamento de alto rendimento (HTS) (Sharma *et al.*, 2014, Ramos-Sobrinho *et al.*, 2020; Lima *et al.*, 2023, Diaz-Lara *et al.*, 2020).

Utilizando esta mesma metodologia descrevemos pela primeira vez no Brasil a sequência completa do novo isolado da espécie *Badnavirus alphavirgamusae*, BSGFV-BR-AL (UFAL2024) que infecta bananeira na sua forma episomal. Apesar de outros badnavírus, a exemplo de BSOLV e o próprio BSGFV terem sido encontrados infectando bananeiras no país, nenhum deles teve o seu genoma completamente caracterizado (Carnelossi *et al.*, 2014; Farias *et al.*, 2018).

Este relato contribui para a melhor compreensão da diversidade de badnavírus associada a esta socioeconomicamente importante cultura e pode auxiliar no desenvolvimento de ferramentas moleculares mais confiáveis para o diagnóstico de rotina e caracterização de genomas virais,

BSGFV-BR-AL (UFAL2024) provavelmente surgiu de um evento de recombinação, tendo como parentais os BSVs previamente descritos, BSCAV e BSMYV. Eventos de recombinação tem sido relatado como um importante mecanismo evolutivo atuando na diversificação genética de badnavírus que infectam culturas economicamente importantes, como cacau (*Theobroma cacao*), banana (*Musa spp.*), cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) e *Dioscorea spp* (Sharma *et al.*, 2015; Böomer *et al.*, 2018; Ramos-Sobrinho *et al.*, 2020; Lima *et al.*, 2023).

Sharma *et al.* (2015) detectou traços de recombinação entre os badnavírus da banana e da cana-de-açúcar que indicaram que esse grupo de badnavírus ou seus ancestrais podem ter infectado os hospedeiros comuns em algum momento durante a evolução. O padrão comum de traços de recombinação em ambos os grupos de badnavírus sugeriu ainda que a evolução de ambos os grupos de badnavírus é predominantemente moldada por fatores semelhantes. É interessante notar que muitos pontos de interrupção de recombinação foram detectados usando sequências semelhantes aos parentais, o que indica que a diversidade genética completa dos badnavírus da banana e da cana-de-açúcar não é amostrada atualmente.

O levantamento da diversidade e prevalência de badnavírus ocorrendo nas áreas de cultivo da região Nordeste do Brasil, revelou que os badnavírus BSGFV e BSOLV estão amplamente disseminados nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Sergipe e altas taxas de incidência podem ser observadas para as duas espécies, provavelmente devido a integração desses vírus no genoma da hospedeira (Lima, 2024; comunicação pessoal). Neste mesmo estudo, as infecções epissomais foram causadas por BSMYV. Entretanto, BSGFV e BSOLV foi realizada apenas na detecção com primers espécie-específicos sem distinção previa entre sequências endógenas e epissomais. Contudo não conseguimos, recuperar o genoma completo de BSMYV nesse estudo.

Uma explicação para o ocorrido é que badnavírus naturalmente replica em baixos título viral na hospedeira (Dahal *et al.*, 2000), e suas populações em banana podem compreender uma mistura de vírus com diferentes graus de adaptação. Portanto, que o RCA pode ter amplificado preferivelmente o genoma do vírus mais adaptados que estava replicando em maior taxa. Isso foi observado, em estudo comparando a diversidade de begomovírus quando amplificação por RCA seguida de detecção com primers espécie-específicos e sequenciamento de alto rendimento usando DNA total como molde. O

sequenciamente HTS foi capaz de recuperar maior diversidade de espécies detectando tanto vírus mais adaptados como os menos adaptados (Quadros *et al.*, 2023). RCA pode levar a um viés de amplificação, uma vez que o título viral pode influenciar a escolha do modelo da DNA polimerase phi29 (Gallet *et al.*, 2017) e, portanto, pode não refletir a composição real da população viral.

Portanto, é provável que a diversidade de espécies de BSV ocorrendo na região Nordeste seja subestimada. Estudos adicionais sobre a caracterização de genomas de badnavírus que infectam banana são essenciais para revelar a real diversidade de espécies e variabilidade molecular de populações desses vírus em *Musa* spp.

