



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Fitopatologia
Programa de Pós-Graduação em Biologia Microbiana

Dissertação de Mestrado

**Viroma de ssDNA e agentes subvirais de plantas medicinais e plantas alimentícias
não convencionais**

NÁTHALI DA SILVA DE ABREU

Brasília – DF

2026

NÁTHALI DA SILVA DE ABREU

**Viroma de ssDNA e agentes subvirais em plantas alimentícias não convencionais e
medicinais**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Biologia Microbiana, Instituto de
Ciências Biológicas, Universidade
de Brasília, como parte dos
requisitos para obtenção do título
de Mestre em Biologia
Microbiana.

Orientadora:

Dr^a. Rita de Cássia Pereira Carvalho.

FICHA CATALOGRÁFICA

Abreu. N. S.

Viroma de ssDNA e agentes subvirais em plantas alimentícias não convencionais e medicinais

Náthali da Silva

de Abreu

Brasília. 2026.

Número de páginas: 115

Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Biologia Microbiana.

Universidade de Brasília. Brasília. DF.

I - Palavras chaves: Alimentícias não convencionais. Begomovirus.

Genomoviridae. Geminiviridae.

II - Universidade de Brasília. PPG/BioMicro.

III - Viroma de ssDNA e agentes subvirais em plantas alimentícias não convencionais e medicinais

À minha mãe, Maria
Ao meu pai, José
E ao meu irmão, Fábio.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho começa com gratidão. Antes de qualquer resultado ou discussão científica, houve pessoas e presenças que me sustentaram. Lembrar delas desde o início é reconhecer que cada página escrita foi atravessada por apoio, paciência e confiança. É por isso que escolho abrir este texto agradecendo: porque foi a gratidão que me guiou até aqui e que dá sentido a todo o percurso.

Aos meus pais, pelo incentivo constante, pelo apoio silencioso e pelas palavras que sempre me lembram que posso ir longe, mas que nunca estarei distante de casa. Ao meu irmão, que entre uma negativa de um copo d'água e uma ajuda inesperada nas apresentações e pesquisas, mostra o quanto sua generosidade e bondade são infinitas.

À minha prima Larissa e ao meu namorado, Fábio, que me oferecem escuta, conselhos e acolhimento nos momentos em que mais precisei. À Gisleide e à Patrícia, pela amizade verdadeira, pelas conversas que ensinam e pelas presenças que fortalecem.

À Kelfany, cujo coração gentil e acolhedor sempre me lembra de respirar fundo e confiar que toda dificuldade é passageira. Sua inteligência e sensibilidade me inspiram e me fazem enxergar a vida com mais leveza.

À Nathalia, que mesmo à distância e em meio às mudanças da vida nunca deixou de estar presente e sempre me contagia com o seu bom humor. Sua força e resiliência sempre me inspiram a seguir em frente.

Aos colegas de laboratório, pela convivência, troca de conhecimentos e dedicação compartilhada ao longo desta trajetória. Às Dras. Luciane e Priscila, exemplos de competência, perseverança e excelência científica. Ao Felipe e ao Eduardo, pela generosa orientação nas atividades laboratoriais, além do constante apoio e disponibilidade, e cujo incentivo e amizade marcaram profundamente esta jornada.

Aos meus companheiros de quatro patas, Thomas e Arthur Shelby, e às bicudas Flecha e Opala, que transformaram ausências em reencontros cheios de alegria e me lembraram, nos dias

difíceis, do valor de continuar.

À professora Rita, pela orientação, pelo apoio constante e pela parceria que tornou este trabalho possível.

Náthali da Silva de Abreu

Viroma de ssDNA e agentes subvirais em plantas alimentícias não convencionais e
medicinais

Banca Examinadora:

Josiane Goulart Batista
(Membro Externo)

Wellington Santos Fava
(Membro Externo)

Helson Mário Martins do Vale
Membro interno
(suplente)

Dr^a Rita de Cássia Pereira Carvalho
Orientadora

Sumário

Viroma de ssDNA e agentes subvirais em plantas alimentícias não convencionais e medicinais	0
1. Introdução	0
1.1 Vírus de plantas e diversidade viral em agroecossistemas	0
1.2 Plantas alimentícias não convencionais e plantas medicinais.....	1
1.3 Diversidade viral em hospedeiras não convencionais	2
1.4 Justificativa do estudo.....	0
2 Hipótese	1
3. Objetivo geral	1
3.1. Objetivos específicos	1
CAPÍTULO 1	2
Revisão de literatura	3
1. Diversidade de famílias botânicas de plantas alimentícias não convencionais e medicinais	3
2. Doenças virais em plantas alimentícias não convencionais e plantas medicinais	6
3. Vírus de ssDNA (<i>single strand DNA</i>).....	10
3.1. Viroma vegetal e a família <i>Geminiviridae</i> : implicações para plantas medicinais e plantas alimentícias não convencionais	12
3.2. Aspectos biológicos e moleculares dos begomovírus.....	15
4. <i>Gemycircularvirus</i> e a família <i>Genomoviridae</i> : características genômicas e implicações para a virologia de plantas	19
4.1. DNA satélites em <i>Begomovirus</i> : tipos e funções na patogenicidade e evolução viral.....	20
5. Variabilidade genética em vírus fitopatogênicos: especificidades dos begomovírus.....	23
5.1. Contribuição da mutação para a diversificação genética dos vírus	23
5.2. Recombinação de membros de <i>Geminiviridae</i> : mecanismos e implicações	23
5.3. Pseudo-recombinação: mecanismos alternativos de diversificação genética	27
6. Uso do <i>High-Throughput Sequencing</i> (HTS) em virologia vegetal	27
7. Aplicações práticas e estratégias de controle de viroses em plantas cultivadas	31
8. Referências Bibliográficas	33
CAPÍTULO 2.....	48
1. Abstract.....	49
2. Introdução	51
3. Metodologia.....	54
3.1. Obtenção das amostras.....	54
3.2. Extração de DNA	63
3.3. Amplificação do DNA viral por RCA e <i>High-Throughput Sequencing</i> (HTS) e confirmação de hospedeiras	63
3.4. Análise das amostras sequenciadas.....	64
3.5. Desenho de <i>primers</i> específicos para validação por PCR dos vírus detectados por HTS.....	67
3.6. Condições de PCR utilizadas para a detecção de vírus nas amostras	69
3.7. Análise filogenética	69
4. Resultados.....	71
4.1. Sequenciamento e montagem de <i>contigs</i>	71
4.2. <i>Contigs</i> relacionados a begomovírus	76
4.3. Primeiro relato de <i>Begomovirus costai</i> em <i>Euphorbia heterophylla</i>	79
4.4. Identificação de novas espécies de begomovírus.....	80

5.	Discussão	85
5.1.	Diversidade viral em plantas não convencionais e medicinais	85
5.2.	Agentes subvirais associados a begomovírus: diversidade, origem e implicações biológicas	86
5.3.	Novo relato em hospedeiras	87
5.4.	Evidências de variante geneticamente divergente relacionada a tomato severe rugose virus em <i>Euphorbia heterophylla</i>	89
6.	Conclusão.....	91
7.	Referências Bibliográficas	92

LISTA DE FIGURAS E QUADRO

Figura 1 - Rizoma de *Curcuma longa* (a) e rizoma de *Zingiber officinale* acompanhado de bulbos de *Allium sativum* (b). Fonte: Pixabay (<https://pixabay.com/pt/>), acesso em 08 de março de 2026.

Figura 2 - Plantas de *Euphorbia heterophylla* exibindo sintomas típicos de infecção viral, incluindo mosaico clorótico e deformação foliar. (A–C) Diferentes indivíduos sintomáticos observados próximo a campo de soja.

Figura 3 - Distribuição geográfica global de vírus do gênero *Begomovirus*. Os pontos indicam os locais de ocorrência de espécies descritas, conforme registros disponíveis na Master Species List do International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV 2026).

Quadro 1 - Esquema da classificação de Baltimore, que organiza os vírus em sete grupos (I a VII) de acordo com a natureza do genoma viral (DNA ou RNA, fita simples ou dupla) e a estratégia utilizada para a produção de RNA mensageiro (mRNA). As setas indicam os principais processos envolvidos na replicação e expressão gênica, incluindo transcrição, tradução, replicação do genoma e a formação de intermediários de DNA ou RNA, quando aplicável.

CAPÍTULO 2

Figura 1. A-E. Plantas alimentícias não convencionais e medicinais. As plantas amostradas apresentaram sintomas foliares variados, compatíveis com sintomas induzidos por vírus, incluindo mosaico, clorose e deformações foliares A. Boldo (*Peumus boldus*) B. Peixinho da horta (*Stachys byzantina*) C. Hibisco (*Hibiscus* spp) D. Hibisco (*Hibiscus* spp) e E. Vick (*Mentha arvensis*).

Figura 2. Análise de identidade nucleotídica par a par das sequências do componente DNA-A associadas a Euphorbia yellow mosaic virus (EuYMV), incluindo *contigs* obtidos neste estudo e isolados de referência disponíveis no *GenBank*, realizada no software *Sequence Demarcation*

Tool (SDT). Os valores indicam a porcentagem de identidade nucleotídica entre as sequências. Os *contigs* identificados no *pool* analisado apresentam elevada identidade entre si (≥ 97 –100%) e agrupam-se com isolados de referência de EuYMV, corroborando sua classificação taxonômica. O African cassava mosaic virus (ACMV) foi incluído como grupo externo, evidenciando a distinção filogenética em relação aos *contigs* analisados.

Figura 3. Análise de identidade nucleotídica par a par das sequências do componente DNA-A correspondentes a *contigs* geneticamente divergentes identificados por *High-Throughput Sequencing* (HTS), realizada no *software Sequence Demarcation Tool* (SDT). Os valores indicam a porcentagem de identidade nucleotídica entre os *contigs* analisados. A escala de cores representa o gradiente de identidade, variando de menor (azul) a maior identidade (vermelho). Os *contigs* com identidade inferior a 91% entre si atendem ao critério taxonômico estabelecido para o gênero *Begomovirus*, sendo considerados prováveis novas espécies. O *contig* 317 apresenta baixa identidade nucleotídica em relação aos demais *contigs*, evidenciando elevada divergência genética, porém não foi incluído nas análises subsequentes de validação molecular.

Figura 4. Organização genômica dos componentes DNA-A correspondentes aos *contigs* representativos de prováveis novas espécies de *Begomovirus* identificadas neste estudo. Os mapas circulares correspondem aos *contigs* (A) C215, (B) C15, (C) C141 e (D) C139. As ORFs estão indicadas em amarelo e correspondem aos genes do sentido viral (AV1/CP e AV2/MP) e do sentido complementar (AC1/Rep, AC2/TrAP, AC3/REn e AC4), distribuídos ao longo do genoma circular de DNA fita simples. O tamanho total de cada genoma (pb) está indicado no centro de cada mapa. As figuras foram geradas no *software Geneious Prime*.

Figura 5. Organização genômica dos componentes DNA-A correspondentes aos *contigs* representativos de prováveis novas espécies de *Begomovirus* identificadas neste estudo. Os mapas circulares correspondem aos *contigs* (A) C143, (B) C162, (C) C229 e (D) C844. As ORFs estão indicadas em amarelo e correspondem aos genes do sentido viral (AV1/CP e

AV2/MP) e do sentido complementar (AC1/Rep, AC2/TrAP, AC3/REn e AC4), distribuídos ao longo do genoma circular de DNA fita simples. O tamanho total de cada genoma (pb) está indicado no centro de cada mapa. As figuras foram geradas no *software Geneious Prime*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação das amostras vegetais coletadas por região do Brasil, com informações de uso, família botânica, hospedeiro e *status* de identificação taxonômica.

Tabela 2. *Primers* disponíveis na primoteca do Laboratório de Virologia Vegetal – UnB (LVV – Fito) desenhados para o trabalho de Reis et al. (2020) e utilizados para alguns vírus identificados no *pool* em estudo.

Tabela 3. Pares de *primers* desenhados com base em sequências virais consensuais derivadas de sequenciamento de última geração *High-Throughput Sequencing* (HTS) para validação de novas espécies virais.

Tabela 4. *Contigs* virais correspondentes ao componente DNA-A de *Begomovirus* identificados por *High-Throughput Sequencing* (HTS) no *pool* analisado, com informações de cobertura de *reads*, tamanho do genoma montado, identidade nucleotídica e vírus de referência no *GenBank*.

Tabela 5. *Contigs* virais correspondentes ao componente DNA-B de *Begomovirus* identificados por *High-Throughput Sequencing* (HTS) no *pool* analisado, com informações de cobertura de *reads*, tamanho do genoma montado, identidade nucleotídica e vírus de referência no *GenBank*.

Tabela 6. *Contigs* virais de ssDNA não pertencentes ao gênero *Begomovirus* detectados no *pool* P422 por *High-Throughput Sequencing* (HTS), com informações de tamanho do *contig*, cobertura, identidade nucleotídica e vírus de referência mais próximo.

Tabela 7. Validação por PCR dos vírus detectados por *High-Throughput Sequencing* (HTS) em amostras individuais selecionadas.

RESUMO

DA SILVA DE ABREU, NÁTHALI. Universidade de Brasília, fevereiro de 2026. **Viroma de ssDNA e agentes subvirais em plantas alimentícias não convencionais e medicinais**

Orientadora: Prof^a Dr^a. Rita de Cássia Pereira Carvalho.

Plantas alimentícias não convencionais (PANC) e plantas medicinais desempenham papéis relevantes na segurança alimentar, na medicina tradicional e na manutenção da biodiversidade, porém permanecem pouco exploradas como hospedeiras de vírus de plantas. Neste estudo foi realizado um levantamento da diversidade de vírus de DNA fita simples (ssDNA) associados a esses grupos vegetais utilizando sequenciamento de alto desempenho (HTS). Foram analisadas 142 amostras foliares coletadas em todas as regiões do Brasil. Após extração de DNA total, amplificação por círculo rolante (RCA) e sequenciamento na plataforma *Illumina*, a montagem *de novo* das *reads* gerou 86.818 *contigs*, dos quais 48 apresentaram similaridade com sequências virais. Entre estes, 42 *contigs* foram classificados como membros do gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*), incluindo 23 correspondentes ao componente genômico DNA-A e 19 ao DNA-B. A análise de identidade nucleotídica revelou a presença de cinco espécies previamente descritas de begomovírus e sete sequências do componente DNA-A com identidade inferior a 91% em relação a sequências disponíveis no *GenBank*, compatíveis com prováveis novas espécies segundo os critérios taxonômicos do *International Committee on Taxonomy of Viruses*. Além dos begomovírus, foram identificadas sequências relacionadas a alphasatélites, gemycircularvírus e um membro da família *Caulimoviridae*. Destaca-se ainda a detecção de bean golden mosaic virus infectando *Euphorbia heterophylla*, ampliando o espectro de hospedeiras conhecidas para essa espécie viral. Em conjunto, os resultados demonstram que PANC, plantas medicinais e espécies espontâneas podem abrigar uma diversidade relevante de vírus ssDNA, evidenciando o potencial desses grupos vegetais como reservatórios pouco

explorados de diversidade viral em agroecossistemas.

PALAVRAS-CHAVE: *Viroma vegetal, High-Throughput Sequencing, Geminiviridae.*

ABSTRACT

DA SILVA DE ABREU, NÁTHALI. Universidade de Brasília, fevereiro de 2026, **ssDNA Virome and subviral agents of medicinal plants and non-conventional food plants.**

Orientadora: Prof^a Dr^a. Rita de Cássia Pereira Carvalho.

Non-conventional food plants (PANCs) and medicinal plants play important roles in food security, traditional medicine, and biodiversity maintenance; however, they remain poorly explored as hosts of plant viruses. In this study, the diversity of single-stranded DNA (ssDNA) viruses associated with these plant groups was investigated using a High-Throughput Sequencing (HTS) approach. A total of 142 leaf samples collected from different regions of Brazil were analyzed. Following total DNA extraction, rolling circle amplification (RCA), and sequencing on the Illumina platform, de novo assembly generated 86,818 contigs, of which 48 showed similarity to viral sequences. Among these, 42 contigs were classified as members of the genus *Begomovirus* (family *Geminiviridae*), including 23 DNA-A and 19 DNA-B genomic components. Nucleotide identity analysis revealed five previously described begomovirus species and seven DNA-A sequences showing less than 91% nucleotide identity with sequences available in GenBank, consistent with the species demarcation criteria established by the International Committee on Taxonomy of Viruses. In addition to begomoviruses, sequences related to alphasatellites, gemycircularviruses, and one member of the family *Caulimoviridae* were identified. Notably, Bean golden mosaic virus was detected infecting *Euphorbia heterophylla*, expanding the known host range of this virus species. Overall, the results demonstrate that non-conventional food plants, medicinal plants, and spontaneous vegetation may harbor a diverse community of ssDNA viruses, highlighting the potential role of these plant groups as previously underexplored reservoirs of viral diversity in agroecosystems.

KEY-WORDS: Food, *Begomovirus*, *Geminiviridae*.

1. Introdução

1.1 Vírus de plantas e diversidade viral em agroecossistemas

Vírus de plantas constituem um grupo importante de patógenos que afetam espécies cultivadas e plantas espontâneas em diferentes ecossistemas agrícolas e naturais. Esses patógenos podem causar alterações fisiológicas, redução do crescimento e perdas significativas de produtividade em diversas culturas de interesse econômico. Além disso, plantas não cultivadas podem atuar como reservatórios naturais de vírus, contribuindo para a manutenção e disseminação de patógenos em agroecossistemas (Rojas et al. 2018; Jones 2021).

Entre os vírus de plantas, membros da família *Geminiviridae* destacam-se pela ampla distribuição geográfica, elevada diversidade genética e capacidade de infectar numerosas espécies vegetais. Os vírus dessa família possuem genoma composto por DNA fita simples circular e são transmitidos principalmente por insetos vetores, especialmente moscas-brancas do gênero *Bemisia* (Brown et al. 2015). Dentro dessa família, o gênero *Begomovirus* representa o grupo mais numeroso e economicamente importante, sendo responsável por diversas doenças em culturas agrícolas tropicais e subtropicais (Rojas et al. 2018).

Os begomovírus podem apresentar genoma monopartido ou bipartido, sendo este último constituído pelos componentes DNA-A e DNA-B. O componente DNA-A codifica proteínas relacionadas à replicação, encapsidação e regulação da expressão gênica viral, enquanto o DNA-B codifica proteínas envolvidas no movimento viral entre células e tecidos da planta hospedeira (Hanley-Bowdoin et al. 2013). A elevada variabilidade genética observada nesse grupo está associada a processos evolutivos como mutação, recombinação e pseudo-recombinação, que contribuem para o surgimento de novas variantes virais capazes de infectar diferentes hospedeiras (Lefeuvre e Moriones 2015).

Além dos genomas virais, begomovírus frequentemente estão associados a agentes subvirais, como satélites de DNA, que podem influenciar a infecção e a expressão dos sintomas nas plantas hospedeiras. Entre esses agentes destacam-se os alfasatélites e os betassatélites, que

dependem da maquinaria replicativa dos vírus auxiliares para sua manutenção no hospedeiro (Bridson e Stanley 2006). Estudos mais recentes também descreveram uma nova classe de satélites de DNA associada a begomovírus do Novo Mundo, denominada *Clecrusatellite*, ampliando o conhecimento sobre a diversidade de agentes subvirais associados a esses vírus (Fiallo-Olivé et al. 2021).

1.2 Plantas alimentícias não convencionais e plantas medicinais

Plantas alimentícias não convencionais (PANC) correspondem a espécies vegetais com potencial alimentício que, apesar de apresentarem valor nutricional significativo, são pouco utilizadas ou subexploradas nos sistemas agrícolas e alimentares contemporâneos. Muitas dessas espécies são tradicionalmente consumidas por populações locais e apresentam elevado teor de vitaminas, minerais e compostos bioativos (Kinupp e Lorenzi 2014).

As PANC pertencem a famílias botânicas bem distribuídas em ambientes naturais e agrícolas, incluindo espécies frequentemente encontradas em áreas cultivadas, margens de lavouras ou ambientes antropizados. Além de seu potencial nutricional, essas plantas podem desempenhar papel relevante na conservação da agrobiodiversidade e na diversificação dos sistemas alimentares (Padulosi et al. 2013).

De forma semelhante, plantas medicinais possuem grande importância cultural, econômica e terapêutica. Muitas dessas espécies são utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de enfermidades e constituem fonte de compostos bioativos empregados na produção de fitoterápicos e medicamentos (Rates 2001).

Apesar da relevância dessas plantas para a alimentação, saúde e economia local, o conhecimento sobre os seus patógenos ainda é limitado, especialmente no que se refere aos vírus de plantas. Essas espécies são, normalmente, negligenciadas em programas de monitoramento fitossanitário, o que dificulta a compreensão do papel que podem desempenhar como reservatórios naturais de vírus capazes de infectar culturas agrícolas (Ahmad e Khan

2021).

1.3 Diversidade viral em hospedeiras não convencionais

Plantas espontâneas, medicinais e alimentícias não convencionais podem atuar como importantes reservatórios de vírus de plantas em agroecossistemas. A presença de vírus nessas hospedeiras pode favorecer a manutenção de patógenos em períodos de entressafra e contribuir para a emergência de novas doenças em culturas agrícolas (Rojas et al. 2018).

A revisão conduzida por Ahmad e Khan (2021) reuniu registros de begomovírus em plantas medicinais, evidenciando que espécies tradicionalmente utilizadas na medicina popular, como a *Euphorbia heterophylla*, também podem hospedar vírus desse grupo, embora muitas dessas associações permaneçam insuficientemente caracterizadas do ponto de vista molecular.

Nos últimos anos, avanços nas técnicas de sequenciamento de alto desempenho têm ampliado significativamente a capacidade de detectar e caracterizar vírus em diferentes ambientes e organismos. O sequenciamento de alto desempenho (HTS) permite a identificação simultânea de múltiplos vírus presentes em uma mesma amostra vegetal, possibilitando a descoberta de novos vírus e a caracterização da diversidade viral associada a diferentes hospedeiras (Roossinck et al. 2015).

Entre as abordagens utilizadas para o estudo de vírus de DNA fita simples, destaca-se a amplificação por círculo rolante (*rolling circle amplification* – RCA), que permite amplificar seletivamente genomas circulares de DNA antes do sequenciamento. Essa estratégia tem sido empregada na identificação de vírus da família *Geminiviridae* em estudos de virologia vegetal (Inoue-Nagata et al. 2016).

1.4 Justificativa do estudo

Apesar do crescente interesse científico e econômico em plantas alimentícias não convencionais e plantas medicinais, o conhecimento sobre os vírus associados a essas espécies ainda é limitado. A investigação da diversidade viral presente nessas hospedeiras pode contribuir para a compreensão da dinâmica epidemiológica de vírus de plantas e para a identificação de novas espécies virais.

Além disso, a caracterização molecular de vírus presentes em hospedeiras pouco estudadas pode revelar novas estirpes virais e ampliar o conhecimento sobre a diversidade genética de vírus do gênero *Begomovirus*. Considerando a diversidade vegetal presente em ambientes tropicais e a distribuição de begomovírus nesses ecossistemas, estudos voltados para a prospecção viral em espécies não convencionais são importantes para compreender a diversidade e evolução desses patógenos.

Nesse contexto, a utilização de técnicas de sequenciamento de alto desempenho associadas a abordagens moleculares de caracterização viral constitui uma estratégia eficiente para investigar o viroma associado a plantas pouco estudadas e identificar possíveis novas espécies virais.

2 Hipótese

Plantas alimentícias não convencionais e plantas medicinais podem abrigar uma diversidade ainda pouco caracterizada de vírus de DNA fita simples, incluindo vírus pertencentes ao gênero *Begomovirus* e agentes subvirais associados.

3. Objetivo geral

Caracterizar molecularmente vírus de DNA fita simples associados a plantas alimentícias não convencionais e plantas medicinais, com ênfase na diversidade genética de vírus do gênero *Begomovirus*.

3.1. Objetivos específicos

1. Avaliar a diversidade de vírus de DNA fita simples associados a plantas alimentícias não convencionais e plantas medicinais de diferentes famílias botânicas.
2. Caracterizar molecularmente sequências virais detectadas, com ênfase em vírus do gênero *Begomovirus*.
3. Realizar análises comparativas das sequências virais obtidas com genomas depositados em bancos de dados públicos, visando sua classificação taxonômica.

CAPÍTULO 1

Revisão de literatura

1. Diversidade de famílias botânicas de plantas alimentícias não convencionais e medicinais

A diversidade de plantas alimentícias não convencionais (PANC) e de espécies medicinais representa um importante componente da agrobiodiversidade, especialmente em sistemas agrícolas tradicionais e agroecológicos. Essas plantas pertencem a diferentes famílias botânicas e são utilizadas na alimentação humana e na medicina popular devido ao seu valor nutricional e à presença de compostos bioativos com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas (Corado et al. 2020; Fucroze 2026).

De acordo com a definição da Organização Mundial da Saúde, plantas medicinais são espécies vegetais que contêm substâncias ou metabólitos com potencial terapêutico, podendo ser utilizadas na prevenção ou tratamento de doenças. Essas plantas constituem a base de diversos sistemas tradicionais de saúde e têm despertado crescente interesse científico devido ao potencial farmacológico de seus metabólitos secundários (WHO 2019). Entre os exemplos utilizados destacam-se o gengibre (*Zingiber officinale*), a cúrcuma (*Curcuma longa*) e o alho (*Allium sativum*) (**Figura 1**), espécies reconhecidas por suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas (Singh et al. 2023; Latif e Nawaz 2025).



Figura 1. Rizoma de *Curcuma longa* (a) e rizoma de *Zingiber officinale* acompanhado de bulbos de *Allium sativum* (b).
Fonte: Pixabay (<https://pixabay.com/pt/>), acesso em 08 de março de 2026.

Entre as famílias botânicas que incluem espécies alimentícias e medicinais de interesse agrícola destacam-se Fabaceae, Solanaceae, Euphorbiaceae e Amaranthaceae, cujos representantes podem atuar tanto como culturas agrícolas quanto como hospedeiros de diferentes vírus de plantas. Na família Fabaceae, por exemplo, espécies cultivadas como o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) podem ser infectadas por vírus que afetam o desenvolvimento das plantas e comprometem a produtividade agrícola (Tang e Feng 2023).

Na família Solanaceae, espécies cultivadas como tomate (*Solanum lycopersicum*) e batata (*Solanum tuberosum*) estão frequentemente associadas à ocorrência de viroses importantes. Entre os vírus relatados nessas culturas destacam-se begomovírus como tomato severe rugose virus (ToSRV), além de espécies pertencentes aos gêneros *Orthotospovirus*, como groundnut ringspot virus (GRSV), e tobamovírus, como tomato mosaic virus (ToMV). Em batata, vírus como Potato virus Y (PVY) e Potato virus X (PVX) podem causar sintomas de mosaico, deformações foliares e perdas significativas na produtividade (Duarte et al. 2002).

Espécies da família *Euphorbiaceae* também apresentam ampla distribuição em ambientes agrícolas e naturais, podendo atuar como hospedeiras alternativas e reservatórios de vírus transmitidos por insetos vetores. Nesse contexto, plantas espontâneas podem desempenhar papel importante na epidemiologia de viroses em agroecossistemas, contribuindo para a manutenção e disseminação de patógenos virais.

Entre as famílias botânicas associadas a espécies alimentícias, medicinais e espontâneas destaca-se Amaranthaceae, pertencente à ordem *Caryophyllales*. Essa família é composta predominantemente por ervas anuais ou perenes e inclui aproximadamente 165 gêneros e cerca de 2040 espécies distribuídas globalmente (Kubitzki et al. 2013; Xu e Deng 2017). Dentro dessa família, o gênero *Amaranthus* apresenta grande importância alimentar e agrônômica, sendo considerado um dos principais pseudocereais cultivados em diferentes regiões do mundo devido ao seu elevado valor nutricional, especialmente em relação ao teor de proteínas, fibras e

minerais (Janssen et al. 2017).

Espécies de *Amaranthus* apresentam alta capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais, incluindo ambientes com estresse hídrico ou baixa fertilidade do solo, o que favorece seu cultivo em sistemas agrícolas diversificados (Olufolaji et al. 2010; Aderibigbe et al. 2022). No Brasil, diversas espécies desse gênero são popularmente conhecidas como caruru e classificadas como plantas alimentícias não convencionais, sendo utilizadas tanto na alimentação quanto em sistemas agroecológicos (MAPA 2013).

A presença dessas espécies em ambientes agrícolas e áreas de vegetação espontânea pode favorecer interações com diferentes vírus de plantas, tornando-as potenciais hospedeiras e reservatórios virais. Além disso, a ocorrência simultânea de múltiplos vírus em plantas cultivadas e espécies espontâneas pode favorecer processos evolutivos importantes, como recombinação genética e adaptação viral, contribuindo para o surgimento de novas variantes virais com maior potencial de disseminação

2. Doenças virais em plantas alimentícias não convencionais e plantas medicinais

Plantas alimentícias não convencionais (PANC) e plantas medicinais podem atuar como hospedeiras de diversos vírus vegetais, incluindo espécies pertencentes à família *Geminiviridae*. Muitas dessas plantas ocorrem em ambientes agrícolas ou periagrícolas, frequentemente como vegetação espontânea ou cultivadas em sistemas agroecológicos, o que favorece sua interação com vetores e outros hospedeiros vegetais. Nesse contexto, essas espécies podem funcionar como reservatórios virais, contribuindo para a manutenção e disseminação de vírus em agroecossistemas (Fontenele et al. 2017).

Entre os vírus que afetam culturas tropicais, o papaya ringspot virus (PRSV), pertencente ao gênero *Potyvirus*, é um dos patógenos mais importantes do mamoeiro (*Carica papaya*). A infecção por PRSV provoca sintomas característicos como mosaico foliar, deformação das folhas e manchas anelares nos frutos, resultando em perdas significativas de produtividade

(Lima et al. 2001). Além desse vírus, outras viroses também foram relatadas nessa cultura, incluindo infecções associadas ao papaya lethal yellowing virus (PLYV) e vírus relacionados à síndrome da meleira do mamoeiro, que comprometem a qualidade e o rendimento dos frutos (Albiéri et al. 2013).

A expansão da gama de hospedeiros de begomovírus também tem sido relatada em diferentes sistemas agrícolas. A detecção de *Ageratum yellow vein virus* infectando mamoeiros na Indonésia representa um exemplo da capacidade desses vírus de colonizar novos hospedeiros vegetais, evidenciando o potencial de adaptação e disseminação de begomovírus em regiões tropicais (Helina et al. 2024). Esse processo pode favorecer a emergência de novas interações vírus-hospedeiro e reforça a importância do monitoramento fitossanitário em ambientes agrícolas diversificados.

Outras espécies cultivadas associadas ao grupo das PANC também podem ser afetadas por vírus economicamente relevantes. O maxixe (*Cucumis anguria*), pertencente à família Cucurbitaceae, é suscetível à infecção pelo papaya ringspot virus type watermelon (PRSV-W), um potyvírus responsável por sintomas como mosaico e amarelecimento foliar, além de redução do vigor das plantas (EMBRAPA 2015). Embora o PRSV-W não pertença ao grupo dos begomovírus, sua ocorrência em ambientes agrícolas onde moscas-brancas e geminivírus estão presentes evidencia a complexidade das interações virais em agroecossistemas. Nessas condições, infecções simultâneas por diferentes vírus podem agravar os sintomas e dificultar o manejo das doenças (Rojas et al. 2018).

Plantas medicinais também têm sido relatadas como hospedeiras de vírus vegetais. Em *Mentha spicata L.* (hortelã), espécie amplamente utilizada na medicina tradicional, foi relatada infecção pelo tomato leaf curl Pakistan virus (TLCPV), um begomovírus associado a sintomas como mosaico, enrolamento foliar e deformações nas folhas (Borah e Dasgupta 2012). Esses registros demonstram que plantas medicinais podem participar da dinâmica epidemiológica de

begomovírus em ambientes agrícolas.

Além das plantas cultivadas, diversas espécies medicinais associadas a sistemas agrícolas também podem abrigar begomovírus. Entre elas destaca-se *Euphorbia heterophylla* L., frequentemente encontrada em áreas agrícolas da América Latina. Essa espécie pode apresentar sintomas típicos de infecção por begomovírus, como mosaico e enrolamento foliar (**Figura 1**). Estudos conduzidos na Venezuela identificaram uma nova espécie de begomovírus infectando *E. heterophylla*, distinta da espécie previamente associada à doença em Cuba (Zambrano et al. 2012). No Brasil, essa planta é frequentemente observada com sintomas de mosaico, sendo o Euphorbia yellow mosaic virus (EuYMV) um dos vírus mais comumente detectados nesse hospedeiro (Fernandes et al. 2011).



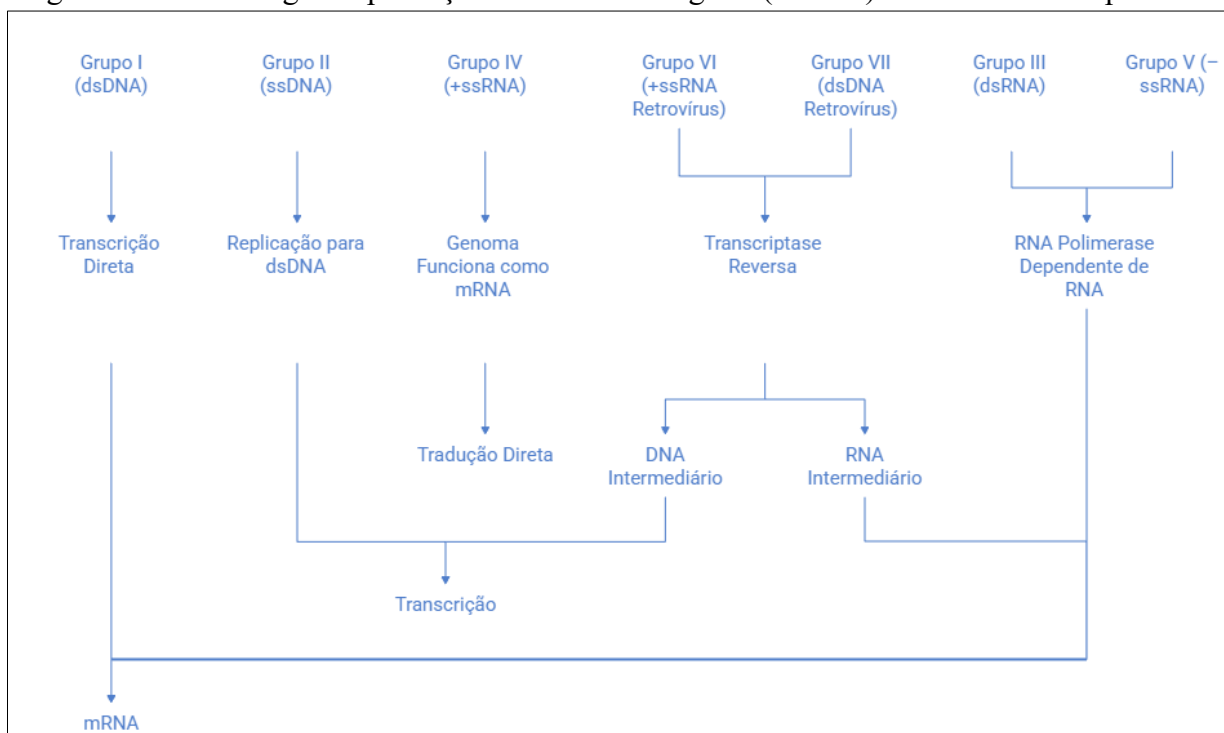
Figura 2. Plantas de *Euphorbia heterophylla* exibindo sintomas compatíveis com infecção por begomovírus, incluindo mosaico clorótico e deformação foliar. (A–C) Diferentes indivíduos sintomáticos observados em área agrícola adjacente a cultivo de soja.

A presença de vírus em PANC, plantas medicinais e plantas espontâneas evidencia o papel dessas espécies na ecologia e epidemiologia das viroses vegetais. Em ambientes agrícolas tropicais, onde há elevada diversidade vegetal e intensa atividade de vetores, essas plantas podem atuar como reservatórios virais e contribuir para a emergência de novas variantes virais por processos como recombinação e adaptação a novos hospedeiros.

3. Vírus de ssDNA (*single strand DNA*)

O sistema de classificação de Baltimore organiza os vírus com base na estratégia utilizada para a produção de RNA mensageiro (mRNA) a partir do genoma viral (Koonin et al. 2021). Nesse sistema, os vírus são divididos em sete grupos principais. Os vírus com genoma constituído por DNA de fita simples (ssDNA) pertencem ao grupo II (Baltimore II) (**Quadro 1**).

Quadro 1. Sistema de classificação de Baltimore, que agrupa vírus de acordo com a natureza do genoma e a estratégia de produção de RNA mensageiro (mRNA) durante o ciclo replicativo



Após a entrada na célula hospedeira, os genomas de ssDNA são convertidos em DNA de fita dupla (dsDNA), que atua como intermediário replicativo e como molde para a transcrição de mRNA pela maquinaria celular. A replicação desses vírus ocorre, em geral, por meio de um mecanismo de replicação por círculo rolante (*rolling circle replication*), iniciado por uma endonuclease codificada pela proteína Rep (Malathi e Devi 2019).

Os vírus de ssDNA infectam organismos pertencentes a diferentes reinos, incluindo plantas, fungos, insetos e vertebrados, e apresentam grande diversidade genética e estrutural (Mietzsch

et al. 2025). Entre os vírus associados a plantas destacam-se principalmente representantes da família *Geminiviridae*, considerada uma das mais importantes em termos fitopatológicos. Além desses, vírus de outras famílias de ssDNA também têm sido detectados em tecidos vegetais ou em ambientes associados às plantas por meio de abordagens metagenômicas baseadas em sequenciamento de alto desempenho (HTS) (Malathi e Devi 2019).

Entre essas famílias, membros da família *Genomoviridae* tem sido frequentemente detectados em amostras ambientais como solo, água, sedimentos e fezes de animais, além de associações com fungos e tecidos vegetais (Lopez-Roblero et al. 2023). Embora muitos membros dessa família ainda não tenham hospedeiros claramente definidos, sua detecção em diferentes substratos ambientais evidencia a ampla distribuição ecológica desses vírus e reforça a importância das abordagens metagenômicas para a caracterização da diversidade viral em ambientes naturais.

Entre os vírus de ssDNA que infectam plantas, os membros da família *Geminiviridae* destacam-se pela ampla distribuição geográfica, diversidade genética e impacto econômico em culturas agrícolas. Esses vírus infectam uma grande variedade de espécies vegetais, incluindo plantas cultivadas, plantas daninhas e espécies espontâneas presentes em agroecossistemas tropicais e subtropicais, sendo frequentemente transmitidos por insetos vetores da ordem *Hemiptera* (Fiallo-Olivé et al. 2021).

3.1. Viroma vegetal e a família *Geminiviridae*: implicações para plantas medicinais e plantas alimentícias não convencionais

O termo “viroma” engloba todos os vírus que habitam um organismo ou ambiente específico, incluindo vírus ativos e vírus associados a microrganismos simbiotes (Virgin 2014). Dentre esses, estão os vírus de ssDNA, que compõem uma ampla e diversa categoria (Grupo II de Baltimore), com genomas frequentemente circulares e que evoluíram para codificar múltiplas proteínas (Mietzsch et al. 2025). Esta abordagem amplia a compreensão da diversidade e da interação viral em plantas medicinais e plantas alimentícias não convencionais, objetos deste estudo.

Vírus classificados na família *Geminiviridae* possuem um genoma de ssDNA, variando entre 2.5 e 3.0 kb (Brown et al. 2015). A morfologia da partícula é composta por um capsídeo quasi-icosaedro geminado (duas partes conectadas) (Fiallo-Olivé et al. 2021). O genoma pode ser monopartido, contendo um único DNA genômico (DNA-A), ou bipartido, com dois componentes distintos denominados DNA-A e DNA-B (Varsani et al. 2017).

De acordo com o *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV), existem 548 espécies identificadas na família *Geminiviridae* (ICTV 2026). A classificação de novas espécies e estirpes baseia-se na identidade nucleotídica do genoma completo DNA-A, sendo considerada uma nova espécie quando a identidade de nucleotídeos é menor que 91% e uma nova estirpe quando a identidade excede 94% (Brown et al. 2015). Atualmente, a família é composta por quinze gêneros (*Begomovirus*, *Becurtovirus*, *Capulavirus*, *Citlodavirus*, *Curtovirus*, *Eragrovirus*, *Grablovirus*, *Maldovirus*, *Mastrevirus*, *Mulcrilevirus*, *Opunvirus*, *Topilevirus*, *Topocuvirus*, *Turncurtovirus* e *Welwivirus*) cuja classificação considera critérios como estrutura genômica, tipo de hospedeiro, sintomas e vetores (Zerbini et al. 2017; Roumagnac et al. 2022) (**Tabela 1**).

Tabela 1: Características gerais dos gêneros reconhecidos da família *Geminiviridae* (ICTV 2026).

Genoma	Gênero	Vetor (nome científico)	Hospedeiros principais	Referência	
ssDNA mono/bipartido	<i>Begomovirus</i>	<i>Bemisia tabaci</i>	Dicotiledôneas	Brown et al. 2015; ICTV 2026	
	<i>Becurtovirus</i>	Cicadellidae	Dicotiledôneas	Varsani et al., 2014b; ICTV 2026	
	<i>Capulavirus</i>	Afideos	Dicotiledôneas	Varsani et al., 2014b; ICTV 2026	
	<i>Citlodavirus</i>	Desconhecido	Dicotiledôneas	Qiu et al., 2020; ICTV 2026	
	<i>Curtovirus</i>	<i>Circulifer</i> spp.	Dicotiledôneas	Chen et al., 2010; ICTV 2026	
	<i>Eragrovirus</i>	Cicadellidae	Monocotiledôneas	Varsani et al., 2014b; ICTV 2026	
	<i>Grablovirus</i>	Membracídeo	<i>Vitis</i> spp.	Varsani et al.2014; ICTV 2026	
	<i>Maldovirus</i>	Desconhecido	Mono/dicotiledôneas	Roumagnac et al.2021; ICTV 2026	
	ssDNA monopartido	<i>Mastrevirus</i>	<i>Cicadulina</i> spp.	Principalmente monocotiledôneas	Shepherd et al. 2010; ICTV 2026
		<i>Mulcrilevirus</i>	<i>Tautoneura mori</i>	Dicotiledôneas	Roumagnac et al.2021; ICTV 2026
<i>Opunvirus</i>		<i>Dactylopius</i> spp.	Cactáceas	Fontenele et al. 2020; ICTV 2026	
<i>Topilevirus</i>		Cicadellidae	Dicotiledôneas	Roumagnac et al.2021; ICTV 2026	
<i>Topocuvirus</i>		<i>Micrutalis malleifera</i>	Dicotiledôneas	Briddon et al. 1996; ICTV 2026	
<i>Turncurtovirus</i>		<i>Circulifer haematoceps</i>	Dicotiledôneas	Briddon et al. 2010; ICTV 2026	
<i>Welwivirus</i>		Não descrito	Não descrito	Fiallo-Olivé et al. 2021; ICTV 2026	

Os membros da família *Geminiviridae* desencadeiam sintomas como mosaico dourado, enrolamento foliar, enações e amarelecimento da nervura, que podem variar conforme o estágio de desenvolvimento da planta, genótipo, fatores ambientais e infecções mistas (Inoue-Nagata et al. 2009; Rojas et al. 2018). O estudo desses vírus exige uma caracterização molecular detalhada, incluindo análises genômicas e transcriptômicas, para compreender a interação vírus-hospedeira e desenvolver estratégias eficazes de manejo, como a seleção de cultivares resistentes (Jones et al. 2021).

Dentre os gêneros da família, *Begomovirus* se destaca como o mais diversificado e economicamente relevante, com 463 espécies descritas até o momento (ICTV 2026). Espécies desse gênero são responsáveis por doenças economicamente importantes em culturas como tomate (*Solanum lycopersicum*), feijão (*Phaseolus vulgaris*), mandioca (*Manihot esculenta*) e algodão (*Gossypium hirsutum*), sendo transmitidos eficientemente pela mosca-branca *Bemisia tabaci Middle East–Asia Minor 1* (MEAM1) (Rojas et al. 2018; Fiallo-Olivé et al. 2021).

A elevada taxa de recombinação e mutação genética observada em begomovírus favorece a emergência de novas variantes virais. Essas variantes podem apresentar alterações na virulência, na severidade dos sintomas e na gama de hospedeiras, além de possibilitar a superação de genes de resistência presentes em cultivares comerciais (Seal et al. 2006). A pesquisa de Lefeuvre (2017) demonstra que eventos de recombinação em begomovírus podem resultar em isolados com maior agressividade ou com capacidade de infectar novas espécies vegetais, contribuindo para a emergência de epidemias em sistemas agrícolas previamente estáveis (Varsani et al. 2017).

Considerando sua importância, o estudo aprofundado desse gênero é essencial para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis, como o uso de técnicas de edição genética e seleção de cultivares resistentes (Roumagnac et al. 2022) posto seu papel central na fitopatologia e na segurança alimentar global.

Nas seções seguintes, serão discutidos aspectos taxonômicos, genômicos e epidemiológicos relacionados aos vírus do gênero *Begomovirus*.

3.2. Aspectos biológicos e moleculares dos begomovírus

O gênero *Begomovirus*, cuja espécie-tipo é *Bean golden yellow mosaic virus*, inclui vírus de grande relevância econômica devido às perdas que causam em diversas culturas agrícolas, como tomateiro, feijoeiro, mandioca e algodoeiro. Em tomateiro, por exemplo, infecções por begomovírus podem resultar em reduções de produtividade superiores a 90%, dependendo do isolado viral, da cultivar e das condições ambientais (Rojas et al. 2018; Mialiano et al. 2022). Esses vírus infectam predominantemente plantas dicotiledôneas e são transmitidos pela mosca-branca *Bemisia tabaci* Middle East–Asia Minor 1 (MEAM1) (Hemiptera: Aleyrodidae), um vetor altamente eficiente que contribui para a disseminação desses patógenos. Embora a dispersão ativa do inseto geralmente ocorra em curtas distâncias dentro do agroecossistema, a dispersão passiva mediada pelo vento ou pela movimentação de material vegetal infectado pode favorecer a disseminação de begomovírus em escalas regionais e até continentais (Gilbertson et al. 2015; Idris et al. 2024).