O conhecimento sobre os BSVs no Brasil é crucial para proteger a agricultura nacional e garantir a segurança alimentar. Através do mapeamento da doença e do desenvolvimento de técnicas de controle, podemos evitar perdas significativas na produção agrícola e garantir a sustentabilidade do setor.

## CONCLUSÃO

- Esse é o primeiro relato do sequenciamento do genoma completo de um badnavírus infectando banana no Brasil;
- Através do sequenciamento do genoma completo, utilizando sequenciamento Illumina MiSeq, foi possível detectar o Badnavirus alphavirgamuase em bananais de Alagoas.

## REFERÊNCIAS

- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology** 215, p. 403–410, 1990.
- AMARO, GC.; FIDELIS, EG.; SILVA, RS.; MEDEIROS, CM Concentração Espacial da Produção de Bananas (*Musa* spp.) no Brasil– Boa Vista, RR: Embrapa Roraima, 2021.
- BANKEVICH, A.; NURK, S.; ANTIPOV, D.; GUREVICH, A.; DVORKIN, M.; KULIKOV, A.S.; LESIN, V.; NIKOLENKO, S.; PHAM, S.; PRJIBELSKI, A.; PYSHKIN, A.; SIROTKIN, A.; 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** 19(5):455-77, 2012.
- BHAT, A.I.; HOHN, T.; SELVARAJAN, R. Badnaviruses: The Current Global Scenario. **Viruses** 177, 1–29, 2016.
- BHAT; SELVARAJAN; BALASUBRAMANIAN. Emerging and Re-Emerging Diseases Caused by Badnaviruses. **Pathogens**, Basel, Switzerland, 12(2), 245, 2023. <https://doi.org/10.3390/pathogens12020245>
- BOLGER, A.M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. **Bioinformatics** 30(15): 2114–2120. 2014.
- BRIOSO, P. S. T.; PEREIRA, J. C.R.; GASPAROTTO, L. Ocorrência de *badnavírus* em frutos de bananeira no estado do Amazonas, Brasil. **Revista Brasileira Fruticultura**, V. 33, N. 4, P. 1353-1355, 2011.
- CARNELOSSI, P.; BIJORA, T.; FACCO, C. U.; SILVA, J. M.; PICOLI, M. H. S.; SOUTO, E. R.; OLIVEIRA, F. T. Epissomal detection of *Banana Streak OL vírus* in single and mixed infection with *Cucumber mosaic vírus* in banana ‘Nanicão Jangada’. **Tropical Plant Pathology**, v.39, n.4, p.342-346, 2014.
- 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. **Molecular plant pathology**, 22(2), 216–230, 2021. DOI <https://doi.org/10.1111/mpp.13019>
- CHENG, C.P.; LOCKHART, B.E.; OLSZEWSKI, N.E. The ORF I and II Proteins of Commelina yellow mottle virus are virion-associated. **Virology** 223:263-271, 1996.
- DIAZ-LARA, A.; MOSIER, N.J.; STEVENS, K.; KELLER, K.E.; MARTIN, R. Evidence of *Rubus* Yellow Net Virus Integration into the Red Raspberry Genome. **Cytogenetic and Genome Research** 160 (6): 329-334, 2020. DOI <https://doi.org/10.1159/000509845>
- DOYLE, J.J., DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemistry**. Bull., 19:11-15, 1987.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Boletim de pesquisa e desenvolvimento. Concentração Espacial da produção de bananas (*Musa spp.*) no Brasil. Embrapa Roraima 2021. Disponível em; <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1142274/1/C-Boletim-51-Concentracao-Bananas.pdf>

FIGUEIREDO, D. V.; MEISSNER FILHO, P. E.; SILVA NETO, S. P.; BRIOSO, P. S. T. Detection and analysis of Banana streak vírus (BSV) sequences variability of banana from Brazil. **Summa Phytopathologica**, v.32, n. p. 118-123, 2006.

GEERING, A.D.W.; HULL, R. (2012). Family Caulimoviridae. In Virus Taxonomy. 9th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses; King, A.M.Q., Adams, M.J., Carstens, E.B., Lefkowitz, E.J., Eds.; Elsevier **Academic Press**: London, UK, 429–443.

HARPER, G.; OSUJI, J.O.; HESLOP-HARRINSON, P.; HULL, R. Integration of Banana streak badnavirus into the *Musa* genome: molecular and cytogenetic evidence. **Virology**, San Diego, v.255, n.2, p.207-213, 1999.

INOUE-NAGATA, A.K. A simple method for cloning the complete begomovirus genome using the bacteriophage  $\phi$ 29 DNA polymerase. **Journal of Virological Methods** 116:209–211, 2004.

ISKRA-CARUANA, Marie-Line et al. A four-partner plant–virus interaction: enemies can also come from within. **Molecular plant-microbe interactions**, v. 23, n. 11, p. 1394-1402, 2010.

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** 225:191-195, 1996.

JAMES, A. P.; GEIJSKES, R.J.; DALE, R.M.; HARDING, R.M. Molecular characterization of six Badnavirus species associated with leaf streak disease of banana in East Africa. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 158, p. 346-53, 2011a

JAMES, A. P.; GEIJSKES, R. J.; DALE, J. L.; HARDING, R. M. Development of a novel rolling-circle amplification technique to detect Banana streak vírus that also discriminates between integrated and episomal vírus sequences. **Plant Disease**, v. 95, p. 57-62, 2011b.

LANGMEAD B.; SALZBERG S. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. **Nature Methods** 9:357-359, 2012.

LIMA, M.O., FERRO, M.M.M., RAMOS-SOBRINHO, R. *et al.* DNA virome of Brazilian sugarcane germplasm via high-throughput sequencing reveals divergent badnavirus species. **Tropical plant pathology**. 48, 713–719, 2023. DOI <https://doi.org/10.1007/s40858-023-00606-4>

LUO, G.F., PODOLYAN, A., KIDANEMARIAM, D.B., PILOTTI, C., HOULISTON, G., SUKAL, A.C. A Review of Viruses Infecting Yam (*Dioscorea* spp.). **Viruses**, 14:662. 2022,

MARTIN, D.P.; MURRELL, B.; GOLDEN, M.; KHOOSAL, A.; MUHIRE, B. RDP4: Detection and analysis of recombination patterns in virus genomes. **Virus Evolution** 1, 1–5, 2015.

MEDBERRY, S.L.; LOCKHART, B.E.L.; 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 Research** 18:5505-5513, 1990.

MEYER, J. B., KASDORF, G. G. F., NEL, L. H., & PIETERSEN, G. Transmission of activated episomal banana streak OL virus (BSOLV) to cv. Williams banana (*Musa* sp.) by threemealybug species. **Plant Disease**, 92, 1158–1163, 2008.

MUHIRE, B.M.; VARSANI, A.; MARTIN, D.P. SDT: A virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. **PLoS ONE** 9, e108277, 2014.

PERRIER, X.; LANGHE, E.; DONOHUE, M.; LENTFER, C.; VRYDAGHS, L.; BAKRY, F.; CARREEL, F.; HIPPOLYTE, I.; HORRY, J. P.; JENNY, C.; LEBOT, V.; RISTERUCCI, A. M.; TOMEKPE, K.; DOUTRELEPONT, H.; BALL, T.; MANWARING, J.; MARET, P.; DENHAM, T. Multidisciplinary perspectives on banana (*Musa* spp.) domestication. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, Washington, v. 108, n. 28, p. 1311-1318, 2011.

POLTRONIERI, L. S.; FIGUEIREDO, D. V.; BRIOSO, P. S. T.; VERZIGNASSI, J. R.; CARDOSO, S. S. Constatação do Banana streak Uganda B virus em bananeiras no Estado do Pará, **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 35, n. 1, p. 74, 2009.

POSADA, D.; BUCKLEY, T. Model Selection And Model Averaging In Phylogenetics: Advantages Of Akaike Information Criterion And Bayesian Approaches Over Likelihood Ratio Tests. **Systematic Biology**, 53:793-808, 2004.

RAMOS-SOBRINHO, R.; CHINGANDU, N.; GUTIERREZ, O.A.; MARELLI, J.-P.; AND BROWN, J.K. A complex of badnavirus species infecting cacao reveals mixed infections, extensive genomic variability, and interspecific recombination. **Viruses** 12, 443, 2020. doi:10.3390/v12040443.

RANNALA, B.; YANG, Z.H. Probability distribution of molecular evolutionary trees: A new method of phylogenetic inference. **Journal of Molecular Evolution** 43:304-311, 1996.