Os begomovírus apresentam genomas compostos por um componente de DNA-A (monopartidos) ou dois componentes de DNA denominados DNA-A e DNA-B (bipartidos), organizados em orientação ambissenso. Nas espécies monopartidas, o componente DNA-A possui informação genética responsável por codificar proteínas essenciais para o ciclo viral, incluindo a proteína do capsídeo (V1), proteínas de movimento viral (V2), replicação (C1), ativação transcricional (C2), potencialização da replicação (C3) e supressão do silenciamento gênico pós-transcricional (C4) (Vanitharani et al. 2004; Hanley-Bowdoin et al. 2013). Nas espécies bipartidas, o DNA-A codifica proteínas associadas à replicação e encapsidação, enquanto o DNA-B codifica proteínas responsáveis pelo movimento intracelular e transporte nuclear do DNA viral, como a proteína de movimento nuclear (NSP) e a proteína de movimento

celular (MP) (Hanley-Bowdoin et al. 2013; Rojas et al. 2018).

Geograficamente, os begomovírus estão amplamente distribuídos (Figura 2), com espécies monopartidas predominando no Velho Mundo (Europa, Ásia, África e Oceania) e espécies bipartidas sendo mais comuns no Novo Mundo (Américas) (Brown et al. 2015). No entanto, exceções têm sido relatadas, como a ocorrência de espécies monopartidas no Brasil e no Peru, sugerindo uma dinâmica evolutiva complexa caracterizada por processos frequentes de mutação, recombinação genética e adaptação a novos hospedeiros e vetores (Chaves et al. 2017; Melgarejo et al. 2013). Além disso, a introdução de espécies exóticas e a recombinação genética têm contribuído para a emergência de novas variantes virais, o que pode resultar no surgimento de isolados com maior virulência, capacidade de infectar novos hospedeiros ou superar mecanismos de resistência genética das plantas cultivadas, dificultando o manejo e o controle dessas doenças (Varsani et al. 2017; Fiallo-Olivé et al. 2021).

A replicação viral é mediada pela proteína REP (*Replication-associated protein*), codificada pelo gene C1 no DNA-A. Essa proteína reconhece a origem de replicação (ori), localizada em uma região intergênica conservada de aproximadamente 200 nucleotídeos, que é essencial para a iniciação da replicação e estabilidade genômica (Orozco et al. 1997; Hanley-Bowdoin et al. 2013). A interação entre a proteína REP e fatores do hospedeiro, como histonas e proteínas de reparo de DNA, é crucial para o sucesso do ciclo de vida do vírus (Gutierrez. 2000; Luna et al. 2020).

Estudos têm destacado o papel das proteínas virais na supressão dos mecanismos de defesa das plantas, como a proteína C4, que interfere no silenciamento gênico mediado por pequenos RNAs, e a proteína C2, que modula a expressão de genes do hospedeiro, favorecendo o estabelecimento da infecção viral (Rojas et al. 2018; Luna et al. 2020). Esses mecanismos de evasão imunológica têm sido alvo de pesquisas para o desenvolvimento de estratégias de controle baseadas em resistência genética e edição genômica (Jones et al. 2021; Roumagnac et

al. 2022).

Dada a sua importância agrônômica e complexidade biológica, o estudo dos begomovírus continua a ser uma área de pesquisa ativa, com foco na compreensão de sua diversidade genética, mecanismos de infecção e interação com os hospedeiros. Estratégias inovadoras, como o uso de CRISPR/Cas9 para edição de genes virais ou do hospedeiro, têm mostrado potencial para o manejo sustentável desses patógenos (Roumagnac et al. 2022; Maliano et al. 2022).

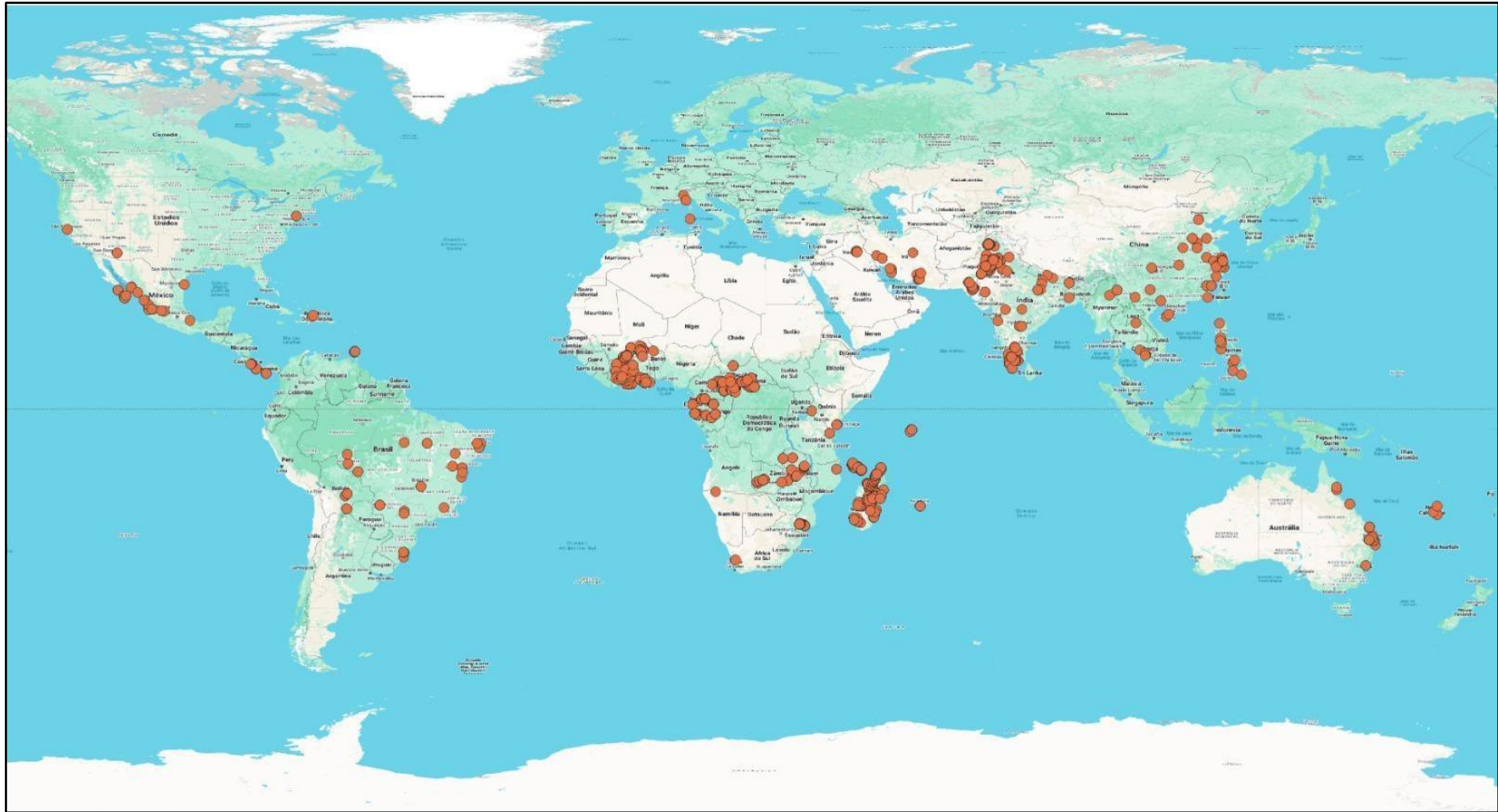


Figura 3. Distribuição geográfica global de vírus do gênero *Begomovirus*. Os pontos indicam os locais de ocorrência de espécies descritas, conforme registros disponíveis na *Master Species List do International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV 2026).

4. *Gemycircularvirus* e a família *Genomoviridae*: características genômicas e implicações para a virologia de plantas

Os gemycircularvírus são vírus de DNA fita simples (ssDNA) com genoma circular monopartido, atualmente classificados na família *Genomoviridae*, estabelecida pelo ICTV para acomodar esse grupo viral previamente descrito de forma informal (Rosario et al. 2012; Krupovic et al. 2016). Os genomas apresentam tamanho típico entre 2,1 e 2,3 kb e são encapsidados em partículas não envelopadas com simetria icosaédrica e aproximadamente 20 nm de diâmetro (Rosario et al. 2012).

A família *Genomoviridae*, proposta em 2016, reúne vírus de ssDNA circular que compartilham similaridades genômicas e funcionais com membros da família *Geminiviridae*, incluindo a presença de genes que codificam uma proteína associada à replicação (Rep) e uma proteína do capsídeo (CP) (Krupovic et al. 2016; Varsani e Krupovic 2017). Entretanto, diferem dos geminivírus clássicos por não formarem partículas geminadas e por apresentarem ampla diversidade de hospedeiros e ambientes de ocorrência.

Esses vírus têm sido detectados em diferentes matrizes biológicas e ambientais, incluindo tecidos vegetais, fungos, invertebrados, vertebrados e amostras ambientais provenientes de solo e água, evidenciando sua ampla distribuição ecológica (Rosario et al. 2012; Varsani e Krupovic 2017).

Do ponto de vista genômico, os gemycircularvírus geralmente codificam duas ORFs principais organizadas em orientação bidirecional: uma ORF responsável pela proteína associada à replicação (Rep), essencial para a iniciação e término da replicação viral via mecanismo de círculo rolante, e outra ORF que codifica a proteína do capsídeo (CP), responsável pela formação da cápside viral (Varsani e Krupovic 2017; ICTV 2025). A proteína Rep apresenta motivos conservados, como o domínio endonuclease HUH e o motivo helicase Walker A, característicos de vírus de ssDNA circular e fundamentais para o processamento do genoma viral durante a replicação (Krupovic et al. 2016).

Grande parte do conhecimento atual sobre a diversidade dos gemycircularvírus deriva de abordagens metagenômicas e de sequenciamento de alto desempenho (HTS), que ampliaram significativamente o número de genomas identificados em diferentes matrizes biológicas (Rosario et al. 2012; Varsani e Krupovic. 2017). No contexto da virologia de plantas, esses vírus têm sido detectados em tecidos vegetais assintomáticos e sintomáticos; contudo, estudos anteriores sugerem que, em alguns casos, os verdadeiros hospedeiros possam ser fungos associados às plantas, levantando questionamentos sobre seu papel como patógenos vegetais primários (Krupovic et al. 2016; Varsani e Krupovic. 2017).

Essa incerteza quanto ao hospedeiro biológico de alguns gemycircularvírus confere relevância à interpretação cuidadosa de dados obtidos por abordagens metagenômicas, especialmente em estudos baseados em HTS de plantas cultivadas, silvestres e PANC. Nesses casos, as sequências virais detectadas podem representar componentes do viroma associado ao ambiente da planta, incluindo microrganismos epifíticos ou endofíticos, e não necessariamente vírus fitopatogênicos primários. Assim, a análise criteriosa desses genomas é essencial para evitar inferências equivocadas sobre a etiologia de doenças e para compreender de forma mais ampla as interações entre vírus, plantas e outros organismos associados.

4.1. DNA satélites em *Begomovirus*: tipos e funções na patogenicidade e evolução viral

De acordo com Rosario et al. (2016), além dos componentes genômicos DNA-A e DNA-B, begomovírus podem estar associados a agentes subvirais de DNA conhecidos como DNA satélites. Esses elementos são frequentemente associados a begomovírus monopartidos e bipartidos (Rojas et al. 2018) e desempenham papéis importantes na patogenicidade e evolução viral. A maior parte dos begomovírus do Velho Mundo e alguns do Novo Mundo estão associados a três tipos de satélites de DNA: alfassatélites, betassatélites e deltassatélites (Zhou et al. 2013; Lozano et al. 2016; Briddon et al, 2018).

A doença do mosaico amarelo em *Ageratum conyzoides* é causada por um complexo viral

envolvendo begomovírus e satélites, demonstrando como interações genômicas podem intensificar sintomas e ampliar a gama de hospedeiros (Saunders et al. 2000). Esses complexos representam um desafio adicional para o diagnóstico e controle, pois a presença de satélites pode modular a virulência e a transmissibilidade dos vírus principais.

Os alfassatélites, classificados na família *Alphasatellitidae*, possuem genomas que variam entre 1.5 e 1.7 kb e apresentam uma região rica em adenina, além de uma estrutura denominada nonanucleotídeo TAATATTAC (Iqbal et al. 2021). Eles podem se replicar autonomamente, mas dependem de begomovírus auxiliares para infecção sistêmica, encapsidação e transmissão vetorial (Stainton et al. 2017; Zhao et al. 2022). Embora suas funções biológicas exatas ainda não sejam totalmente compreendidas, sabe-se que alguns alfassatélites modulam os sintomas virais e afetam o acúmulo do vírus auxiliar e/ou do DNA betassatélite durante a infecção (Mar et al. 2017; Luo et al. 2019).

Os betassatélites, classificados na família *Toleucusatellitidae*, possuem genomas de 1.5 a 1.7 kb e apresentam uma região conservada (RCS) e um gene único, β C1, que atua como determinante de sintomas e supressor do silenciamento gênico (Briddon et al. 2008; Kumar et al. 2021). Recentemente, foi identificado um novo gene, β V1, associado à morte celular programada em plantas, o que aumenta a virulência viral (Hu et al. 2020).

Já os deltassatélites, com genomas de aproximadamente 700nt, não codificam proteínas e dependem totalmente do vírus auxiliar para replicação e transmissão (Fiallo-Olivé et al. 2016; Ferro et al. 2020). Eles estão associados tanto a begomovírus monopartidos do Velho Mundo quanto a bipartidos do Novo Mundo (Dry et al. 1997; Fiallo-Olivé et al. 2012).

Os clecrusatélites são elementos genéticos menores, frequentemente associados a vírus de plantas, que compartilham características com os DNA satélites, como a dependência de vírus auxiliares para replicação e transmissão (Nogueira et al. 2021). Esses elementos possuem genomas compactos, geralmente variando entre 500 e 1.000 nucleotídeos, e não codificam

proteínas funcionais (Kumar et al. 2020). A organização genômica dos clecrusatélites inclui uma região central altamente conservada, flanqueada por sequências repetitivas que podem estar envolvidas na regulação da replicação e interação com o vírus auxiliar (Nogueira *et al.* 2023).

Estudos recentes demonstraram que os clecrusatélites modulam a virulência do vírus principal, influenciando a expressão de genes de defesa da planta e a eficiência da infecção (Hu *et al.* 2021). Eles interagem com o sistema de silenciamento gênico da planta (PTGS, *Post-Transcriptional Gene Silencing*), suprimindo a resposta imune e facilitando a replicação viral (Varsani et al. 2022). Além disso, os clecrusatélites podem alterar a dinâmica da infecção ao interferir na expressão de microRNAs da planta, que são cruciais para a regulação de genes relacionados à defesa (Kumar et al. 2020).

No Brasil, clecrusatélites foram identificados em associação com begomovírus que infectam culturas agrícolas importantes, como tomate e feijão, sugerindo um papel relevante na epidemiologia de doenças virais em plantas (Reis et al. 2020; Nogueira et al. 2023). A caracterização desses elementos tem sido fundamental para o desenvolvimento de estratégias de controle baseadas na manipulação genética de plantas, visando à resistência a múltiplos vírus (Rojas et al. 2022).

A transmissão de vírus que infectam plantas é um processo complexo, influenciado por interações tripartites entre vírus, plantas hospedeiras e vetores, como *Bemisia tabaci* (Jeger 2020). Essas interações são moduladas por fatores bióticos e abióticos, que determinam a dinâmica da doença e a eficácia das estratégias de controle (Jeger 2023). A presença de clecrusatélites pode alterar a eficiência da transmissão viral, aumentando a virulência e a adaptação do vírus a diferentes hospedeiros (Varsani et al. 2022).

5. Variabilidade genética em vírus fitopatogênicos: especificidades dos begomovírus

A variabilidade genética é um mecanismo essencial para os vírus, permitindo sua adaptação a diferentes hospedeiros e condições ambientais em constante mudança. Essa variabilidade e a evolução resultante ocorrem por meio de mutações, recombinações e pseudo-recombinação. Algumas características distintivas dos *Begomovirus* conferem suscetibilidade a eventos de variabilidade genética (Bhandari et al. 2017), resultando na formação de isolados, estirpes e espécies dentro do gênero (Seal et al. 2006).

5.1. Contribuição da mutação para a diversificação genética dos vírus

Assim como ocorre em outros vírus, a evolução dos membros da família *Geminiviridae* depende fortemente de mutações (Hameed et al. 2019). Essas mutações surgem durante a replicação do material genético, quando há incorporação incorreta de nucleotídeos, podendo alterar sequências codificadoras (Watson et al. 2015; Madigan et al. 2016). Isso permite que os vírus se diversifiquem e se adaptem a novos hospedeiros e ambientes (Lima et al. 2017). A variabilidade decorrente das mutações precede, em muitos casos, a troca de segmentos genômicos por recombinação (Seal et al. 2006; Duffy e Holmes 2008), e a rápida evolução desses vírus é impulsionada por mecanismos mutacionais que afetam especificamente o ssDNA (Harkins et al. 2009). Os begomovírus apresentam alta taxa de mutação, característica fundamental para sua capacidade de superar defesas das plantas hospedeiras e gerar variantes genéticas em curto intervalo de tempo (Lima et al. 2017).

5.2. Recombinação de membros de *Geminiviridae*: mecanismos e implicações

Embora as mutações pontuais sejam o principal mecanismo de variabilidade genética, a recombinação é um fator crítico para a diversidade das populações virais, especialmente em vírus de DNA de fita simples, como os integrantes da família *Geminiviridae* (García-Arenal et al. 2003; Lefeuvre et al. 2019). Esse fenômeno contribui significativamente para o potencial

evolutivo e a adaptação local desses patógenos, sendo particularmente comum em *Begomovirus* (Monci et al. 2002; Silva et al. 2014; Rocha et al. 2021; Fiallo-Olivé et al. 2021).

A elevada ocorrência de recombinação em *Geminiviridae* pode ser explicada por dois mecanismos principais: a replicação dependente de recombinação (RDR) e a replicação por círculo rolante (RCR). Além disso, infecções mistas em uma única planta hospedeira facilitam a troca de material genético entre vírus co-infectantes, aumentando a probabilidade de recombinação (García-Andrés et al. 2006; Davino et al. 2009; Lefeuvre et al. 2019). Esses mecanismos não apenas ampliam a variabilidade genética, mas também têm implicações diretas na epidemiologia viral.

A recombinação, amplamente reconhecida como um dos principais motores da diversidade genômica entre geminivírus, ocorre com frequência em *Begomovirus* devido à sua estrutura segmentada e à alta taxa de co-infecções em plantas cultivadas (Martin et al. 2021; Rocha et al. 2021; Fiallo-Olivé et al. 2021). Ferramentas como o RDP5 (*Recombination Detection Program*) permitem detectar eventos de recombinação com alta sensibilidade, revelando padrões que, se ignorados, podem comprometer análises filogenéticas e taxonômicas (Martin et al. 2021).

Além da detecção de recombinação, o *software* SDT (*Sequence Demarcation Tool*) é amplamente utilizado para calcular identidade de sequência entre genomas virais, sendo uma ferramenta padrão para demarcação de espécies conforme os critérios do ICTV (Muhire et al. 2014). Já o BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) continua sendo uma etapa fundamental na triagem de sequências virais, especialmente em estudos metagenômicos com NGS, permitindo a rápida identificação de variantes emergentes (Rocha et al. 2021)

Exemplos clássicos demonstram como a recombinação pode alterar drasticamente o cenário fitossanitário. Um caso emblemático é o surgimento de variantes recombinantes no complexo dos begomovírus do mosaico da mandioca. Estudos clássicos em Uganda mostraram que a

recombinação entre componentes de diferentes geminivírus do mosaico da mandioca - inclusive entre east african cassava mosaic virus (EACMV) e african cassava mosaic virus (ACMV) - resultou em variantes recombinantes (como EACMV-UG), que impulsionaram epidemias severas de cassava mosaic disease na década de 1990 na região do Lago Vitória e em países vizinhos (Pita et al. 2001; Crespo-Bellido et al. 2021).

Outro exemplo paradigmático está no complexo de vírus do enrolamento foliar do tomate no Mediterrâneo. Nessa região, co-infecções de tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) com outros begomovírus como tomato yellow leaf curl Sardinia virus (TYLCSV) favoreceram a recombinação, levando à emergência de recombinantes como tomato yellow leaf curl Malaga virus (TYLCMaV) e tomato yellow leaf curl Axarquia virus (TYLCAxV) em plantações de tomate na Espanha e em áreas adjacentes (Monci et al. 2002; García-Andrés et al. 2007).

Esses eventos ilustram como recombinação entre isolados virais co-ocorrentes pode gerar novos genótipos com impactos epidemiológicos e fitossanitários significativos e que tal dinâmica é um determinante fundamental na evolução dos begomovírus em agroecossistemas (Monci et al. 2002; García-Andrés et al. 2007).

Estudos recentes reforçam que a recombinação pode ocorrer não apenas entre genomas virais, mas também envolvendo satélites virais, ampliando ainda mais o espectro de variabilidade genética (Fiallo-Olivé e Navas-Castillo 2023; Mishra et al. 2022). Outras pesquisas utilizando sequenciamento de nova geração (NGS) e análises filogenéticas têm identificado hotspots de recombinação, especialmente nas regiões intergênicas e nos genes que codificam proteínas envolvidas na replicação e movimento viral (Rocha et al. 2021; Fiallo-Olivé et al. 2021).

Além disso, a recombinação pode ocorrer entre espécies de begomovírus e até mesmo entre gêneros da família *Geminiviridae*, aumentando ainda mais a diversidade genética e o potencial de surgimento de novos patógenos (Lefeuvre et al. 2019; Rocha et al. 2021). A emergência de

novas variantes recombinantes pode levar à quebra de resistência em cultivares previamente resistentes, complicando os esforços de controle (Jones et al. 2021; Rocha et al. 2021). Portanto, o monitoramento contínuo da diversidade genética e a identificação de variantes recombinantes são essenciais para o desenvolvimento de estratégias de manejo sustentáveis, como o uso de cultivares resistentes e técnicas de edição genética.

A integração de ferramentas bioinformáticas com análises filogenéticas e metagenômicas tem se mostrado indispensável para o entendimento da variabilidade genética dos begomovírus, permitindo não apenas rastrear a origem de variantes emergentes, mas também antecipar riscos fitossanitários e orientar estratégias de manejo baseadas em resistência genética e edição genômica. Estudos recentes demonstram que abordagens de sequenciamento de alto rendimento (HTS), combinadas com pipelines bioinformáticos capazes de realizar montagem de genomas, detecção de recombinação e análises filogenéticas robustas, aumentam significativamente a resolução da diversidade genômica dos begomovírus em diferentes agroecossistemas (Oliveira et al. 2024). Esses métodos têm viabilizado a detecção de múltiplos begomovírus em amostras sintomáticas e assintomáticas, além de revelar novos genótipos e complexos de infecção mista, o que é fundamental para planejar estratégias de resistência em cultivares e uso de ferramentas moleculares avançadas como CRISPR/Cas (Oliveira et al. 2024).

5.3. Pseudo-recombinação: mecanismos alternativos de diversificação genética

A pseudo-recombinação representa um mecanismo alternativo de diversificação genética em geminivírus, especialmente em *Begomovirus* bipartidos, complementando os processos de recombinação clássica discutidos anteriormente. Esse fenômeno envolve a troca de segmentos genômicos entre diferentes vírus (Andrade et al. 2006; Silva et al. 2014). Estudos de pseudo-recombinantes são úteis para caracterizar genes e verificar relações filogenéticas, como evidenciado pela mistura de componentes genômicos do bean golden yellow mosaic virus (BGYMV) e do *Begomovirus costai*, que não formam pseudo-recombinantes infecciosos (Gilbertson et al. 2003).