RIBEIRO, L. R.; OLIVEIRA, L. M.; SILVA, S. O. E.; BORGES, A. L. Avaliação de cultivares de bananeira em sistema de cultivo convencional e orgânico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 508-517. Jaboticabal – São Paulo, 2013.

ROBINSON, J.T.; THORVALDSDÓTTIR, H.; WENGER, A.M.; ZEHIR, A.; MESIROV, J.P. Variant Review with the Integrative Genomics Viewer (IGV). **Cancer Research** 77:31-34, 2017.

RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; VAN DER MARK, P.; AYRES, D.L.; DARLING, A.; HOHNA, S.; LARGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M.A.; HUELSENBECK, J.P. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. **Systematics Biology** 61:539-542, 2012.

SHARMA, Susheel Kumar et al. Occurrence and distribution of banana streak disease and standardization of a reliable detection procedure for routine indexing of banana streak viruses in India. **Scientia Horticulturae**, v. 179, p. 277-283, 2014.

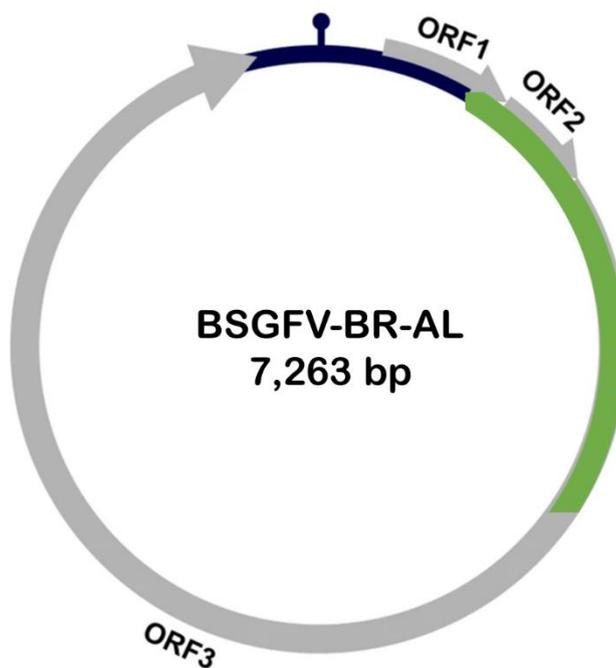
SHARMA S.K., VIGNESH KUMAR P., GEETANJALI A.S., PUN K.B., BARANWAL V.K. Subpopulation level variation of banana streak viruses in India and common evolution of banana and sugarcane badnaviruses. **Virus Genes**. 50:450–465. DOI 10.1007/s11262-015-1179-8, 2015.

TRIPATHI, J.N., NTUI, V.O., RON, M. *ET AL.* CRISPR/Cas9 editing of endogenous *banana streak virus* in the B genome of *Musa* spp. overcomes a major challenge in banana breeding. **Communications Biology**. 2, 46, 2019. DOI <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0288-7>

YANG, I. C. et al. Genomic characterisation of taro bacilliform virus. **Archives of Virology**, v. 148, p. 937-949, 2003.

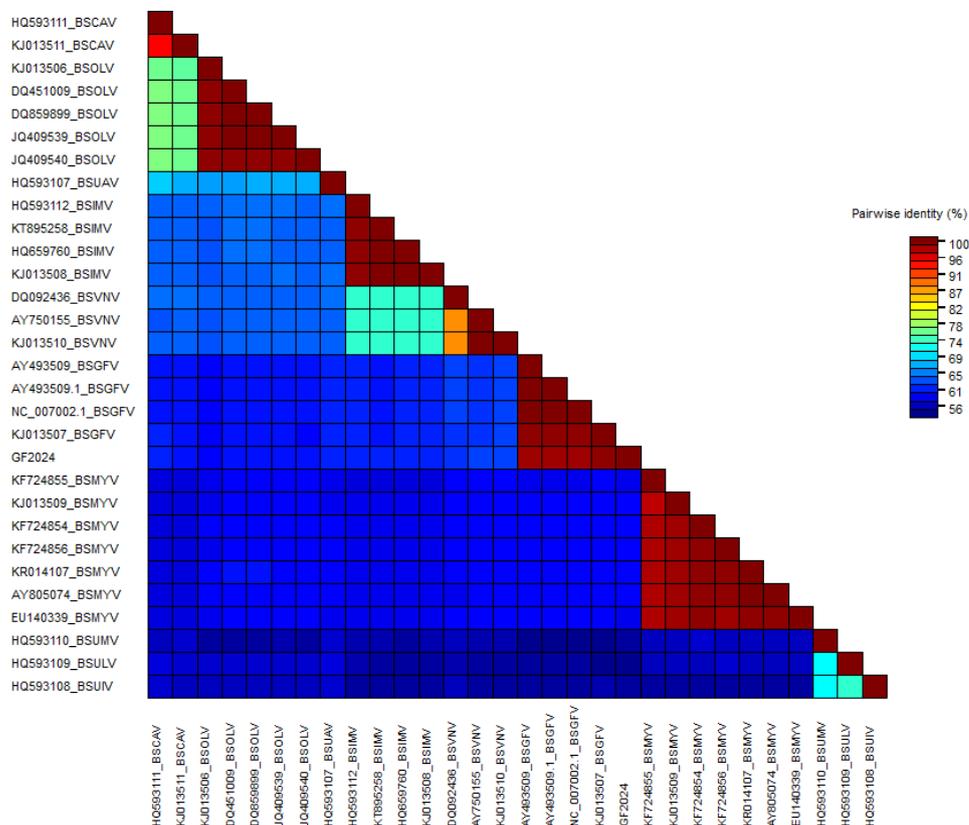
## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Organização genômica dos badnavírus recém-descobertos *Badnavirus alphavirgamusae* (BSGFV-BR) infectando *Musa* spp. A região recombinante foi detectada pelo pacote RDP4, é indicado por caixa verde.



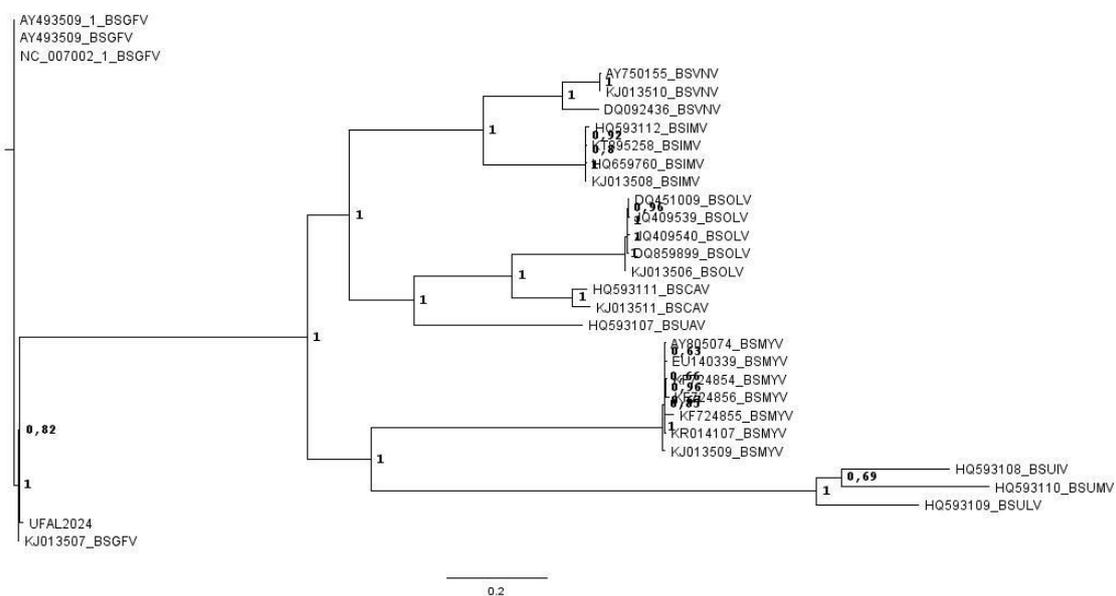
**Fonte:** Autora (2024)

**Figura 2.** Gráfico bidimensional codificado por cores representando as porcentagens de identidade de nucleotídeos par-a-par para sequências do genoma completo dos isolados virais obtidos de banana infectados por badnavírus depositadas no GenBank e o isolado obtido nesse trabalho. A escala representa porcentagem, de identidade referente a cada cor.