A ligação específica da proteína Rep aos iterons é um fator crucial para a formação de pseudo-recombinantes viáveis entre diferentes espécies de *Begomovirus* (Andrade et al. 2006; Bull et al. 2007). A conservação da sequência de aminoácidos da proteína Rep, particularmente nos três aminoácidos do IRD, é fundamental para essa ligação (Arguello-Astorga e Ruiz-Medrano 2001). A viabilidade de pseudo-recombinantes demonstra que fatores envolvidos na replicação e movimento podem ser trocados entre espécies altamente relacionadas ou entre estirpes da mesma espécie. No entanto, a pseudo-recombinação em *Begomovirus* é complexa e envolve interações entre fatores virais e do hospedeiro (Hill et al. 1998; Silva et al. 2014).

6. Uso do *High-Throughput Sequencing* (HTS) em virologia vegetal

O avanço na detecção e identificação de novos vírus tem sido impulsionado por uma combinação de técnicas tradicionais e modernas, com destaque para o sequenciamento de alto rendimento (HTS). Essa tecnologia revolucionou a virologia vegetal, permitindo a análise paralela de múltiplas amostras com alta eficiência e custo reduzido (Nih-Nhgri 2019). O HTS não apenas acelerou a descoberta de novos patógenos, mas também ampliou a compreensão da diversidade viral em diferentes hospedeiros e ecossistemas (Roossinck et al. 2021).

O sequenciamento de alto rendimento surgiu como um marco na genômica moderna com o

desenvolvimento da plataforma 454 GS20 (Roche) em 2005, considerada uma das primeiras tecnologias de sequenciamento de nova geração. Desde então, diversas plataformas têm sido desenvolvidas, incluindo Illumina, SOLiD, Ion Torrent, Pacific Biosciences (PacBio) e Oxford Nanopore, ampliando significativamente as possibilidades de análise genômica e metagenômica. Essas tecnologias diferem quanto ao princípio de sequenciamento, comprimento de leitura, acurácia e custo operacional. Uma comparação entre as principais plataformas utilizadas em estudos de sequenciamento de alto rendimento é apresentada na **Tabela 2**. Essas ferramentas permitem a detecção simultânea de vírus conhecidos e desconhecidos em uma única amostra, muitas vezes sem a necessidade de conhecimento prévio do agente viral (Rivarez et al. 2021). Entre essas tecnologias, o sequenciamento por nanoporos tem se destacado devido à portabilidade dos dispositivos e à capacidade de geração de dados em tempo real, características que favorecem aplicações em vigilância fitossanitária e monitoramento de vírus em plantas (Boykin et al. 2018).

O HTS tem sido fundamental para a identificação de novos vírus em plantas. Entre 2011 e 2020, várias novas espécies virais associadas a plantas foram descritas, muitas delas identificadas por meio de abordagens baseadas em HTS (Rivarez et al. 2021). Destaca-se, por exemplo, a identificação de dois novos begomovírus monopartidos no Novo Mundo por Reis et al. (2020), que evidenciam a eficácia da abordagem metagenômica na revelação de novos agentes virais. Além disso, estudos recentes têm utilizado o HTS para investigar a diversidade viral em culturas como o café e a cana-de-açúcar, revelando vírus previamente desconhecidos e suas interações com os hospedeiros (Silva et al. 2022).

O processo de detecção viral de ssDNA por HTS geralmente começa com a extração de ácidos nucleicos, seguida por técnicas de enriquecimento, como a amplificação por círculo rolante (RCA) para vírus de DNA circular. As sequências geradas passam por rigoroso controle de qualidade, montagem de *contigs* e análise bioinformática, incluindo o uso de ferramentas

como o BLAST para identificação de novos vírus (Villamor et al. 2020). No entanto, o processamento de grandes volumes de dados gerados pelo HTS ainda representa um desafio, especialmente em regiões com recursos limitados. A integração de técnicas de inteligência artificial e machine learning tem sido proposta como solução promissora para otimizar a análise e interpretação desses dados (Jones et al. 2023).

O uso do HTS tem permitido não apenas a identificação de novos vírus, mas também uma compreensão mais profunda da ecologia viral e das interações entre patógenos e hospedeiros. Esses avanços são cruciais para a prevenção de surtos de doenças em plantas cultivadas e para a proteção da segurança alimentar global (Roossinck et al. 2021). No futuro, a combinação do HTS com outras tecnologias, como a edição genômica e a análise de *big data*, pode abrir novas fronteiras na pesquisa em virologia, permitindo a detecção precoce de ameaças emergentes e o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de controle de doenças (Jones et al. 2023).

A integração entre mecanismos de variabilidade genética e ferramentas de alta resolução, como o HTS, representa um avanço significativo na virologia vegetal. Essa abordagem permite não apenas rastrear a origem de variantes emergentes, mas também antecipar riscos fitossanitários e orientar estratégias de manejo baseadas em resistência genética e edição genômica.

Tabela 2. Comparação entre plataformas de sequenciamento de alto rendimento (*High-Throughput Sequencing* – HTS), incluindo princípio de funcionamento, comprimento de leitura e limitações. Adaptado de Curcio-Guimarães (2023).

Plataforma HTS	Comprimento de leitura (bp)	Tipo de amplificação	Princípio	Limitações	Referências
454 GS FLX+/Roche	400 a 500	PCR em emulsão	Incorporação de nucleotídeos complementares que liberam pirofosfato	Menor precisão de sequenciamento comparado a outras plataformas NGS e maior custo por base sequenciada	454 GS FLX+/Roche: (Margulies <i>et al.</i> 2005)
<i>Illumina MiSeq</i>	2x301	Amplificação em ponte (PCR)	Sequenciamento por síntese	Limitação no comprimento de leitura (sobreposição de sinais) eadequado para projetos de menor escala.	Illumina (MiSeq/HiSeq): (Bentley <i>et al.</i> 2008)
<i>Illumina HiSeq</i>	2x150 a 2x300	Amplificação em ponte (PCR)	Sequenciamento por síntese	Tempo de execução mais longo e maior custo por sequenciamento	Illumina (MiSeq/HiSeq): (Bentley <i>et al.</i> 2008)
Ion Torrent PGM	200 a 400	PCR em emulsão	Sequenciamento por detecção de íons	Menor precisão em comparação com plataformas de síntese e menor precisão de sequenciamento	Ion Torrent PGM: (Rothberg <i>et al.</i> 2011)
Pacific Biosciences (PacBio)	10.000 a 15.000	SMRT	Sequenciamento de molécula única em tempo real (SMRT)	Custo elevado; longo tempo de sequenciamento e requer DNA de alta qualidade	PacBio: (Eid <i>et al.</i> 2009)
SOLiD	35 a 75	PCR em emulsão	Sequenciamento por ligação (DNA ligase)	As leituras curtas podem dificultar a montagem de regiões repetitivas do genoma	SOLiD: (Mardis 2008)
Oxford Nanopore	5.000 a 20.000	Com ou sem PCR	Sequenciamento por nanoporos	Alta taxa de erro e reagentes caros	Oxford Nanopore: (Jain <i>et al.</i> 2016)

7. Aplicações práticas e estratégias de controle de viroses em plantas cultivadas

O controle de viroses vegetais exige abordagens integradas que considerem aspectos ecológicos, genéticos e tecnológicos. O manejo integrado de doenças (MID) tem se consolidado como uma estratégia eficaz, combinando práticas culturais, controle biológico, uso de cultivares resistentes e monitoramento fitossanitário (Nunes e Canale 2024). Em hortaliças, por exemplo, o uso de boas práticas agrícolas, como rotação de culturas, eliminação de plantas voluntárias e controle de vetores, tem reduzido significativamente a incidência de viroses (Silveira 2023).

A resistência genética continua sendo uma das ferramentas mais promissoras no controle de viroses. A seleção de cultivares resistentes a begomovírus, como o Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), tem sido amplamente adotada em programas de melhoramento genético. No entanto, a emergência de variantes recombinantes pode comprometer essa resistência, exigindo constante atualização dos programas de seleção (Jones et al. 2021).

Nesse contexto, a edição genômica surge como uma alternativa inovadora. Ferramentas como CRISPR/Cas9 têm sido utilizadas para modificar genes de suscetibilidade em plantas hospedeiras, aumentando a resistência a viroses sem comprometer características agronômicas (Mascarin e Barros Côrtes 2025). Além disso, a edição gênica de microrganismos benéficos, como fungos do gênero *Trichoderma*, tem potencial para impulsionar o controle biológico de pragas e doenças, ampliando a resiliência dos agroecossistemas (Embrapa 2025).

A segurança alimentar também está diretamente relacionada ao controle de viroses em plantas cultivadas. A presença de patógenos virais em alimentos vegetais pode comprometer a qualidade, a produtividade e a comercialização, especialmente em mercados internacionais com exigências sanitárias rigorosas. Publicações recentes do Ministério da Agricultura destacam a importância da identificação de perigos biológicos em alimentos de origem vegetal e sua relação com práticas de inspeção e biossegurança (MAPA 2025).

Portanto, o controle eficaz de viroses vegetais depende da integração entre práticas

agronômicas sustentáveis, inovação tecnológica e políticas públicas voltadas à sanidade vegetal. A combinação entre manejo integrado, resistência genética, edição genômica e vigilância epidemiológica representa o caminho mais promissor para mitigar os impactos das viroses e garantir a segurança alimentar em escala global.

8. Referências Bibliográficas

- Adeosun WB, Loots DT (2024) Medicinal plants against viral infections: metabolomics evidence for antiviral properties. *Viruses* 16:218. <https://doi.org/10.3390/v16020218>
- Aderibigbe OR, Ezekiel OO, Owolade SO. *et al.* (2022) Exploring the potentials of underutilized grain amaranth (*Amaranthus* spp.) along the value chain for food and nutrition security: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 62. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1859576>
- Albuquerque LC, Inoue-Nagata AK, Pinheiro B. *et al.* (2012) Genetic diversity and recombination analysis of sweepoviruses from Brazil. *Virology Journal* 9:241. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-241>
- Andrade EC, Jesus FMP, Zerbini FM. (2006) Pseudorecombination between divergent isolates of bean golden mosaic virus. *Archives of Virology* 151(5):1015–1023.
- Andrade EC, Manhani GG, Alfenas PF. *et al.* 2006. Tomato yellow spot virus, a tomato-infecting begomovirus from Brazil with a closer relationship to viruses from *Sida* sp., forms pseudorecombinants with begomoviruses from tomato but not from *Sida*. *Journal of General Virology* 87:2581–2587. <https://doi.org/10.1099/vir.0.82279-0>
- Argüello-Astorga G, Lopez-Ochoa L, Kong LJ. *et al.* 2004. A novel motif in geminivirus replication proteins interacts with the plant retinoblastoma-related protein. *Journal of Virology* 78(9):4817–4826. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.9.4817-4826.2004>
- Argüello-Astorga GR, Ruiz-Medrano R. 2001. An iteron-related domain is associated to Motif 1 in the replication proteins of geminiviruses: Identification of potential interacting amino acid-base pairs by a comparative approach. *Archives of Virology* 146(6):1105–1123. <https://doi.org/10.1007/s007050170072>
- Baltimore D. 1971. Expression of animal virus genomes. *Bacteriological Reviews* 35(3):235–241. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC378249/>

- Bentley DR. Balasubramanian S. Swerdlow HP *et al.* (2008) Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature* 456:53–59. <https://doi.org/10.1038/nature07517>
- Blodgett JT. Swart WJ. 2002. Infection, colonization, and disease of *Amaranthus hybridus* leaves by the *Alternaria tenuissima* group. *Plant Disease* 86(11):1199–1202. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.11.1199>
- Bonfim Junior MF. Peruch LAM. Colariccio A (2024) Controle das doenças da mandioca sob condições de cultivo no Brasil. *Agropec Catarin* 37:1868. <https://doi.org/10.52945/rac.v37i3.1868>
- Borges LS. Delgado CHO. Casais LKN. *et al.* 2020. Composição química e potencial antifúngico do óleo essencial de jambu sob adubação orgânica e convencional. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais* 12(1):37–45. <https://doi.org/10.6008/cbpc2179-6858.2021.001.0037>
- Botrel N. Freitas S. Oliveira Fonseca MJ. *et al.* 2020. Nutritional value of unconventional leafy vegetables grown in the Cerrado Biome/Brazil. *Brazilian Journal of Food Technology* 23:e202017418. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.17418>
- Boykin L. Ghalab A. Rossitto De Marchi B. *et al.* 2018. Real time portable genome sequencing for global food security. *F1000Research* 7:1101. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15507.1>
- Branco CSV. Silva EB. Barbosa MIMJ. 2022. Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no contexto da gastronomia e da educação alimentar e nutricional. *Segurança Alimentar e Nutricional* 29:e022001. <https://doi.org/10.20396/san.v29i00.8665956>
- Camargos TCC de. Rodrigues FC. Almeida MEF de. 2022. Conhecimento e utilização de Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) por universitários. *Research, Society and Development* 11(12):e33936. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i12.33936>
- Cantú-Iris M. Pastor-Palacios G. Mauricio-Castillo JA. *et al.* 2019. Analysis of a new begomovirus

unveils a composite element conserved in the CP gene promoters of several *Geminiviridae* genera: Clues to comprehend the complex regulation of late genes. *PLoS ONE* 14(1):e0210485. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210485>

Chellappan P. Vanitharani R. Ogbe F. Fauquet CM. 2005. Effect of temperature on geminivirus-induced RNA silencing in plants. *Plant Physiology* 138(3):1452–1462. <https://doi.org/10.1104/pp.105.066563>

Cherobini L. Marques FL. Biondo E. 2022. Cultivo e consumo de plantas alimentícias não convencionais incentivam práticas de Educação Ambiental em escola de Igrejinha (RS). *Revista Brasileira de Educação Ambiental* 17(2):12727. <https://doi.org/10.34024/revbea.2022.v17.12727>

Colariccio A. Rivas EB. Bonfim Junior MF. Peruch LAM (2023) Ocorrência do Cassava common mosaic virus (CsCMV) e Cassava vein mosaic virus (CsVMV) em cultivares de mandioca em Santa Catarina. Brasil. *Bol Inst Biol* 82:1–6

Comas-Garcia M. 2024. How structural biology has changed our understanding of icosahedral viruses. *Journal of Virology* 98(3):e01111-23. <https://doi.org/10.1128/jvi.01111-23>

Corado PISA. Lima LNDC. Fontenelle LC (2022) O consumo de plantas alimentícias não convencionais para a promoção da segurança alimentar e nutricional e da cultura alimentar brasileira. *Segurança Alimentar e Nutricional* 29:e022016. <https://doi.org/10.20396/san.v29i00.8669197>

Cui X. Li G. Wang D. Hu D. Zhou X. 2005. A *Begomovirus* DNA β -encoded protein binds DNA. functions as a suppressor of RNA silencing. and targets the cell nucleus. *Journal of Virology* 79(16):10764–10775. <https://doi.org/10.1128/jvi.79.16.10764-10775.2005>

Dara MZN, Bhat TA, Rather RA et al. (2025) Plant–pathogen interactions and transmissions. *J Integr Agric*. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2025.01.013>

Duffy S. Holmes EC. 2008. Phylogenetic evidence for rapid rates of molecular evolution in the

- single-stranded DNA begomovirus Tomato yellow leaf curl virus. *Journal of Virology* 82(2):957–965. <https://doi.org/10.1128/jvi.01929-07>
- Eduardo Cartabiano Leite C. Maria Porcu O. de Francisco A. *et al.* 2020. Sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam) nutritional potential and social relevance: a review. *International Journal of Engineering Research and Applications* 10(9):1–7. www.ijera.com
- Eid J. Fehr A. Gray J *et al.* (2009) Real-time DNA sequencing from single polymerase molecules. *Science* 323:133–138. <https://doi.org/10.1126/science.1162986>
- Emmanuel CJ. Manohara S. Shaw MW. 2020. Molecular characterization of begomovirus–betasatellite–alphasatellite complex associated with okra enation leaf curl disease in Northern Sri Lanka. *3 Biotech* 10:502. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02502-z>
- Esteves GL. Duarte MC. Takeuchi C. 2014. Sinopse de *Hibiscus* L. (Malvoideae, Malvaceae) do Estado de São Paulo, Brasil: espécies nativas e cultivadas ornamentais. *Hoehnea* 41(1):121–146. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-10/2014>
- Faria S. Catunda K. Oliveira LM. 2019. Análise química de folhas de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*). *Saber Científico* 8(2):1255. <https://doi.org/10.22614/resc-v8-n2-1255>
- Fauquet CM. Stanley J. 2003. Geminivirus classification and nomenclature: progress and problems. *Annals of Applied Biology* 142(2):165–189. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2003.tb00240.x>
- Ferreira V. Lorenzi H. 2014. Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. Instituto Plantarum. Nova Odessa, SP.
- Fiallo-Olivé E. Lett JM. Martin DP. Varsani A. Roumagnac P. Navas-Castillo J. 2021. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Geminiviridae* 2021. *Journal of General Virology* 102(12):001696. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001696>
- Fiallo-Olivé E. Navas-Castillo J. 2023. The role of extensive recombination in the evolution of geminiviruses. In: *Viral Fitness and Evolution*. Springer. pp. 85–106.

https://doi.org/10.1007/978-3-031-15640-3_4

- Fontenele RS. Lacorte C. Lamas NS. Melo FL. Lima AT. Nunes MR. Andrade EC. Ribeiro SG (2017) A novel geminivirus identified in tomato and Cleome plants sampled in Brazil. *Arch Virol* 162:713–716. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-3162-5>
- Fontenele RS. Lamas NS. Lacorte C. *et al.* 2017. A novel geminivirus identified in tomato and cleome plants sampled in Brazil. *Virus Research* 240:166–172. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.08.007>
- Fuji S. Mochizuki T. Okuda M. *et al.* 2022. Plant viruses and viroids in Japan. *Journal of General Plant Pathology* 88(1):1–17. <https://doi.org/10.1007/s10327-021-01036-5>
- Gilbertson RL. Sudarshana MR. Jiang H. Rojas MR. Lucas WJ. 2003. Limitations on geminivirus genome size imposed by plasmodesmata and virus-encoded movement protein: insights into DNA trafficking. *The Plant Cell* 15(11):2578–2591. <https://doi.org/10.1105/tpc.015057>
- Hameed A. Shakir S. Zaidi SSEA. 2019. Evolutionary factors in the geminivirus emergence. In: Wang A. Zhou X (eds) *Geminiviruses: Impact. Challenges and Approaches*. Springer. Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-2762-8_2
- Hanley-Bowdoin L. Bejarano ER. Robertson D. Mansoor S. 2013. Geminiviruses: masters at redirecting and reprogramming plant processes. *Nature Reviews Microbiology* 11(11):777–788. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3117>
- Harkins GW. Delport W. Duffy S. *et al.* 2009. Experimental evidence indicating that mastreviruses probably did not co-diverge with their hosts. *Virology Journal* 6:104. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-6-104>
- Helina S. Akin HM. Pramono S. Lestari P. Nurdin M. Afandi A. Dewi L (2024) First report of Ageratum yellow vein virus infecting papaya in Lampung, Indonesia. *Mol Biol Rep* 51:119. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-09029-5>
- Hill JE. Strandberg JO. Hiebert E. Lazarowitz SG. 1998. Asymmetric infectivity of

pseudorecombinants of cabbage leaf curl virus and squash leaf curl virus: implications for bipartite geminivirus evolution and movement. *Virology* 250(2):283–292. <https://doi.org/10.1006/viro.1998.9366>

Idrees MA, Abbas A, Saddam B. *et al.* 2024. A comprehensive review: persistence, circulative transmission of begomovirus by whitefly vectors. *International Journal of Tropical Insect Science* 44(1):1–15.

Inoue-Nagata AK, Lima MF, Gilbertson RL. 2016. A review of geminivirus diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. *Horticultura Brasileira* 34(1):8–18. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620160000100002>

Iskra-Caruana ML, Duroy PO, Chabannes M, Muller E. 2014. The common evolutionary history of badnaviruses and banana. *Infection, Genetics and Evolution* 21:83–90. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.10.024>

Jangra S, Kumar A, Sharma P *et al.* (2024) Deciphering the role of virus receptors in plant–virus–vector interactions. *Plant Biol Biotechnol* 3:13. <https://doi.org/10.3390/pbb3020013>

Janssen F, Pauly A, Rombouts I. *et al.* 2017. Proteins of Amaranth (*Amaranthus* spp.), Buckwheat (*Fagopyrum* spp.) and Quinoa (*Chenopodium* spp.): A food science and technology perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16(4):1021–1040. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12240>

Jeger M, Hamelin F, Cunniffe N. 2023. Emerging themes and approaches in plant virus epidemiology. *Phytopathology* 113(1):1–12. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-22-0263-RVW>

Jones JE, Le Sage V, Lakdawala SS. 2021. Viral and host heterogeneity and their effects on the viral life cycle. *Nature Reviews Microbiology* 19(5):272–282. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00461-4>

Jyotika RK, Harish S, Karthikeyan G. *et al.* 2024. Molecular approaches for the management of

- papaya ringspot virus infecting papaya: a comprehensive review. *Molecular Biology Reports* 51(1):1–15. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08999-2>
- Khristi V. Patel VH. 2017. Therapeutic potential of *Hibiscus rosa-sinensis*: a review. *International Journal of Nutrition and Dietetics* 4(2):105–110. <https://doi.org/10.17654/nd004020105>
- Koonin EV. Krupovic M. Agol VI. 2021. The Baltimore classification of viruses 50 years later: how does it stand in the light of virus evolution? *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 85(3):e0005321. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00053-21>
- Krupovic M. Ghabrial SA. Jiang D. Varsani A. 2016. *Genomoviridae*: a new family of widespread single-stranded DNA viruses. *Archives of Virology* 161(9):2633–2643. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-2943-3>
- Kubitzki K. Rohwer JG. Bittrich V. 2013. Flowering Plants · Dicotyledons: Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid Families. Springer-Verlag, Berlin. <https://books.google.co.id/books?id=yjlzrzbRXNQC>
- Latif R, Nawaz T (2025) Medicinal plants and human health: a comprehensive review of bioactive compounds, therapeutic effects, and applications. *Phytochem Rev.* <https://doi.org/10.1007/s11101-025-10194-7>
- Lapidot M. 2007. Screening for TYLCV-resistance plants using whitefly-mediated inoculation. In: Czosnek H (ed) *Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease: Management, Molecular Biology, Breeding for Resistance*. Springer Netherlands. pp 329–342.
- Leke WN. Mignouna DB. Brown JK. Kvarnheden A. 2015. *Begomovirus* disease complex: emerging threat to vegetable production systems of West and Central Africa. *Agriculture & Food Security* 4:1–10. <https://doi.org/10.1186/s40066-015-0038-4>
- Lembo Duarte LM. Alexandre MAV. Ramos-González PL. *et al.* 2024. *Impatiens walleriana*, a new natural host of *Amaranthus* leaf mottle virus. *Australasian Plant Disease Notes* 19:25. <https://doi.org/10.1007/s13314-023-00525-y>