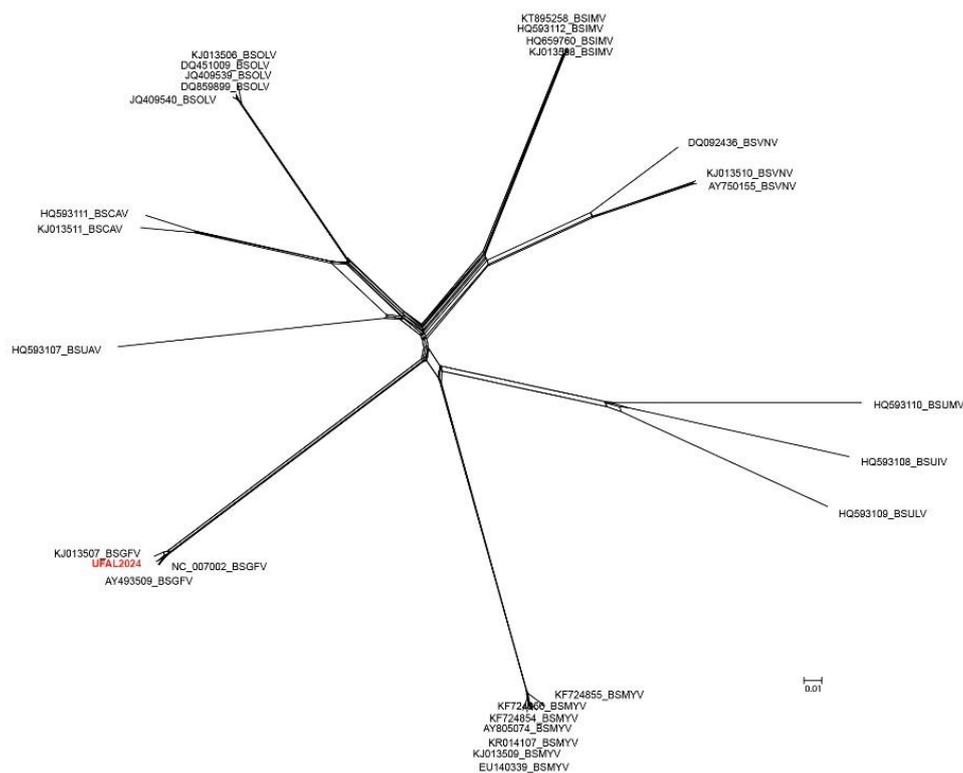
Fonte: Autora (2024)

**Figura 3.** Árvore filogenética de Inferência Bayesiana baseada na sequência do genoma completo dos vírus provenientes de coletas em áreas de plantio de banana no nordeste brasileiro e outros badnavírus obtidos no GenBank.



**Fonte:** Autora (2024)

**Figura 4.** Neighbor-net mostrando genomas completos baseados em evolução não semelhante a uma árvore de badnavírus que infectam banana. Os isolados relatados aqui são mostrados em negrito e vermelho.



**Fonte:** Autora (2024)

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Amostras submetidas à amplificação do DNA viral circular por RCA.

| Amostra | PCR<br>primer universal | PCR<br>primer espécie-<br>específicos | RCA | PCR do<br>RCA |
|---------|-------------------------|---------------------------------------|-----|---------------|
| BL3     | +                       | -                                     | +   | -             |
| BL4     | +                       | -                                     | +   | +             |
| CO1     | +                       | -                                     | +   | -             |
| MV22    | +                       | -                                     | +   | +             |
| PL6     | +                       | -                                     | +   | +             |
| PL7     | +                       | -                                     | +   | -             |
| PL8     | +                       | -                                     | +   | +             |
| PT1     | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT2     | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT3     | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT4     | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT5     | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT6     | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT7     | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT8     | +                       | -                                     | +   | +             |
| PT9     | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT10    | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT11    | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT12    | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT13    | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT14    | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT15    | +                       | -                                     | +   | +             |
| PT16    | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT17    | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT18    | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT19    | +                       | -                                     | +   | -             |
| PT20    | +                       | -                                     | +   | -             |
| SAJ5    | +                       | -                                     | +   | +             |
| SAJ6    | +                       | -                                     | +   | -             |
| SAJ7    | +                       | -                                     | +   | -             |
| SAJ8    | +                       | -                                     | +   | +             |
| SG2     | +                       | -                                     | +   | +             |
| SM1     | +                       | -                                     | +   | +             |
| SM15    | +                       | -                                     | +   | +             |
| SS18    | +                       | -                                     | +   | +             |
| SS19    | +                       | -                                     | +   | +             |
| SC5     | +                       | -                                     | +   | -             |
| UP1     | +                       | -                                     | +   | -             |
| UP10    | +                       | -                                     | +   | -             |
| UP12    | +                       | -                                     | +   | +             |
| UP13    | +                       | -                                     | +   | +             |
| UP14    | +                       | -                                     | +   | -             |
| UP15    | +                       | -                                     | +   | -             |
| UP16    | +                       | -                                     | +   | -             |
| UP17    | +                       | -                                     | +   | -             |
| UP18    | +                       | -                                     | +   | -             |
| UP20    | +                       | -                                     | +   | -             |
| UP21    | +                       | -                                     | +   | +             |
| UP23    | +                       | -                                     | +   | -             |
| UP27    | +                       | -                                     | +   | -             |
| UP28    | +                       | -                                     | +   | +             |
| UP30    | +                       | -                                     | +   | -             |

**Tabela 1.** Conclui.

|      |   |   |   |   |
|------|---|---|---|---|
| UP31 | + | - | + | + |
| UP32 | + | - | + | + |
| UP34 | + | - | + | + |
| UP36 | + | - | + | - |

**Fonte:** Autora (2024)

**Tabela 2.** Eventos putativos de recombinação detectados nos badnavírus que infectam a banana, com base em sequências genômicas completas

| Events | Breakpoints |      | Recombinant                            | Parents                           |                                       | Methods             | P values |         |
|--------|-------------|------|--|-----------------------------------|---------------------------------------|---------------------|----------|---------|
|        | Begin       | End  |  | Minor                             | Major                                 |                     | Lowest   | Highest |
| 1      | 6547        | 7052 | ^KJ013506_B<br>SOLV                    | HQ593107_BSUAUV                   | DQ859899_BSOLV                        | <b>R</b> GBM<br>C3  | 2.5E-24  | 2.5E-09 |
| 2      | 855         | 1199 | HQ593107_B<br>SUAUV                    | HQ593109_BSULV                    | DQ092436_BSVNV                        | <b>R</b> GBM<br>CS3 | 1.1E-14  | 3.7E-06 |
| 3      | 484         | 776  | HQ593107_B<br>SUAUV                    | KJ013507_BSGFV<br><b>UFAL2024</b> | KJ013506_BSOLV<br>JQ409539_BSOLV      | <b>R</b> GBM<br>S3  | 4.7E-09  | 1.3E-02 |
| 4      | 954         | 2360 | ^NC007002_<br>BSGFV<br><b>UFAL2024</b> | KF724855_BSMYV                    | KJ013511_BSCAV                        | <b>R</b> BMC<br>S3  | 4.7E-09  | 1.3E-02 |
| 5      | 396         | 658  | EU140339_B<br>SMYV                     | Unknown<br>(KJ013509_BSMYV<br>)   | AY805074_BSMYV                        | <b>G</b> BMC<br>S3  | 4.5E-07  | 1.9E-03 |
| 6      | 6621        | 7398 | ^HQ593108_<br>BSUIV                    | KJ013511_BSCAV                    | <b>Unknown</b><br>( <b>UFAL2024</b> ) | <b>B</b> MCS<br>3   | 1.5E-05  | 1.1E-02 |
| 7      | 1544        | 2202 | ^HQ593107_<br>BSUAUV                   | HQ593111_BSCAV                    | Unknown<br>(DQ451009_BSOLV<br>)       | RMCS<br>3           | 2.8E-04  | 2.5E-02 |
| 8      | 955         | 1088 | ^HQ593110_<br>BSUMV                    | KJ013511_BSCAV                    | Unknown<br>(KJ013509_BSMYV<br>)       | <b>R</b> GBM<br>C   | 3.5E-17  | 4.9E-03 |

<sup>1</sup>Numbering starts at the 5' end of the minus-strand primer-binding site and increases clockwise. <sup>2</sup>R, RDP; G, GeneConv; B, Bootscan; M, MaxChi; C, Chimera; S, SisScan; 3, 3SEQ. <sup>3</sup>The P values are for the methods indicated in bold (highest) and red (lowest). ^ The recombinant sequence may have been misidentified (one of the identified parents might be the recombinant). (?) The actual breakpoint position is undet

**Fonte:** Aurora (2024)