- Lima ATM, Silva JCF, Silva FN. *et al.* 2017. The diversification of begomovirus populations is predominantly driven by mutational dynamics. *Virus Evolution* 3(1):vex005. <https://doi.org/10.1093/ve/vex005>
- Loconsole G, Saldarelli P, Doddapaneni H. *et al.* 2012. Identification of a single-stranded DNA virus associated with citrus chlorotic dwarf disease, a new member in the family *Geminiviridae*. *Virology* 432(2):425–433. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2012.06.005>
- Ma Y, Navarro B, Zhang Z. *et al.* 2015. Identification and molecular characterization of a novel monopartite geminivirus associated with mulberry mosaic dwarf disease. *Journal of General Virology* 96(11):3142–3152. <https://doi.org/10.1099/vir.0.000175>
- Maciel MSF, Freitas PHS, Almeida MA. *et al.* 2023. *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae): a non-conventional food plant with medicinal potential. *Brazilian Journal of Health and Pharmacy* 5(2):1–10. <https://doi.org/10.29327/226760.5.2-1>
- Maciel VBV, Bezerra RQ, das Chagas EGL. *et al.* 2021. *Ora-pro-nobis* (*Pereskia aculeata* Miller): a potential alternative for iron supplementation and phytochemical compounds. *Brazilian Journal of Food Technology* 25:e202018020. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.18020>
- Madeira NR, Botrel N, Amaro GB, Melo RAC. 2015. Mangarito: sabor de tradição. *Horticultura Brasileira* 33(3):319–323. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620150000300023>
- Madeira NR, Kinupp VF. 2016. Experiências com as plantas alimentícias não convencionais no Brasil. *Informe Agropecuário* 37(287):7–11
- Mardis ER (2008) Next-generation DNA sequencing methods. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 9:387–402. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.9.081307.164359>
- Maliano MR, Rojas MR, Macedo MA. *et al.* 2022. The invasion biology of tomato begomoviruses in Costa Rica reveals neutral synergism that may lead to increased disease pressure and economic loss. *Virus Research* 317:198793. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2022.198793>
- Margulies M, Egholm M, Altman WE *et al.* (2005) Genome sequencing in microfabricated high-

- density picolitre reactors. *Nature* 437:376–380. <https://doi.org/10.1038/nature03959>
- Mishra M. Verma RK. Pandey V. *et al.* 2022. Role of diversity and recombination in the emergence of Chilli leaf curl virus. *Pathogens* 11(5):529. <https://doi.org/10.3390/pathogens11050529>
- Jain M. Olsen HE. Paten B. Akeson M (2016) The Oxford Nanopore MinION: delivery of nanopore sequencing to the genomics community. *Genome Biology* 17:239. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1103-0>
- Janssen F. Pauly A. Rombouts I. *et al.* 2017. Proteins of Amaranth (*Amaranthus* spp.). Buckwheat (*Fagopyrum* spp.). and Quinoa (*Chenopodium* spp.): A food science and technology perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16(4):1021–1040. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12240>
- Jeger M. Hamelin F. Cunniffe N. 2023. Emerging themes and approaches in plant virus epidemiology. *Phytopathology* 113(1):1–12. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-22-0263-RVW>
- Jones JE. Le Sage V. Lakdawala SS. 2021. Viral and host heterogeneity and their effects on the viral life cycle. *Nature Reviews Microbiology* 19(5):272–282. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00461-4>
- Jyotika RK. Harish S. Karthikeyan G. *et al.* 2024. Molecular approaches for the management of papaya ringspot virus infecting papaya: a comprehensive review. *Molecular Biology Reports* 51(1):1–15. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08999-2>
- Khristi V. Patel VH. 2017. Therapeutic potential of *Hibiscus rosa-sinensis*: a review. *International Journal of Nutrition and Dietetics* 4(2):105–110. <https://doi.org/10.17654/nd004020105>
- Koonin EV. Krupovic M. Agol VI. 2021. The Baltimore classification of viruses 50 years later: how does it stand in the light of virus evolution? *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 85(3):e0005321. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00053-21>

- Krupovic M. Ghabrial SA. Jiang D. Varsani A. 2016. *Genomoviridae*: a new family of widespread single-stranded DNA viruses. *Archives of Virology* 161(9):2633–2643. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-2943-3>
- Kubitzki K. Rohwer JG. Bittrich V. 2013. Flowering Plants · Dicotyledons: Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid Families. Springer-Verlag. Berlin. <https://books.google.co.id/books?id=yjlzrzbrXNQC>
- Lapidot M. 2007. Screening for TYLCV-resistance plants using whitefly-mediated inoculation. In: Czosnek H (ed) Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease: Management. Molecular Biology. Breeding for Resistance. Springer Netherlands. pp 329–342.
- Leke WN. Mignouna DB. Brown JK. Kvarnheden A. 2015. *Begomovirus* disease complex: emerging threat to vegetable production systems of West and Central Africa. *Agriculture & Food Security* 4:1–10. <https://doi.org/10.1186/s40066-015-0038-4>
- Lembo Duarte LM. Alexandre MAV. Ramos-González PL. *et al.* 2024. *Impatiens walleriana*, a new natural host of *Amaranthus* leaf mottle virus. *Australasian Plant Disease Notes* 19:25. <https://doi.org/10.1007/s13314-023-00525-y>
- Lima ATM. Silva JCF. Silva FN. *et al.* 2017. The diversification of begomovirus populations is predominantly driven by mutational dynamics. *Virus Evolution* 3(1):vex005. <https://doi.org/10.1093/ve/vex005>
- Loconsole G. Saldarelli P. Doddapaneni H. *et al.* 2012. Identification of a single-stranded DNA virus associated with citrus chlorotic dwarf disease, a new member in the family *Geminiviridae*. *Virology* 432(2):425–433. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2012.06.005>
- Ma Y. Navarro B. Zhang Z. *et al.* 2015. Identification and molecular characterization of a novel monopartite geminivirus associated with mulberry mosaic dwarf disease. *Journal of General Virology* 96(11):3142–3152. <https://doi.org/10.1099/vir.0.000175>
- Maciel MSF. Freitas PHS. Almeida MA. *et al.* 2023. *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae): a non-

- conventional food plant with medicinal potential. *Brazilian Journal of Health and Pharmacy* 5(2):1–10. <https://doi.org/10.29327/226760.5.2-1>
- Maciel VBV. Bezerra RQ. das Chagas EGL. *et al.* 2021. Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller): a potential alternative for iron supplementation and phytochemical compounds. *Brazilian Journal of Food Technology* 25:e202018020. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.18020>
- Madeira NR. Botrel N. Amaro GB. Melo RAC. 2015. Mangarito: sabor de tradição. *Horticultura Brasileira* 33(3):319–323. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620150000300023>
- Madeira NR. Kinupp VF. 2016. Experiências com as plantas alimentícias não convencionais no Brasil. *Informe Agropecuário* 37(287):7–11
- Maliano MR. Rojas MR. Macedo MA. *et al.* 2022. The invasion biology of tomato begomoviruses in Costa Rica reveals neutral synergism that may lead to increased disease pressure and economic loss. *Virus Research* 317:198793. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2022.198793>
- MAPA. 2010. Manual das Hortaliças não-convencionais: (tradicionais). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília.
- Martelli GP. 1992. Classification and nomenclature of plant viruses: state of the art. *Plant Disease* 76(5):436–441. <https://doi.org/10.1094/pd-76-0436>
- Martin DP. Varsani A. Roumagnac P. *et al.* 2021. RDP5: a computer program for analyzing recombination in and removing signals of recombination from nucleotide sequence datasets. *Virus Evolution* 7(1):veaa087. <https://doi.org/10.1093/ve/veaa087>
- Matos Andrade GM. Reis Mendonça AV. De Souza MO. *et al.* 2023. Plantas alimentícias não convencionais (PANC) nos levantamentos etnobotânicos do Brasil. *Novos Cadernos NAEA* 26(2):13003. <https://doi.org/10.18542/ncn.v26i2.13003>
- Mietzsch M. Bennett A. McKenna R. 2025. Structural capsidomics of single-stranded DNA viruses. *Viruses* 17(3):333.
- Mishra M. Verma RK. Pandey V. *et al.* 2022. Role of diversity and recombination in the

- emergence of Chilli leaf curl virus. *Pathogens* 11(5):529.
<https://doi.org/10.3390/pathogens11050529>
- Muhire BM. Varsani A. Martin DP. 2014. SDT: a virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation. *PLoS ONE* 9(9):e108277.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108277>
- Naito FYB. Melo FL. Fonseca MEN. *et al.* 2019. Nanopore sequencing of a novel bipartite New World begomovirus infecting cowpea. *Archives of Virology* 164(10):2523–2526.
<https://doi.org/10.1007/s00705-019-04254-5>
- Navas-Castillo J. Fiallo-Olivé E. Sánchez-Campos S. 2011. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49:219–248. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095235>
- Nogueira AM. Nascimento MB. Barbosa TMC. *et al.* 2021. The association between New World alphasatellites and bipartite begomoviruses: effects on infection and vector transmission. *Pathogens* 10(10):1244. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101244>
- Padidam M. Sawyer S. Fauquet CM. 1999. Possible emergence of new geminiviruses by frequent recombination. *Virology* 265(2):218–225. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.0056>
- Pashova S. Karcheva-Bahchevanska D. Ivanov K. Ivanova S. 2024. Genus *Stachys*—phytochemistry, traditional medicinal uses, and future perspectives. *Molecules* 29(1):1–24.
- Passos MAB. 2023. Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no estado do Maranhão. Brasil. *Revista Foco* 16(3):96. <https://doi.org/10.54751/revistafoco.v16n3-096>
- Pedroso RS. Andrade G. Pires RH. 2021. Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. *Physis: Revista de Saúde Coletiva* 31(2):e218. <https://doi.org/10.1590/s0103-73312021310218>
- Queiroz CRAA. Ferreira L. Gomes LBP. *et al.* 2015. Ora-pro-nóbis em uso alimentar humano: percepção sensorial. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*

10(3):3393. <https://doi.org/10.18378/rvads.v10i3.3393>

Ray S, Casteel CL (2022) Effector-mediated plant–virus–vector interactions. *Plant Cell* 34:1514–1531. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac058>

Rivarez MPS, Kogej Z, Jakoš N. *et al.* 2022. First report of Ranunculus white mottle ophiovirus in Slovenia in pepper with yellow leaf curling symptom and in tomato. *Plant Disease* 106(11):2987. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-22-0272-RE>

Rivarez MPS, Pecman A, Bačnik K. *et al.* 2023. In-depth study of tomato and weed viromes reveals undiscovered plant virus diversity in an agroecosystem. *Microbiome* 11(1):1500. <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01500-6>

Rivarez MPS, Vučurović A, Mehle N. *et al.* 2021. Global advances in tomato virome research: current status and the impact of high-throughput sequencing. *Frontiers in Microbiology* 12:671925.

Rocha DG, Machado AC, Borges JG. 2023. Diagnóstico da importância de material de divulgação sobre plantas alimentícias não convencionais (PANC). [Dados editoriais não disponíveis].

Rodrigues AAC, Silva GS, Moraes FHR, Silva CLP. 2006. *Arachis repens*: novo hospedeiro de *Puccinia arachidis*. *Fitopatologia Brasileira* 31(4):404–406. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582006000400015>

Rothberg JM, Hinz W, Rearick TM *et al.* (2011) An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature* 475:348–352. <https://doi.org/10.1038/nature10242>

Roumagnac P, Lett JM, Fiallo-Olivé E. *et al.* 2022. Establishment of five new genera in the family *Geminiviridae*: *Citlodavirus*, *Maldovirus*, *Mulcrilevirus*, *Opunvirus*, and *Topilevirus*. *Archives of Virology* 167(2):491–511. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05309-2>

Salipante SJ, Kawashima T, Rosenthal C. *et al.* 2014. Performance comparison of Illumina and Ion Torrent next-generation sequencing platforms for 16S rRNA-based bacterial community profiling. *Applied and Environmental Microbiology* 80(24):7583–7591.

<https://doi.org/10.1128/AEM.02206-14>

- Saunders K. Bedford ID. Briddon RW. Markham PG. Wong SM. Stanley J (2000) A unique virus complex causes Ageratum yellow vein disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:6890–6895. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.12.6890>
- Saunders K. Lucy A. Stanley J. 1991. DNA forms of the geminivirus African cassava mosaic virus consistent with a rolling circle mechanism of replication. *Nucleic Acids Research* 19(9):2325–2330. <https://doi.org/10.1093/nar/19.9.2325>
- Seal SE. VandenBosch F. Jeger MJ. 2006. Factors influencing begomovirus evolution and their increasing global significance: implications for sustainable control. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25(1):23–46.
- Siadjeu C, Pucker B (2023) Medicinal plant genomics. *BMC Genomics* 24:429. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09542-8>
- Siddell SG. Smith DB. Adriaenssens E. *et al.* 2023. Virus taxonomy and the role of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Journal of General Virology* 104(1):001001.
- Silva FN. Lima AT. Rocha CS. *et al.* 2014. Recombination and pseudorecombination driving the evolution of the begomoviruses tomato severe rugose virus (ToSRV) and tomato rugose mosaic virus (ToRMV): two recombinant DNA-A components sharing the same DNA-B. *Virology Journal* 11:66. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-11-66>
- Silva KC. Barros BF. Nolasco LFC. Silva TC. 2022. Percepção local, conhecimento e uso de plantas alimentícias não convencionais (PANC) por populações humanas no Brasil: uma revisão sistemática. *Diversitas Journal* 7(4):2091. <https://doi.org/10.48017/dj.v7i4.2091>
- Silva LFLE. Souza DC. Xavier JB. *et al.* 2019. Avaliação nutricional de caruru (*Amaranthus* spp). *Agrarian* 12(45):7770. <https://doi.org/10.30612/agrarian.v12i45.7770>
- Singh R, Singh PK, Kumar V *et al.* (2023) Potential medicinal plants to combat viral infections: a

way forward to environmental biotechnology. *Environ Res* 227:115725.

<https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115725>

Souza MR. Pereira PRG. Pereira RGF. *et al.* 2020. Protein yield and mineral contents in *Pereskia aculeata* under high-density planting system. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 50:e62365. <https://doi.org/10.1590/1983-40632020v50e62365>

Stevens PF. Kubitzki K. Rohwer JG. Bittrich V. 1994. The families and genera of vascular plants. Vol. 2. Flowering plants. Dicotyledons: Magnoliid. Hamamelid and Caryophyllid families. *Taxon* 43(2):247. <https://doi.org/10.2307/1222750>

Wendimu GY, Gurnu AF (2024) Insect vectors of plant viruses: host interactions, their effects and future opportunities. *Adv Agric*. Article ID 6006985. <https://doi.org/10.1155/2024/6006985>

CAPÍTULO 2

HTS-based survey of ssDNA viruses and subviral agents associated with non-conventional food and medicinal plants

Náthali da Silva de Abreu¹. Luciane de Nazaré Almeida dos Reis¹. Felipe Fochat Silva Melo¹.
Leonardo Silva Boiteux^{1,2*}. Rita de Cássia Pereira- Carvalho^{1*}

¹Department of Plant Pathology. University of Brasília. Brasília-DF. Brazil

²Embrapa Vegetable Crops (CNPH). Brasília-DF. Brazil.

*Correspondence author: rcpcarvalho@unb.br

Work to be submitted to Tropical Plant Pathology

1. Abstract

This study investigated the diversity of single-stranded DNA (ssDNA) viruses associated with underexplored plant hosts, including non-conventional food plants, medicinal plants, and spontaneous vegetation in Brazil, using a high-throughput sequencing (HTS) approach. A total of 142 leaf samples collected from different regions of the country were analyzed as a pooled sample (P422). HTS analysis generated 86,818 contigs, of which 95 showed similarity to viral sequences in initial BLASTn screening. After removing sequences with higher similarity to plant or bacterial genomes, 48 contigs were confirmed as viral and selected for further analysis. Among these, 42 contigs were classified as members of the genus Begomovirus (family Geminiviridae), including 23 DNA-A and 19 DNA-B genomic components. Comparative nucleotide identity analysis revealed the presence of five previously described begomovirus species: Tobacco mottle leaf curl virus, Bean golden mosaic virus, Euphorbia yellow mosaic virus, Tomato chlorotic mottle virus, and Tomato severe rugose virus. In addition, seven DNA-A contigs exhibited nucleotide identities below 91% relative to known begomoviruses, consistent with the species demarcation threshold established by the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). These candidate sequences ranged from 2,608 to 2,720 bp in length and showed genome coverage between 91% and 100%, indicating near-complete genomic assemblies. Genome organization analysis revealed the characteristic arrangement of New World begomoviruses, including open reading frames encoding the replication-associated protein (Rep), transcriptional activator protein (TrAP), replication enhancer protein (REn), coat protein (CP), and movement protein (MP). In addition to begomoviruses, the analysis detected three contigs related to alphasatellites, two contigs related to gemycircularviruses (family Genomoviridae), and one contig with high nucleotide identity to Bougainvillea chlorotic vein banding virus (genus Badnavirus, family Caulimoviridae), indicating the presence of diverse circular DNA viruses and subviral agents within the analyzed plant community. The presence of several viruses detected by HTS was further confirmed by PCR using specific primers in

selected individual samples, including detections of Euphorbia yellow mosaic virus, Tomato chlorotic mottle virus, Tomato severe rugose virus, Euphorbia yellow mosaic alphasatellite, and Bean golden mosaic virus in hosts such as Euphorbia heterophylla, melon, peanut, and related plant species. Notably, Bean golden mosaic virus was detected infecting Euphorbia heterophylla, representing a previously unreported host association. Furthermore, one divergent DNA-A contig (C143) showing 90.45% nucleotide identity with Tomato severe rugose virus was individually detected in Euphorbia heterophylla, suggesting the presence of a genetically distinct begomovirus lineage in this host. Overall, these findings reveal a previously underexplored diversity of begomoviruses and other circular DNA viruses associated with undercharacterized plant hosts, highlighting the potential role of these plants as reservoirs of viral diversity in agroecosystems.

Keywords: *Plant virome; CRESS-DNA viruses; Euphorbia heterophylla; viral diversity*

2. Introdução

Medindo entre 2.5 e 3.0kb, os representantes da família *Geminiviridae* possuem um genoma pequeno, constituído por ácido desoxirribonucleico circular de cadeia simples (ssDNA) (Brown et al. 2015). A proteína capsidial organiza-se em duas unidades conectadas, formando uma estrutura icosaédrica geminada (Fiallo-Olivé et al. 2021). Em genomas bipartidos, dois componentes distintos, denominados DNA-A e DNA-B, podem compor a partícula viral; já em genomas monopartidos, apenas o DNA-A está presente (Varsani et al 2017). Até o início de 2026, 548 isolados estavam classificados no *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) como membros da família *Geminiviridae* (desses, 463 são classificados no gênero *Begomovirus*). Seguindo os critérios descritos por Brown et al (2015), a classificação de novas espécies e estirpes para esta família se baseia na identidade nucleotídica do genoma completo, considerando o segmento DNA-A como referência. Ainda de acordo com Brown et al (2015), isso se dá porque o DNA-A possui componentes essenciais para a replicação viral e para a regulação da expressão gênica, enquanto o DNA-B está relacionado principalmente à movimentação viral em sua hospedeira.

De acordo com os critérios propostos por Brown et al. (2015), a delimitação de espécies no gênero *Begomovirus* baseia-se na identidade nucleotídica do genoma completo do DNA-A. Assim, sequências que compartilham menos de 91% de identidade nucleotídica são consideradas pertencentes a espécies distintas. Por outro lado, isolados com identidades superiores a esse limiar podem representar variantes dentro de uma mesma espécie, frequentemente referidas como estirpes quando apresentam diferenças biológicas, moleculares ou epidemiológicas.

Os membros da família *Geminiviridae* desencadeiam sintomas como mosaico dourado, enrolamento foliar, enações e amarelecimento da nervura, que podem variar conforme o estágio de desenvolvimento da planta, genótipo, fatores ambientais e infecções mistas (Rojas et al.

2018; Inoue-Nagata, Ávilla e Bôas. 2009). O estudo desses vírus exige uma caracterização molecular detalhada, incluindo análises genômicas e transcriptômicas, para compreender a interação vírus-hospedeira e desenvolver estratégias eficazes de manejo, como a seleção de cultivares resistentes (Jones et al. 2021).

As Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) são espécies vegetais com potencial alimentar, mas que não são amplamente cultivadas ou consumidas em larga escala (Kinupp e Lorenzi. 2014). Essas plantas, como o mamoeiro (*Carica papaya*) e o maxixe (*Cucumis anguria*), desempenham um papel importante na segurança alimentar e na diversificação da dieta, especialmente em comunidades tradicionais e locais com escassez de alimentos (Andrade et al. 2023). Outro importante grupo de plantas, refere-se as plantas medicinais (PM), utilizadas há milênios pelas civilizações e amplamente utilizada pela população brasileira. Plantas medicinais possuem substâncias ativas denominadas fitoterápicos que são capazes de prevenir ou tratar várias doenças. Exemplos comuns incluem menta, boldo, babosa, alecrim, guaco e camomila. Assim como as culturas convencionais, as PANC também são suscetíveis a doenças virais, incluindo aquelas causadas por vírus classificados na família *Geminiviridae* e outros patógenos.

O estudo de patógenos que infectam plantas alimentícias não convencionais (PANC) e plantas medicinais (PM) ainda é limitado, apesar da relevância ecológica, nutricional e cultural dessas espécies. Muitas dessas plantas ocorrem em ambientes agrícolas, bordas de cultivo ou sistemas agroecológicos, onde coexistem com culturas de interesse econômico e plantas espontâneas (Galbács 2024). Nesse contexto, espécies não cultivadas podem atuar como hospedeiras alternativas e reservatórios naturais de vírus, contribuindo para a manutenção e dispersão de patógenos em agroecossistemas (Assunção et al. 2006). Vírus detectados em culturas agrícolas também podem ser encontrados em plantas espontâneas e daninhas, indicando fluxo de vírus entre compartimentos cultivados e não cultivados e reforçando o papel

dessas plantas na epidemiologia das viroses vegetais (Rivarez et al. 2023). Assim, a investigação do viroma de PANC e PM pode revelar novos hospedeiros virais, ampliar o conhecimento sobre a diversidade viral e auxiliar na compreensão das rotas de emergência e disseminação de vírus fitopatogênicos.

3. Metodologia

3.1. Obtenção das amostras

As amostras analisadas neste estudo pertencem a uma coleção de plantas com sintomas (**Figura 1**), coletadas entre 2002 e 2022 em todas as regiões do Brasil (Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul), além de amostras oriundas do Uruguai e de Cuba. No total, foram avaliadas 142 amostras foliares retiradas de plantas alimentícias não convencionais (PANC), espécies medicinais e plantas daninhas (por apresentarem sintomas). Entre as amostras com identificação taxonômica disponível, foram reconhecidas 25 famílias botânicas, 40 gêneros e 44 espécies vegetais, conforme apresentado na **Tabela 1**. Algumas amostras permaneceram identificadas apenas em níveis taxonômicos mais amplos (por exemplo, família) ou foram registradas como plantas não identificadas, uma vez que parte do material foi coletada em diferentes projetos. As coletas foram realizadas em áreas agrícolas, hortas experimentais, ambientes urbanos e áreas de vegetação espontânea, incluindo unidades da Embrapa Hortaliças (CNPq) e áreas experimentais associadas à Universidade de Brasília (UnB). Plantas cultivadas e espécies espontâneas presentes em agroecossistemas podem atuar como importantes reservatórios de vírus de plantas, contribuindo para a manutenção e disseminação de patógenos virais entre culturas agrícolas e hospedeiras alternativas.

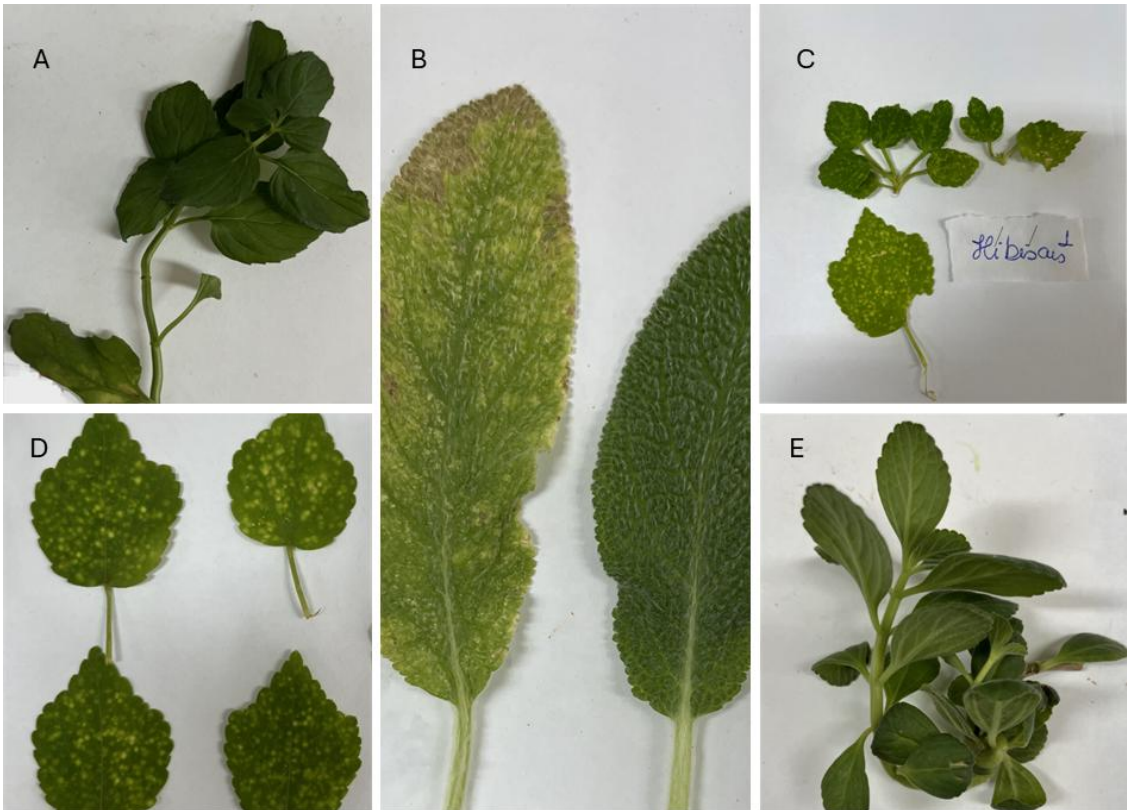


Figura 1. A-E. Plantas alimentícias não convencionais e medicinais. As plantas amostradas apresentaram sintomas foliares variados, compatíveis com infecções virais, incluindo mosaico, clorose e deformações foliares **A.** Boldo (*Peumus boldus*), **B.** Peixinho da horta (*Stachys byzantina*), **C.** Hibisco (*Hibiscus* spp), **D.** Hibisco (*Hibiscus* spp) e; **E.** Vick (*Mentha arvensis*).

Tabela 1. Relação das amostras vegetais coletadas por região do Brasil, com informações de uso, família botânica, hospedeira e status de identificação taxonômica.

Região do Brasil	Utilização	Família botânica	Nome científico	Hospedeira	Local de coleta	Código	Ano		
Região Norte	Medicinal	Apiaceae	<i>Petroselinum crispum</i>	Salsinha	Gurupi	TO-192	2008		
		Cucurbitaceae	<i>Citrullus lanatus</i>	Melancia	Lagoa da Confusão	TO-153	2008		
		Euphorbiaceae	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Leiteiro	Gurupi	TO-040	2007		
					Palmas	TO-286	2009		
					Porto Nacional	TO-290	2009		
					Silvanópolis	TO-294	2009		
					UNITINS	TO-116	2008		
		Euphorbiaceae	<i>Manihot esculenta</i>	Mandioca	Araguaína	TO-188	2008		
					Desconhecida	Daninha*	Arraias	TO-075	2007
					-	Daninha 1*	Formoso	TO-130	2008
					-	Daninha 2*	Formoso	TO-131	2008
					-	Daninha 3*	Formoso	TO-132	2008
	-	Daninha 4*	Formoso	TO-133	2008				
	-	Daninha 5*	Natividade	TO-254	2009				
	PANC	Commelinaceae	<i>Commelina benghalensis</i>	Trapoeraba	Gurupi	TO-044	2007		
Cucurbitaceae		<i>Cucumis anguria</i>	Maxixe	Silves	AM-009	2007			
		<i>Momordica charantia</i>	Melão	Vilena	RO-002	2016			
Região Nordeste	Medicinal	Cucurbitaceae	<i>Citrullus lanatus</i>	Melancia	Maracaz_(Espinho)	BA-087	2011		
		Euphorbiaceae	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Leiteiro	Itaquara	BA-114	2011		
		-	-	A identificar*	Irecê	BA-021	2007		

	PANC	Amaranthaceae	<i>Amaranthus viridis</i>	Caruru	América Dourada	BA-025	2007
		Cucurbitaceae	<i>Cucumis anguria</i>	Maxixe	Juazeiro-Mandacaru	BA-171	2012
		Cucurbitaceae	<i>Momordica charantia</i>	Melão de São Caetano	Alagoas	RAL-763	2022
		Monimiaceae	<i>Plectranthus barbatus</i>	Boldo*	Alagoas	RAL-764	2022
		Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus niruri</i>	Quebra-pedra	Alagoas	RAL-765	2022
Região Centro-Oeste	Daninha	Cucurbitaceae	-	Cucurbitaceae*	Águas Claras	DF-798	2020
	Daninha	-	-	Daninha 6*	Lago Norte	DF-354	2010
	Daninha	Asteraceae	-	Asteraceae*	UnB	DF-797	2020
		Asteraceae	<i>Ageratum conyzoides</i>	Mentrasto	Pipiripau	DF-351	2010
		-	-	Ornamental - Casa Boiteux	Lago Norte - DF	RDF755	2022
	Medicinal	Amaranthaceae	<i>Beta vulgaris</i>	Beterraba	CNPH	RDF-849	2021
		Anacardiaceae	<i>Spondias purpurea</i>	Seriguela	CNPH	RDF-854	2022
		Bignoniaceae	<i>Tabebuia chrysotricha</i>	Ipê amarelo	Noroeste	RDF-770	2022
					Noroeste	RDF-771	2022
		Cucurbitaceae	<i>Cucurbita pepo</i>	Abóbora	CNPH	DF-400	2011
		Euphorbiaceae	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Leiteiro	P.Alta	DF-241	2007
					Itaberaí	GO--635	2020
	Luziania				GO-630	2020	
Itaberaí	GO-633				2020		
Fabaceae	<i>Anadenanthera colubrina</i>	Angico	CNPH	RDF-847	2021		
			<i>Paubrasilia echinata</i>	Pau-Brasil	EEB	RDF-843	2022

		-	Acácia*	EEB	RDF-844	2022
		-	Vigna*	CNPH	RDF-851	2021
		<i>Plathymenia foliolosa</i>	Vinhático	Professora Denise	RDF-860	2022
		<i>Plathymenia foliolosa</i>	Vinhático	Professora Denise	RDF-861	2022
	Rosaceae	-	Roseira	CNPH	RDF-853	2022
	Solanaceae	<i>Solanum aethiopicum</i>	Jiló	CNPH	RDF-852	2022
	-	-	Suculenta 1	CNPH	RDF-855	2022
	Lamiaceae	<i>Leonotis nepetifolia</i>	Cordão de Frade	CNPH	DF-415	2011
				Rajadinha/PADF	DF-525	2013
	Poaceae	-	Cana-de-Açúcar	EEB	RDF-841	2022
	Verbenaceae	-	Lipia 1	CNPH	RDF-800	2022
		-	Lipia 2	CNPH	RDF-801	2022
		<i>Lippia sidoides</i>	Alecrim-pimenta	CNPH	RDF-803	2022
	-	-	Suculenta 2*	CNPH	RDF-857	2022
PANC	Amaranthaceae	<i>Amaranthus viridis</i>	Caruru	Planaltina	DF-396	2011
	Bignoniaceae	<i>Handroanthus albus</i>	Ipê Amarelo Peludo	CNPH	RDF845	2020
		<i>Tecoma stans</i>	Ipê de jardim	CNPH	RDF846	2020
	Asteraceae	<i>Acmella oleracea</i>	Jambu do cerrado	CNPH	RDF-790	2022
		-	Jambu Paraense*	CNPH	RDF-792	2022
		<i>Sonchus oleraceus</i>	Serralha	CNPH	RDF-804	2022
		-	Jambu Paraense*	CNPH	RDF-806	2022
	Cactaceae	-	Cactaceae*	CNPH	RDF-858	2022
	Caricaceae	<i>Carica papaya</i>	Mamão	EEB	RDF-842	2022

Comelinaceae	<i>Commelina benghalensis</i>	Trapoeraba	Pipiripau	DF-350	2010
	-	-	Planaltina	DF-392	2011
Cucurbitaceae	-	A identificar*	Goianápolis	GO-066	2003
	<i>Cucumis anguria</i>	Maxixe	Goianápolis	GO-258	2003
	<i>Momordica charantia</i>	Melão	CNPH	DF-636	2016
		Melão (CNPH 554)*	CNPH	DF-806	2022
-	A identificar*	CNPH	DF-801	2022	
Lamiaceae	<i>Stachys byzantina</i>	Peixinho	CNPH	RDF-779	2022
	<i>Mentha sp.</i>	Hortelã	CNPH	RDF-785	2022
				RDF-786	2022
	<i>Mentha pulegium</i>	Poejo	CNPH	RDF-789	2022
	<i>Mentha arvensis</i>	Vique	CNPH	RDF-791	2022
<i>Ocimum gratissimum</i>	Alfavaca	CNPH	RDF-802	2022	
Marantaceae	<i>Maranta arundinacea</i>	Araruta	CNPH	RDF-783	2022
Monimiaceae	<i>Plectranthus barbatus</i>	Boldo	Gama	DF-408	2011
			CNPH	RDF-809	2022
Myrtaceae	-	Myrtaceae*	CNPH	RDF-777	2022
Passifloraceae	-	Maracujá*	Lago Norte - DF	RDF-754	2022
Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus niruri</i>	Quebra-pedra	CNPH	RDF-784	2022
Portulacaceae	<i>Portulaca grandiflora</i>	Onze horas	CNPH	RDF-788	2022
Orquidaceae	-	Orquídea*	CNPH	RDF-766	2022
Nyctaginaceae	<i>Bougainvillea spectabilis</i>	Três Marias	CNPH	RDF-848	2021
Passifloraceae	-	Maracujá	EEB	RDF-840	2022

		Rosaceae	-	Roseira	CNPH	RDF-856	2022
		Solanaceae	<i>Physalis angulata</i>	Camapu	CNPH	RDF-850	2021
		Tropaeolaceae	<i>Tropaeolum majus</i>	Capuchinha	CNPH	RDF-798	2022
		Verbenaceae	<i>Duranta erecta</i>	<i>Duranta erecta</i> *	CNPH	RDF-795	2022
						RDF-799	2022
		-	-	Desconhecida*	CNPH	RDF-796	2022
		-	-			RDF-782	2022
		-	-	ACGO desconhecida*	CNPH	RDF-793	2022
		-	-	A identificar*	CNPH	RDF-811	2022
		-	-	Daninha 7*	CNPH	RDF-859	2022
Sudeste	PANC	Asteraceae	<i>Sonchus</i>	Sonchus*	Mauá da Serra	PR-146	2015
		Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i>	Pepino*	São Gerônimo da Serra	PR-074	2008
		Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i>	Pepino*	São José do Ubá	RJ-024	2006
		Fabaceae	<i>Arachis hypogaea</i>	Amendoim	São Paulo	A1-710	2020
					A2-711	2020	
					B1-712	2020	
					B2-713	2020	
					C2-714	2020	
					C2-715	2020	
					D1-716	2020	
DNA-752	2020						
DNA-753	2020						

						E1-717	2020
						F1-719	2020
						F2-720	2020
						G1-721	2020
						G2-722	2020
						H1-733	2020
						H1-733	2020
						H2-724	2020
						I1-725	2020
						I2-726	2020
						K1-727	2020
						L1-728	2020
						L2-729	2020
						M1-730	2020
						M2-731	2020
						N1-732	2020
						N2-733	2020
						O1-734	2020
						O1-738	2020
						O2-735	2020
						O2-739	2020
						P1-736	2020
						P2-737	2020

						R1-740	2020
						S2-741	2020
	Medicinal	Cucurbitaceae	<i>Luffa cylindrica</i>	Bucha	São Gerônimo da Serra	PR-090	2008
		Euphorbiaceae	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Leiteiro	Iraí	MG-033	2002
					Sete Lagoas	MG-447	2022
					Marilândia - baixada bairro costa	PR-048	2007
					Nova Bassano-RS	RS-035	2011
Sul	PANC	Asteraceae	<i>Bidens pilosa</i>	Picão	Caçador	SC-039	2011
Uruguai	PANC	Cucurbitaceae	<i>Momordica charantia</i>	Melão	Salto	URU-035	2013
Cuba	Medicinal	Euphorbiaceae	<i>Jathropa gossipyfolia</i>	Pinhão-roxo	Alamar	CB-006	2011

Nota: Células em branco indicam amostras vegetais cuja identificação taxonômica do hospedeiro encontra-se em processo de confirmação. *A identificar posteriormente.

3.2. Extração de DNA

Todas as amostras coletadas tiveram o excesso de sujidades retirados delicadamente com um pincel e em seguida foram fotografadas, identificadas com informações de local de coleta (cidade e estado) data e hospedeira (quando possível), e armazenadas em freezer a -20° C. As extrações do ácido nucleico viral para recuperação dos isolados foram feitas utilizando-se o protocolo adaptado por Boiteux et al. (1999) com CTAB 2X e solventes orgânicos. O produto desta extração foi armazenado em freezer a -20°C. A qualidade do DNA foi avaliada em géis de agarose a 1% corados com brometo de etídio e visualizados por luz UV na fotodocumentação.

3.3. Amplificação do DNA viral por RCA e *High-Throughput Sequencing* (HTS) e confirmação de hospedeiras

O DNA total obtido de cada amostra foi utilizado como molde para a amplificação do ssDNA viral por círculo rolante – RCA (*Rolling Circle Amplification*) (Inoue-Nagata *et al.* 2004) com o *Illustra TempliPhi* DNA Amplification Kit (GE Healthcare) e phi-polymerase de acordo com o trabalho descrito em Reis et al. (2020). Posteriormente, a RCA de cada amostra foi combinada em um único *pool* de PANC (89), PM (48) e outras amostras sintomáticas de daninhas (5). Este *pool* foi submetido a *High-Throughput Sequencing* (HTS) na plataforma *Illumina* com o sistema *NovaSeq6000*. O sequenciamento foi realizado em uma empresa prestadora de serviço denominada *Agrega* (Bento Gonçalves, Porto Alegre, Rio Grande do Sul). A confirmação prévia da infecção viral de grande parte das amostras selecionadas foi efetuada por meio da utilização dos primers PAL1v1978/PAR1c496 para o componente DNA-A e PBL1v2040-PRC1 para o componente DNA-B (Rojas et al. 1993).

A identificação taxonômica das hospedeiras vegetais foi confirmada por meio de DNA *barcoding*. O DNA genômico total das plantas selecionadas foi utilizado como molde para amplificação de marcadores padrão de *barcoding* vegetal, incluindo os loci plastidiais *matK* e *rbcL* e quando necessário, a região nuclear ITS (Letsiou 2024). As reações de PCR foram

realizadas utilizando primers universais descritos na literatura, seguindo condições previamente estabelecidas. Os produtos amplificados foram purificados e submetidos ao sequenciamento. As sequências obtidas foram editadas e comparadas com registros disponíveis no banco de dados GenBank por meio do algoritmo BLASTn, sendo consideradas identificações confiáveis aquelas que apresentaram identidade $\geq 98\%$ com sequências de referência (Alargani 2022).

3.4. Análise das amostras sequenciadas

As sequências obtidas foram analisadas através de ferramentas de bioinformática e processadas utilizando o programa *CLC Genomics Workbench 11* (Qiagen) (Kearse et al., 2012). A posteriori, todas as amostras foram analisadas com o programa *Geneious* (Kearse et al. 2012) de acordo com metodologia usada pela equipe do Laboratório de Virologia Vegetal - Fitopatologia (LVV-Fito), que é descrita em Nery et al. (2020) e Reis et al. (2020). Os *reads* obtidos foram mapeados ao *contig* do putativo vírus para obtenção do *contig* final. Com o auxílio do programa *Geneious* R11.1 e da ferramenta “*Map to reference*” (parâmetro de identidade de sobreposição mínimo de 90 a 99%) os genomas dos *contigs* foram ampliados e mapeados com o arquivo de reads fornecido pelo HTS. Todos os *contigs* foram submetidos a comparações individuais com sequências virais presentes em bancos locais ou *GenBank* utilizando os algoritmos *BLASTn* e *BLASTx*. O alinhamento MUSCLE foi realizado no programa *Geneious* para a anotação de ORFs (*Open Reading Frames*) baseando-se no genoma de referência.

Para possíveis novas espécies além da anotação das ORFs foi analisada a região intergênica (presente em vírus monopartidos) e a região comum (presente em vírus bipartidos). Na região comum, foram caracterizados os motivos e os *iterons* o que permite confirmar que os componentes do DNA-A e do DNA-B são cognatos (Argüello-Astorga e Ruiz-Medrano 2001; Arguello-Astorga et al. 2004). A comparação entre os isolados e as espécies virais foi realizada por alinhamento *MUSCLE* com o programa SDT (*Sequence Demarcation Tool*) (Muhire et al.

2014).

A partir das sequências obtidas no sequenciamento HTS pares de *primers* abertos direcionados em sentidos opostos disponíveis na primoteca do Laboratório de Virologia Vegetal-LVV foram utilizados para detecção de vírus nas amostras individuais por meio do sistema de linhas e colunas. Esse sistema consiste na organização das amostras em uma tabela permitindo que cada linha e cada coluna contenha uma amostra em comum. Quando há uma correspondência de uma linha e uma coluna positiva ou uma linha e duas colunas positivas ou duas linhas e uma coluna positiva, considera-se a amostra em comum entre elas positiva para o vírus. Na ocorrência de mais de uma linha e mais de uma coluna positivas ao mesmo tempo, todas as respectivas amostras contidas nelas são submetidas individualmente à PCR.

As sequências de *primers*. Utilizados neste trabalho, bem como suas condições de uso encontram-se descritas na **Tabela 2**.

Tabela 2. *Primers* disponíveis na primoteca do Laboratório de Virologia Vegetal – UnB (LVV – Fito) desenhados para o trabalho de Reis et al. (2020) e utilizados para alguns vírus identificados no *pool* em estudo.

Vírus/Acrônimo	Nome do <i>primer</i>	(Foward) 5'-3' / (Reverse) '3- 5'	Temperatura de anelamento °C
1. Bean golden mosaic virus (BGMV) DNA-A	BGMV-For	GTGCGTGAATCCATGACCGT	55
	BGMV-Rev	ATTCACGCACAGGGGAACG	
2. Tomato severe rugose virus (ToSRV) DNA-A	ToSRV-For	AGCGTCGTTAGCTGTCTGGCA	58
	ToSRV-Rev	TGCCGCAGAAGCCTTGAACGCACCT	
3. Tomato severe rugose virus (ToSRV) DNA-B	ToSRV-B-For	AAACCCACACGAAAGCAGAGTTT	55
	ToSRV-B-Rev	CACCACGTCTATACATATTGTCCAGG	
4. Euphorbia yellow mosaic virus (EuYMV) DNA-A	EuYMV-A-For	GGGGTTCCAAGTCCAATAAAGATGA	52
	EuYMV-A-Rev	CAGACACCTTATATTTGCCGATTC	
5. Euphorbia yellow mosaic virus (EuYMV) DNA-B	EuYMV-B-For	GCCGAGGATAGAGGACACCAA	60
	EuYMV-B-Rev	CCAGGCCCAAACGCATTATATTTTATC	
6. Tomato chlorotic mottle virus (ToCMoV) DNA-A	ToCMoV-A-For	TTTGGGCCGCTCTTTTGGG	47
	ToCMoV-A-Rev	CAAACCTGAATGGGCCTTAAA	
7. Tomato chlorotic mottle virus (ToCMoV) DNA-B	ToCMoV-B-For	GTATTTGTTCTGGGTGCAATCATAAAAC	55
	ToCMoV-B-Rev	TTGTACTAATGACACATTATTCAATCACGA	
8. <i>Momordica charantia</i> associated gemycircularvirus	Momo-For	CCCACCCGAAAAGCTCTTACG	56
	Momo-Rev	GGGGTGAGGGATTTTCGGGT	
9. <i>Euphorbia yellow mosaic alphasatellite</i>	F1EuYA	CTGACCGGCTACTGGAAC	48
	R1 EuYA	GTCAGTCCCATATATAAAGG	

3.5. Desenho de *primers* específicos para validação por PCR dos vírus detectados por HTS

Para a confirmação da presença dos vírus identificados nas análises de sequenciamento de alto rendimento (HTS) em amostras individuais, foram desenhados *primers* específicos direcionados a regiões dos genomas virais (componente DNA-A). As sequências utilizadas para o desenho dos *primers* foram obtidas a partir dos contigs virais gerados durante a montagem e análise bioinformática dos dados de HTS.

O desenho dos *primers* foi realizado utilizando a função *primer design* do programa *Geneious* (Kearse et al. 2012). Os *primers* foram posicionados em orientações opostas e sobrepostas, visando a amplificação de fragmentos específicos dos genomas virais.

As reações de PCR foram conduzidas utilizando DNA total extraído das amostras vegetais previamente analisadas. Os produtos amplificados foram visualizados em gel de agarose, purificados e submetidos ao sequenciamento pelo método de *Sanger* para confirmação da identidade dos fragmentos amplificados. A relação dos *primers* desenhados encontra-se organizada na **Tabela 3**.

Tabela 3. Pares de *primers* desenhados com base em sequências virais consensuais derivadas de *High-Throughput Sequencing* (HTS) para validação de novas espécies virais.

Espécie viral (DNA-A)	Nome do primer	Sequência 5'–3'	Tamanho do amplicon
<i>Tobacco mottle leaf curl virus</i> (Parcial)	TBMOLC –For	TCCCCCATGTGCCGTACCCTCG	2534
	TBMOLC –Rev	CTCCTAGTATAAATGAGACACC	
Nova espécie #317	317–A–For	GGAGCAGGAGGTGTTTTG	2854
	317–A–Rev	TGCTCCAATTAAGACTAAGG	
Nova espécie #162	162–B–For	AGTTCTGACGGGTTTAGTTAATTTT	2483
	162–B–Rev	CTCCAGATCCTTAAAGAACTTC	
Nova espécie #143	143–For	AGCAGCCCGATGTTGAACT	1378
	143–Rev	ACTGACGAGTCCATATGT	
Nova espécie #215	215–For	GCCTCAATAGAACTTTAGATCCTGATG	2652
	215–Rev	TTCTAGTATAAATGAGACACCAGACA	
Nova espécie #139	139–For	ATTTATGTTGTGCCGTACCCTC	2621
	139–Rev	GGGCCTTAAAAAATCGCGC	
Nova espécie #844	844–For	GCGCATTTTTTGAGTTCCGC	2031
	844–Rev	GTTGAATGCCTCTTCTGC	
Nova espécie #141	141–For	GACCGACCTTTATAAATTAACCCTGATTGG	1329
	141–Rev	GGTCTTCGTCACCCTCACAGCCCCCT	

3.6. Condições de PCR utilizadas para a detecção de vírus nas amostras

As reações de PCR foram realizadas em volume final de 12,5µL, contendo 1,25µL de tampão de PCR 10× (1× final), 0,4µL de MgCl₂ (50mM; concentração final de 1,6mM), 0,25µL de dNTPs (10mM; concentração final de 0,2mM), 0,25µL de cada *primer* (*Forward* e *Reverse*; 10µM; concentração final de 0,2µM), 0,1µL de *Taq* DNA polimerase (10U/µL; 1 U por reação), 2,0µL de DNA molde obtido a partir dos produtos de amplificação por círculo rolante (RCA) previamente diluídos 1:10, e 8,0µL de água Milli-Q para completar o volume final da reação.

As reações foram conduzidas em 35 ciclos de amplificação, compreendendo as etapas de desnaturação, anelamento e extensão. A temperatura de anelamento variou de acordo com o par de *primers* utilizado.

Os *amplicons* obtidos foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio, e visualizados sob luz UV para fotodocumentação.

3.7. Análise filogenética

A análise filogenética é um método que viabiliza a reconstrução da história evolutiva de organismos ou genes, baseando-se em semelhanças e diferenças nas sequências genéticas ou de proteínas (Wadas e Domingues 2025). Essa definição é particularmente importante em virologia vegetal, posto que fornece base para identificar novas espécies de vírus.

As sequências virais obtidas neste estudo foram comparadas com sequências depositadas no banco de dados *GenBank*. O genoma completo do componente DNA-A foi utilizado como base para as análises, conforme recomendado para a classificação de espécies do gênero *Begomovirus* (Brown et al. 2015). O alinhamento múltiplo das sequências foi realizado utilizando o algoritmo *MUSCLE*, no software *Geneious* R11.1. A inferência filogenética foi conduzida pelo método *Maximum Likelihood*, utilizando o software IQ-TREE (Trifinopoulos et al. 2016). A árvore resultante foi posteriormente visualizada e editada no software *FigTree*. A identidade nucleotídica par-a-par entre as sequências foi calculada utilizando o programa

Sequence Demarcation Tool (SDT) (Muhire et al. 2014).

4. Resultados

4.1. Sequenciamento e montagem de *contigs*

A análise do pool P422, composto por 142 amostras foliares, resultou na montagem de 86.818 *contigs* a partir das leituras geradas por sequenciamento de alto desempenho (*High-Throughput Sequencing* – HTS). A triagem inicial por similaridade, realizada por meio de buscas BLASTn contra o banco de dados *GenBank*, identificou 95 *contigs* com similaridade a sequências virais. Após a remoção de sequências com maior similaridade a genomas de plantas ou bactérias, 48 *contigs* foram considerados efetivamente virais e selecionados para análises subsequentes.

Entre os *contigs* virais identificados, 42 apresentaram similaridade com membros do gênero *Begomovirus* (família *Geminiviridae*), sendo 23 correspondentes ao componente genômico DNA-A e 19 ao componente DNA-B (**Tabelas 4 e 5**). *Contigs* que apresentaram identidade nucleotídica superior a 98% entre si foram considerados redundantes e agrupados, sendo apenas um representante incluído nas tabelas.

Além dos begomovírus, a análise do pool P422 revelou a presença de sequências virais pertencentes a outros grupos taxonômicos de vírus de DNA fita simples, incluindo membros da família *Genomoviridae*, agentes subvirais do tipo alphasatellite e um vírus pertencente à família *Caulimoviridae* (**Tabela 6**).

Os *contigs* 85, 1555 e 7367 apresentaram tamanhos variando entre 1319 e 1334 pb, correspondendo a aproximadamente 97–98% do tamanho genômico típico de alphasatélites (~1,3–1,4 kb). Essas sequências exibiram cobertura do genoma de 100% e identidade nucleotídica entre 90,17% e 94,61% com *Euphorbia yellow mosaic alphasatellite*. Esses resultados sugerem a presença de variantes de alphasatellite associadas a begomovírus previamente descritos infectando *Euphorbia heterophylla*.

Dois *contigs* apresentaram similaridade com gemycircularvirus (família *Genomoviridae*). O *contig* 726 (2195 pb) correspondeu a aproximadamente 99% do tamanho genômico esperado

(~2,2 kb), apresentando 95,53% de identidade nucleotídica com *Momordica charantia associated gemycircularvirus* e cobertura de genoma de 100%. O *contig* 21895 (2106 pb) apresentou cobertura parcial do alinhamento BLAST (56%) e identidade nucleotídica de 82,75% com *Red panda feces-associated gemycircularvirus*. Apesar do tamanho compatível com genoma quase completo de gemycircularvirus, a baixa cobertura do alinhamento sugere que a sequência obtida representa um vírus relacionado, porém geneticamente divergente em relação às sequências atualmente disponíveis em bancos de dados.

Adicionalmente, o *contig* 4862 (8665 pb) apresentou 99,52% de identidade nucleotídica com *Bougainvillea chlorotic vein banding virus*, membro do gênero *Badnavirus* (família *Caulimoviridae*), com cobertura de genoma de 100% e tamanho compatível com genoma completo.

Com base na similaridade nucleotídica, no tamanho dos *contigs* e na cobertura do genoma de referência, as sequências virais identificadas foram atribuídas aos respectivos grupos taxonômicos e utilizadas nas análises subsequentes de caracterização molecular.

Tabela 4. *Contigs* virais correspondentes ao componente DNA-A de *Begomovirus* identificados por High-Throughput Sequencing (HTS) no *pool* analisado, com informações de cobertura de *reads*, tamanho do genoma montado, identidade nucleotídica e vírus de referência no *GenBank*.

<i>Contig</i>	Cobertura de <i>reads</i>	Tamanho (pb)	Cobertura BLASTn (%)	Identidade (%)	Acesso	Vírus mais próximo (GenBank)
317 ³	1068	2854	38	77,93	FR851299.1	<i>Potato yellow mosaic virus</i>
229 ¹⁻³	75,828	2630	98	84,93	MT103991.1	<i>Sida yellow blotch virus</i>
15 ³	164,146	2655	100	84,96	KC706605.1	<i>Tomato leaf distortion virus</i>
844 ³	258,660	2720	100	87,11	JX871374.1	<i>Tomato mild mosaic virus</i>
162 ³	33,891	2615	92	88,13	KJ174331.1	<i>Jatropha mosaic virus</i>
141 ³	54,842	2609	91	88,21	KJ174331.1	<i>Jatropha mosaic virus</i>
139 ³	227,252	2621	100	89,37	MT733804.1	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>
143 ³	37,548	2614	98	90,45	MT214084.1	<i>Tomato severe rugose virus</i>
5	38,983	2608	100	92,29	NC_038893.1	<i>Tobacco mottle leaf curl virus</i>
275	406,975	2591	100	93,13	MW596571.1	<i>Tomato severe rugose virus</i>
5513	97,682	2617	100	95,72	KJ939798.1	<i>Bean golden mosaic virus</i>
138	85,931	2622	100	97,83	MT733804.1	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>
1801 ¹	1,496,461	2609	100	99,04	JN419000.1	<i>Euphorbia yellow mosaic virus</i>

¹ *Contigs* indicados com números sobrescritos mostram similaridade com outros *contigs* após alinhamento com MUSCLE e análise no *software Evolview*; apenas um representante foi mantido. ²Identidade nucleotídica obtida por comparação BLASTn com sequências depositadas no *GenBank*.

³ *Contigs* com identidade nucleotídica inferior a 91%, limiar de demarcação de espécies para begomovírus (Brown et al. 2015).

Tabela 5. *Contigs* virais correspondentes ao componente DNA-B de *Begomovirus* identificados por High-Throughput Sequencing (HTS) no *pool* analisado, com informações de cobertura de *reads*, tamanho do genoma montado, identidade nucleotídica e vírus de referência no *GenBank*.

<i>Contig</i>	Cobertura de <i>reads</i>	Tamanho (pb)	Cobertura do genoma (%)	Identidade BLASTn (%)	Acesso	Vírus mais próximo (GenBank)
30	37,892	2586	88	78,48	NC_055471.1	<i>Tomato chlorotic leaf curl virus</i>
14	32,018	2592	100	82,36	NC_024013.1	<i>Jatropha mosaic virus</i>
27276	671,150	2661	89	89,02	KC706613.1	<i>Tomato mild mosaic virus</i>
37563	978,302	2625	80	84,54	JN419001.1	<i>Euphorbia yellow mosaic virus</i>
28499	113,021	2676	79	86,32	JN419001.1	<i>Euphorbia yellow mosaic virus</i>
163	11,630	2570	100	98,34	MT214091.1	<i>Tomato rugose mosaic virus</i>
17754	65,271	2678	100	92,70	KC706609.1	<i>Tomato mild mosaic virus</i>
18	69,059	2676	100	93,25	KC706609.1	<i>Tomato mild mosaic virus</i>
282	4,588	2616	90	99,40	MT214087.1	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>
830	5430	2595	100	99,11	MT214087.1	<i>Tomato chlorotic mottle virus</i>
124	1,808,770	2591	100	96,46	JN419001.1	<i>Euphorbia yellow mosaic virus</i>
56666	2,023,386	2577	100	97,83	KY905704.1	<i>Euphorbia yellow mosaic virus</i>
1463	1,868,984	2571	100	94,62	KY905704.1	<i>Euphorbia yellow mosaic virus</i>
8508 ¹	4225	2606	100	94,72	MT104018.1	<i>Passionfruit severe leaf distortion virus</i>
360	4225	2606	100	95,24	MT104018.1	<i>Passionfruit severe leaf distortion virus</i>
2364	26,584	2679	100	96,34	MN822293.1	<i>Bean golden mosaic virus</i>
1198 ¹	2530	2593	100	99,69	MN822293.1	<i>Bean golden mosaic virus</i>

¹ *Contigs* indicados com números sobrescritos mostram similaridade com outros *contigs* após alinhamento com MUSCLE e análise no *software* *Evolview*; apenas um representante foi mantido.

Tabela 6. *Contigs* virais de ssDNA não pertencentes ao gênero *Begomovirus* detectados no pool P422 por High-Throughput Sequencing (HTS), com informações de tamanho do *contig*, cobertura, identidade nucleotídica e vírus de referência mais próximo.

Contig	Cobertura de Reads	Tamanho (pb)	Cobertura do genoma (%)	Cobertura do alinhamento (%)	Identidade (%)	Vírus de referência mais próximo	Acesso	Classificação proposta
4862	911	8665	100	100	99,52	<i>Bougainvillea chlorotic vein banding virus</i>	MK473389.1	<i>Badnavirus</i> (<i>Caulimoviridae</i>)
85	38,076	1319	97	100	90,17	<i>Euphorbia yellow mosaic alphasatellite</i>	KY559642.1	<i>Alphasatellite</i> (<i>Alphasatellitidae</i>)
1555	41,821	1319	97	100	92,02	<i>Euphorbia yellow mosaic alphasatellite</i>	KY559642.1	<i>Alphasatellite</i> (<i>Alphasatellitidae</i>)
7367	53179	1334	98	100	94,61	<i>Euphorbia yellow mosaic alphasatellite</i>	KY559642.1	<i>Alphasatellite</i> (<i>Alphasatellitidae</i>)
21895	141	2106	95	56	82,75	<i>Red panda feces-associated gemycircularvirus</i>	MZ556167.1	<i>Gemycircularvirus</i> (<i>Genomoviridae</i>)
726	2592	2195	99	100	95,53	<i>Momordica charantia associated gemycircularvirus</i>	NC_075310.1	<i>Gemycircularvirus</i> (<i>Genomoviridae</i>)

4.2. *Contigs* relacionados a begomovírus

A comparação das sequências por meio do algoritmo BLASTn contra o banco de dados *GenBank* indicou identidades nucleotídicas variando entre 77,93% e 99,04% para os *contigs* correspondentes ao componente DNA-A e entre 78,48% e 99,69% para os *contigs* de DNA-B.

A análise de identidade nucleotídica par a par realizada no software *Sequence Demarcation Tool* (SDT) para as sequências de DNA-A identificou um par de *contigs* com identidade $\geq 98\%$ entre si (C215 e C229). Esses *contigs* foram considerados variantes de um mesmo vírus e apenas o *contig* C229 foi utilizado nas análises subsequentes devido à sua maior cobertura genômica.

Cinco espécies previamente descritas de begomovírus foram identificadas entre os *contigs* analisados: (1) *Tobacco mottle leaf curl virus*, representado pelo *contig* 5; (2) *Bean golden mosaic virus*, representado pelo *contig* 5513; (3) *Euphorbia yellow mosaic virus*, representado pelo *contig* 1801 e *contigs* altamente similares; (4) *Tomato chlorotic mottle virus*, representado pelo *contig* 138; e (5) *Tomato severe rugose virus*, representado pelo *contig* 275.

Para *Euphorbia yellow mosaic virus*, nove *contigs* (13935, 2209, 30420, 10035, 1, 2, 3, 1801 e 1872) foram recuperados, correspondendo a variantes dessa espécie viral. Análises filogenéticas e de identidade nucleotídica par a par (SDT) utilizando a sequência completa do componente DNA-A demonstraram que os *contigs* obtidos agruparam-se consistentemente com isolados de referência de *Euphorbia yellow mosaic virus*, apresentando elevados valores de identidade nucleotídica (**Figura 2**).

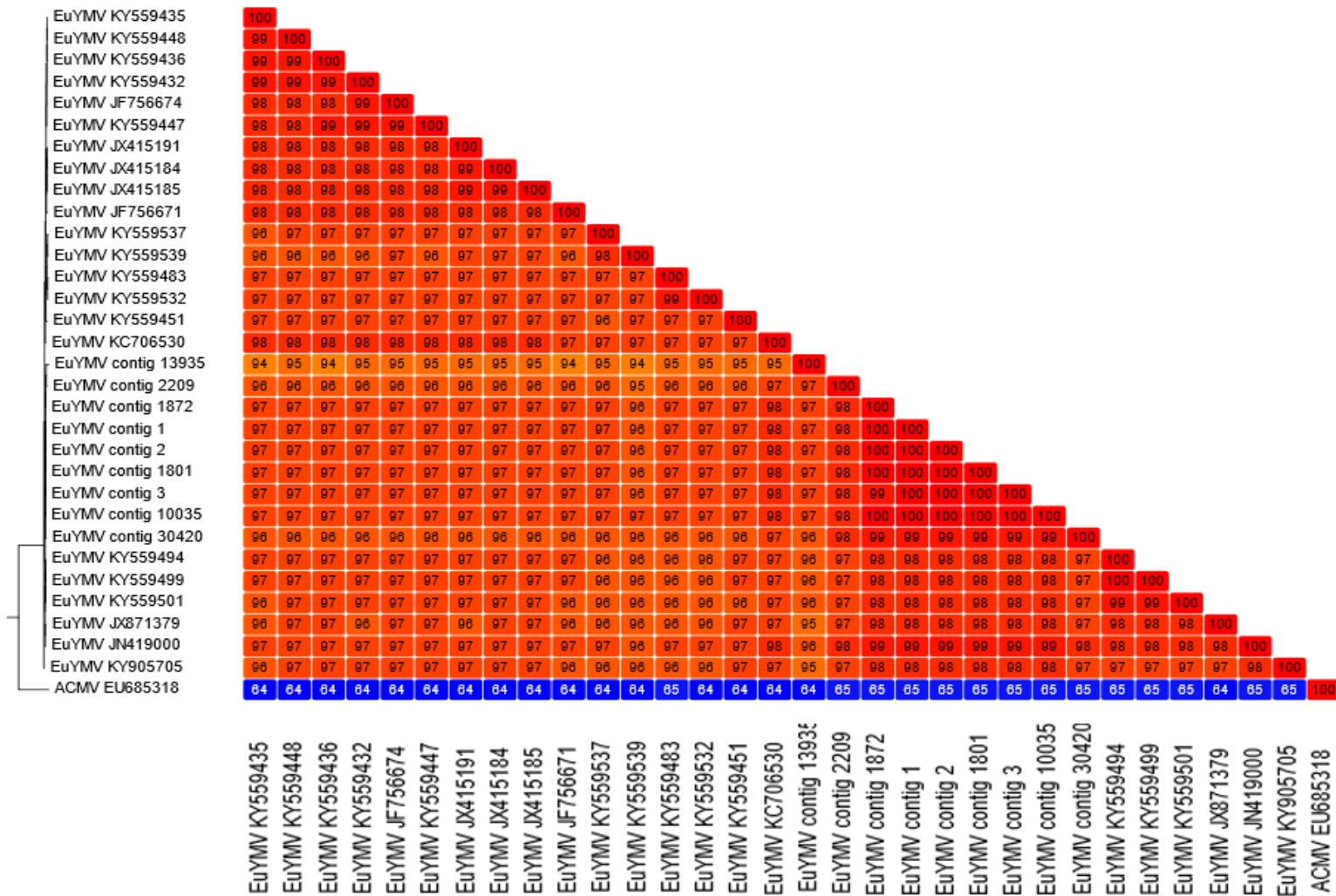


Figura 2. Análise de identidade nucleotídica par a par das sequências do componente DNA-A associadas a Euphorbia yellow mosaic virus (EuYMV), incluindo *contigs* obtidos neste estudo e isolados de referência disponíveis no GenBank, realizada no software *Sequence Demarcation Tool* (SDT). Os valores indicam a porcentagem de identidade nucleotídica entre as sequências. Os *contigs* identificados no pool analisado apresentam elevada identidade entre si (≥ 97 –100%) e agrupam-se com isolados de referência de EuYMV, corroborando sua classificação taxonômica. O African cassava mosaic virus (ACMV) foi incluído como grupo externo, evidenciando a distinção filogenética em relação aos *contigs* analisados.

A presença de vírus detectados por HTS foi confirmada por PCR utilizando primers específicos em amostras individuais selecionadas (**Tabela 7**).

Tabela 7. Validação por PCR dos vírus detectados por HTS em amostras individuais selecionadas.

Vírus	Amostra positiva	Hospedeiras
EuYMV	GO-630, GO-066, BA-114	Leiteiro, Curcubitacea, leiteiro
ToCMV	DF-636, L1-728, O2735	Melão, amendoim, amendoim
ToSRV	GO-635, MG-033	Amendoim bravo, leiteiro
EuYMA	DF-241	Leiteiro
BGMV	GO-630	Leiteiro
MOM-CH	RDF-857	Suculenta

4.3. Primeiro relato de *Begomovirus costai* em *Euphorbia heterophylla*

A amostra GO-630, coletada no município de Luziânia (GO) em 2020, apresentou resultado positivo para *Bean golden mosaic virus* (= *Begomovirus costai*) por PCR utilizando *primers* específicos, sendo posteriormente confirmada por sequenciamento. A presença do componente cognato DNA-B também foi detectada, corroborando a natureza bipartida do genoma viral.

A identidade taxonômica da planta hospedeira foi confirmada por análise de DNA *barcoding* utilizando o marcador *matK*, cujas sequências apresentaram 99% de identidade com sequências de referência de *Euphorbia heterophylla* disponíveis no GenBank.

A análise das sequências do componente DNA-A revelou elevada identidade nucleotídica com isolados de *Bean golden mosaic virus*, e a detecção do DNA-B cognato confirmou a associação entre os dois componentes genômicos. A busca por registros prévios no GenBank e na literatura científica não revelou relatos da ocorrência de *Bean golden mosaic virus* infectando *Euphorbia heterophylla*, indicando que esta espécie vegetal constitui uma nova hospedeira para esse vírus.

4.4. Identificação de novas espécies de begomovírus

A análise de identidade nucleotídica par a par das sequências do componente DNA-A revelou nove *contigs* com valores de identidade inferiores a 91% em relação às sequências disponíveis no *GenBank*, limiar taxonômico utilizado para delimitação de espécies dentro do gênero *Begomovirus* (Brown et al. 2015).

Entre esses *contigs*, apenas um par apresentou identidade nucleotídica superior a 98% entre si (C215 e C229), sendo considerado o mesmo isolado. Assim, apenas um representante desse par foi mantido nas análises subsequentes. O *contig* 317, por sua vez, apresentou identidade nucleotídica entre 62% e 65% em relação aos demais *contigs* analisados, além de tamanho superior ao observado para os demais componentes DNA-A deste estudo. Em razão dessas características, essa sequência foi tratada separadamente.

Neste contexto sete *contigs* permaneceram compatíveis com prováveis novas espécies de begomovírus: C15, C229, C844, C162, C141, C139 e C143. As relações de identidade nucleotídica entre essas sequências estão apresentadas na **Figura 3**.

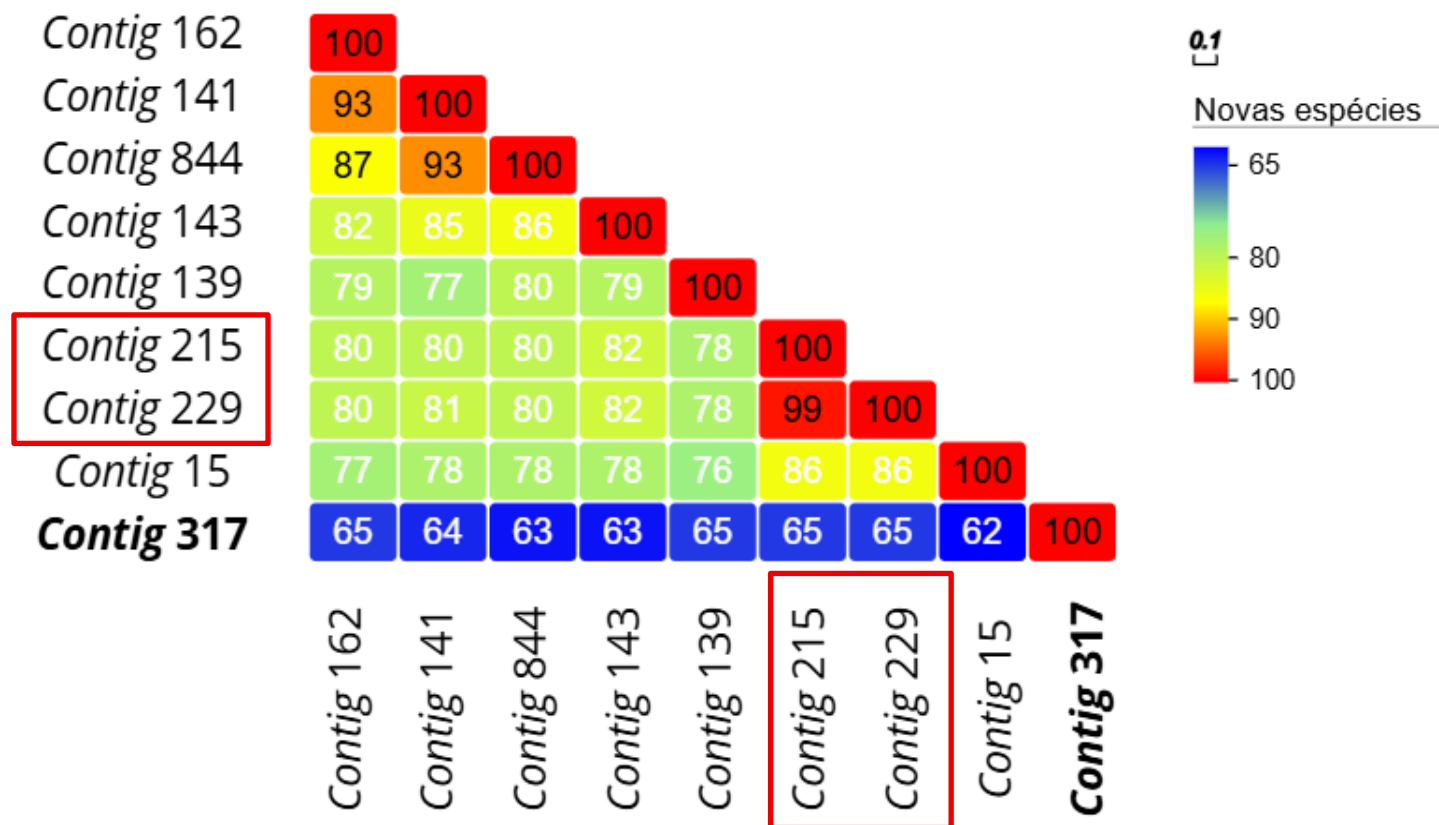


Figura 3: Análise de identidade nucleotídica par a par das sequências do componente DNA-A correspondentes a *contigs* geneticamente divergentes identificados por *High-Throughput Sequencing* (HTS), realizada no software *Sequence Demarcation Tool* (SDT). Os valores indicam a porcentagem de identidade nucleotídica entre os *contigs* analisados. A escala de cores representa o gradiente de identidade, variando de menor (azul) a maior identidade (vermelho). Os *contigs* com identidade inferior a 91% entre si atendem ao critério taxonômico estabelecido para o gênero *Begomovirus*, sendo considerados prováveis novas espécies. O *contig* 317 apresenta baixa identidade nucleotídica em relação aos demais *contigs*, evidenciando elevada divergência genética, porém não foi incluído nas análises subsequentes de validação molecular.

As análises por BLASTn indicaram que esses *contigs* apresentaram maior similaridade com diferentes espécies descritas de *Begomovirus*, porém com valores de identidade nucleotídica inferiores ao limiar de 91%. Os tamanhos das sequências variaram entre 2608 e 2720 pb, e os sete *contigs* apresentaram cobertura genômica entre 91% e 100% em relação às sequências de referência utilizadas na comparação.

A inspeção das regiões codificantes revelou a presença das ORFs típicas de begomovírus do Novo Mundo, incluindo genes correspondentes às proteínas Rep, TrAP, REn, CP e MP distribuídos ao longo do genoma viral. A organização genômica dos contigs representativos é apresentada nas **Figuras 4 e 5**.

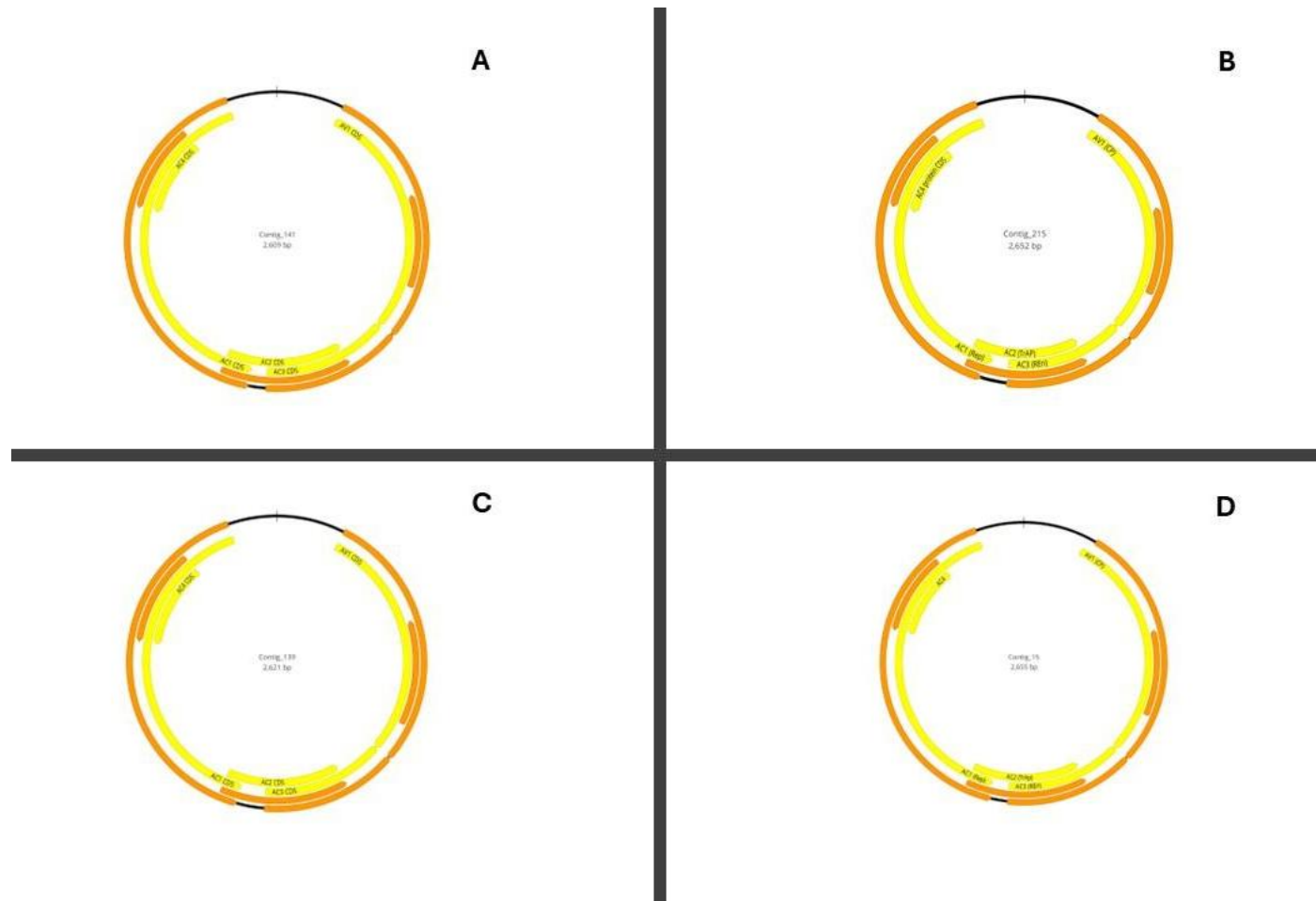


Figura 4. Organização genômica dos componentes DNA-A correspondentes aos contigs representativos de prováveis novas espécies de *Begomovirus* identificadas neste estudo. Os mapas circulares correspondem aos contigs (A) C215, (B) C15, (C) C141 e (D) C139. As ORFs estão indicadas em amarelo e correspondem aos genes do sentido viral (AV1/CP e AV2/MP) e do sentido complementar (AC1/Rep, AC2/TrAP, AC3/REn e AC4), distribuídos ao longo do genoma circular de DNA fita simples. O tamanho total de cada genoma (pb) está indicado no centro de cada mapa. As figuras foram geradas no software *Geneious Prime*.

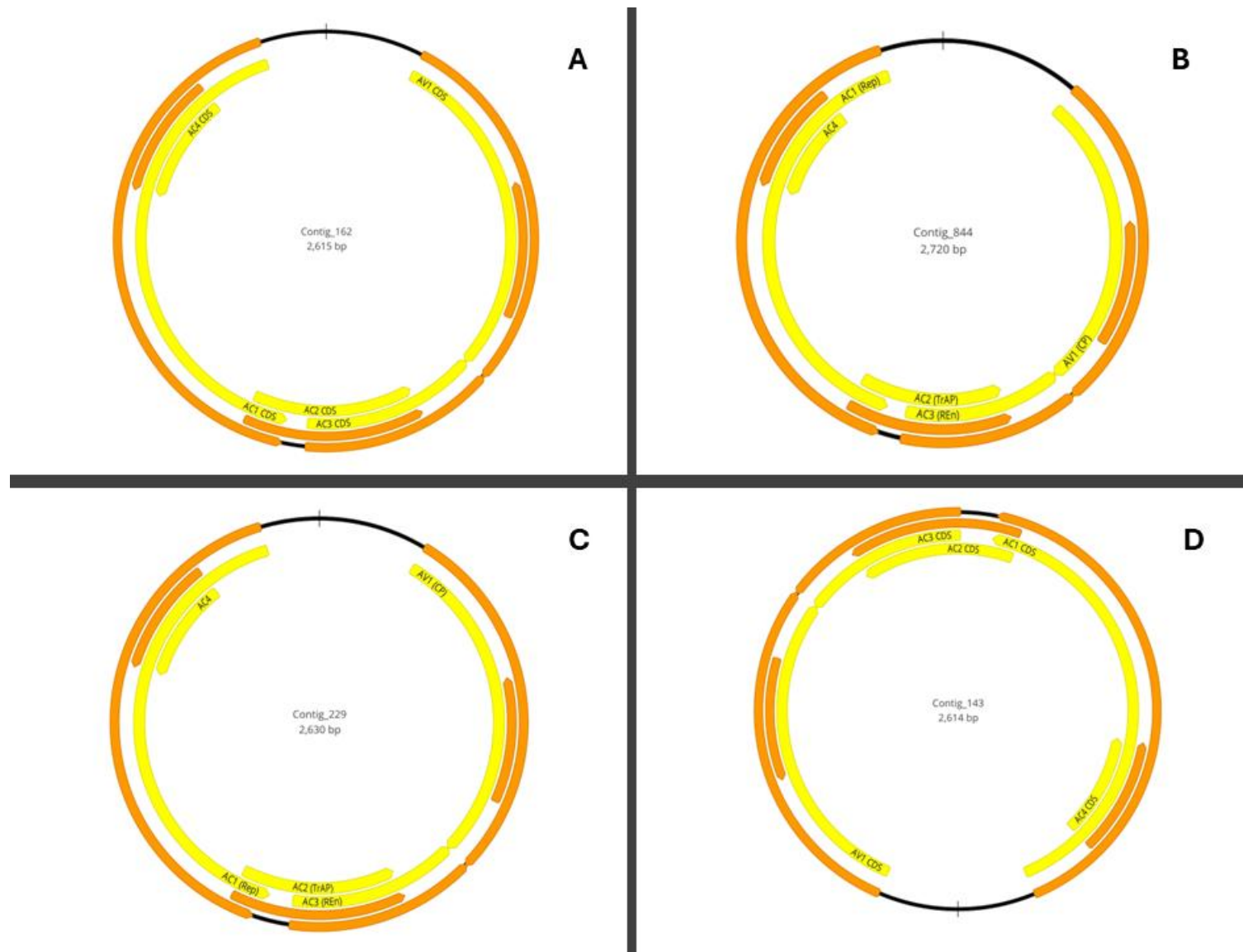


Figura 5. Organização genômica dos componentes DNA-A correspondentes aos contigs representativos de prováveis novas espécies de *Begomovirus* identificadas neste estudo. Os mapas circulares correspondem aos contigs (A) C162, (B) C844, (C) C229 e (D) C143. As ORFs estão indicadas em amarelo e correspondem aos genes do sentido viral (AV1/CP e AV2/MP) e do sentido complementar (AC1/Rep, AC2/TrAP, AC3/REn e AC4), distribuídos ao longo do genoma circular de DNA fita simples. O tamanho total de cada genoma (pb) está indicado no centro de cada mapa. As figuras foram geradas no software *Geneious Prime*.

Com base nas sequências genômicas obtidas por HTS, foram desenhados *primers* específicos para detecção molecular dos *contigs* candidatos. Entre eles, o conjunto de *primers* correspondente ao *contig* 143 apresentou amplificação no pool analisado e na triagem por PCR de linha e coluna. Nessa triagem, duas amostras foram inicialmente positivas: GO-633 (*Euphorbia heterophylla*), coletada em Itaberaí (GO) em 2020, e RDF-853 (roseira, coleção do LVV). Na PCR individual de confirmação, apenas a amostra GO-633 permaneceu positiva.

A análise por BLASTn indicou que o *contig* 143, com 2614 pb e cobertura de 37.548 *reads*, apresentou 90,45% de identidade nucleotídica com o DNA-A de *Tomato severe rugose virus* (acesso MT214084.1). A identidade da hospedeira foi confirmada por PCR utilizando o marcador ITS, confirmando a associação entre o *contig* detectado e *Euphorbia heterophylla*.

5. Discussão

5.1. Diversidade viral em plantas não convencionais e medicinais

A análise metagenômica do pool P422 revelou a presença de diferentes grupos de vírus de DNA e agentes subvirais, incluindo begomovírus, alphasatélites, gemycircularvírus e um *contig* com alta identidade com *Bougainvillea chlorotic vein banding virus*. Esse resultado demonstra que o conjunto de amostras analisado abriga uma comunidade viral que vai além do gênero *Begomovirus*.

Entre os *contigs* não relacionados ao gênero, três apresentaram identidade com *Euphorbia yellow mosaic alphasatellite*, dois mostraram identidade com gemycircularvírus e um *contig* apresentou 99,52% de identidade com *Bougainvillea chlorotic vein banding virus*, o que indica a coexistência de diferentes tipos de genomas virais no *pool*.

No caso dos *contigs* relacionados a gemycircularvírus, os valores de identidade observados foram distintos entre si, com um *contig* apresentando 95,53% de identidade com *Momordica charantia associated gemycircularvirus* e outro 82,75% com *Red panda feces-associated gemycircularvirus*. Esses resultados são compatíveis com a diversidade descrita para membros da família *Genomoviridae*, frequentemente detectados por abordagens metagenômicas em diferentes amostras biológicas e ambientais.

Os três *contigs* associados a alphasatélites apresentaram tamanhos compatíveis com genomas quase completos e identidade superior a 90% com *Euphorbia yellow mosaic alphasatellite*. A recuperação dessas sequências no mesmo conjunto de amostras em que foram detectados begomovírus reforça a associação entre esses agentes subvirais e complexos begomovirais já descritos em espécies do gênero *Euphorbia*.

Em sistemas agrícolas tropicais, a presença simultânea de culturas comerciais, plantas espontâneas e espécies de uso alternativo amplia as oportunidades de manutenção e circulação de vírus transmitidos por vetores, especialmente begomovírus.

Entre as hospedeiras analisadas, *Euphorbia heterophylla* destacou-se por sua associação com diferentes vírus e agentes subvirais detectados ao longo do estudo. Esse resultado está de acordo com observações anteriores que apontam espécies do gênero *Euphorbia* como hospedeiras frequentes de begomovírus em ambientes agrícolas e periurbanos.

5.2. Agentes subvirais associados a begomovírus: diversidade, origem e implicações biológicas

Além dos genomas completos de begomovírus, as análises baseadas em sequenciamento de alto desempenho (HTS) permitiram identificar três *contigs* com identidade nucleotídica entre 90,17% e 94,61% em relação a *Euphorbia yellow mosaic alphasatellite*. Esses *contigs* apresentaram tamanhos entre 1319 e 1334 pb, compatíveis com o tamanho esperado para alphasatélites, e cobertura genômica entre 97% e 98%.

A detecção dessas sequências em associação com *contigs* de begomovírus é consistente com a literatura, que descreve alphasatélites como elementos subvirais frequentemente encontrados em complexos begomovirais (Bridson et al. 2004; Bridson e Stanley 2006). Esses agentes possuem genomas circulares de DNA fita simples e codificam uma proteína Rep funcional, sendo capazes de replicação autônoma em células vegetais, embora dependam do vírus auxiliar para encapsidação, movimento sistêmico e transmissão pelo vetor (Bridson et al. 2004).

Neste estudo, os *contigs* relacionados a alphasatélites apresentaram maior similaridade com *Euphorbia yellow mosaic alphasatellite*, previamente descrito em associação com begomovírus

infectando *Euphorbia heterophylla* (Oliveira et al. 2024). Essa associação é compatível com a presença de contigs relacionados a *Euphorbia yellow mosaic virus* identificados no pool analisado.

Também foram detectados dois contigs com similaridade a gemycircularvírus. Esses vírus pertencem à família *Genomoviridae*, um grupo de vírus ssDNA amplamente distribuído em diferentes ambientes e frequentemente identificado por abordagens metagenômicas (Varsani e Krupovic 2017; Rosario et al. 2017). A diversidade taxonômica dessa família foi posteriormente organizada com base em identidade nucleotídica e características genômicas, evidenciando a presença de múltiplos gêneros dentro do grupo (Varsani e Krupovic 2018).

Em conjunto, a detecção simultânea de begomovírus, alphasatélites e gemycircularvírus evidencia que as amostras analisadas abrigam uma diversidade de vírus de DNA e elementos subvirais associados. Resultados semelhantes têm sido relatados em estudos baseados em HTS, nos quais abordagens metagenômicas revelam comunidades virais complexas associadas a plantas e outros organismos (Varsani e Krupovic 2017; Rosario et al. 2017).

5.3. Novo relato em hospedeiras

A detecção de *Begomovirus costai* em *Euphorbia heterophylla* amplia o espectro de hospedeiras conhecidas para esse vírus e representa, até onde se sabe, o primeiro registro dessa associação. A presença do vírus foi confirmada por PCR utilizando *primers* específicos e pela detecção do componente cognato DNA-B, corroborando a identificação obtida a partir das sequências recuperadas por sequenciamento de alto desempenho.

Espécies do gênero *Euphorbia*, particularmente *Euphorbia heterophylla*, têm sido relatadas como hospedeiras naturais de begomovírus em sistemas agrícolas e periurbanos (Fernandes et al. 2011; Mar et al. 2017). Essa espécie é amplamente distribuída em áreas agrícolas do Brasil e ocorre como planta espontânea em cultivos de diferentes espécies de interesse econômico, o que favorece sua interação com vetores e patógenos virais. Apesar de ser considerada daninha por muitos autores, trabalhos como de Ahmad e Khan (2021), entretanto consideram *E. heterophylla* como planta medicinal – utilização adotada neste estudo.

Duarte et al. (2002) e Ferro (2016) descreveram em seus estudos que plantas medicinais podem desempenhar papel relevante na manutenção de bogomovírus em agroecossistemas, ao funcionar como hospedeiras alternativas e contribuir para a persistência viral entre ciclos de cultivo. Nesse contexto, a ocorrência de *Begomovirus costai* em *E. heterophylla* sugere que essa espécie pode participar da dinâmica epidemiológica desse vírus em ambientes agrícolas.

5.4. Evidências de variante geneticamente divergente relacionada a *Tomato severe rugose virus* em *Euphorbia heterophylla*

Entre os *contigs* compatíveis com prováveis novas espécies de begomovírus identificados neste estudo, o *contig* 143 avançou para detecção individual consistente por PCR. A análise por BLASTn indicou que essa sequência apresentou 90,45% de identidade nucleotídica com o componente DNA-A de *Tomato severe rugose virus* (acesso MT214084.1), valor inferior ao limiar de 91% adotado para delimitação de espécies no gênero *Begomovirus* (Brown et al. 2015). O *contig* apresentou comprimento de 2614 pb e cobertura de 37.548 *reads* no conjunto de dados obtido por sequenciamento.

A triagem por PCR de linha e coluna utilizando *primers* específicos resultou inicialmente em duas amostras positivas: GO-633 (*Euphorbia heterophylla*), coletada em Itaberaí (GO) em 2020, e RDF-853 (roseira, coleção do LVV). No entanto, na PCR individual de confirmação apenas a amostra GO-633 permaneceu positiva. A identidade taxonômica da hospedeira foi confirmada por PCR utilizando o marcador ITS, corroborando a associação entre a sequência viral detectada e *Euphorbia heterophylla*.

A presença de uma sequência relacionada a *Tomato severe rugose virus* em *E. heterophylla* reforça o papel dessa espécie como hospedeira alternativa de begomovírus em ambientes agrícolas e periurbanos. Espécies do gênero *Euphorbia* têm sido frequentemente associadas à manutenção de populações de begomovírus transmitidos por *Bemisia tabaci*, funcionando como hospedeiras naturais fora de sistemas de cultivo (Fernandes et al. 2011; Mar et al. 2017).

No contexto deste estudo, que incluiu amostras provenientes de plantas alimentícias não convencionais (PANC), plantas medicinais e espécies espontâneas associadas a sistemas agrícolas, a detecção dessa sequência viral evidencia que esses grupos de plantas podem abrigar variantes geneticamente divergentes de begomovírus. Plantas pertencentes a esses grupos frequentemente ocorrem em bordas de cultivo, hortas domésticas, quintais produtivos e áreas periurbanas, ambientes nos quais podem interagir simultaneamente com culturas agrícolas e com o vetor *Bemisia tabaci*.

Assim, a identificação de uma sequência relacionada a *Tomato severe rugose virus* em *Euphorbia heterophylla* indica que plantas não convencionais e espontâneas presentes nesses ambientes podem contribuir para a manutenção e circulação de variantes de begomovírus em agroecossistemas. Esse resultado reforça a importância de incluir PANC e plantas medicinais em levantamentos de viroma vegetal, uma vez que esses hospedeiros permanecem pouco explorados em estudos de diversidade viral.

6. Conclusão

O presente estudo demonstrou que plantas alimentícias não convencionais (PANC), plantas medicinais e espécies espontâneas associadas a ambientes agrícolas podem abrigar uma diversidade significativa de vírus de DNA fita simples, com destaque para membros do gênero *Begomovirus*. A aplicação do sequenciamento de alto desempenho (HTS) em um pool de 142 amostras foliares permitiu a identificação de cinco espécies previamente descritas de begomovírus e sete sequências do componente DNA-A compatíveis com prováveis novas espécies virais.

Entre as sequências identificadas, o *contig* 143 apresentou identidade nucleotídica inferior ao limiar taxonômico estabelecido para espécies de begomovírus e foi detectado individualmente em *Euphorbia heterophylla*, indicando a presença de uma variante geneticamente divergente relacionada a *Tomato severe rugose virus*. Esse resultado reforça a importância de hospedeiras espontâneas na manutenção da diversidade genética de begomovírus em ambientes agrícolas.

Além disso, este estudo registrou a ocorrência de *Bean golden mosaic virus* em *Euphorbia heterophylla*, ampliando o espectro de hospedeiras conhecidas para esse vírus. A ampla distribuição dessa espécie vegetal em áreas agrícolas e periurbanas sugere que ela pode atuar como hospedeira alternativa relevante na dinâmica epidemiológica de begomoviroses.

A identificação adicional de alphasatélites, gemycircularvírus e um membro da família *Caulimoviridae* indica que o conjunto de plantas analisadas abriga uma comunidade viral mais ampla do que previamente reconhecido. Em conjunto, esses resultados ampliam o conhecimento sobre a diversidade de vírus ssDNA associados a plantas não convencionais e espontâneas no Brasil.

Por fim, este trabalho evidencia o potencial do sequenciamento de alto desempenho como ferramenta para investigação de viromas vegetais e destaca a importância de incluir PANC, plantas medicinais e espécies espontâneas em estudos de diversidade viral e monitoramento fitossanitário.

7. Referências bibliográficas

- Algarni AA (2022) Molecular identification and phylogenetic analysis of *Aloe shadensis* from Saudi Arabia based on *matK*, *rbcL* and ITS DNA barcode sequences. *Saudi Journal of Biological Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.053>
- Ahmad S, Khan AA (2021) Begomoviruses reported on medicinal plants – an overview. *Plant Archives* 21(1):1080–1083. <https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.no1.142>
- Astaraki S, Atighi MR, Shams-bakhsh M (2022) High-throughput sequencing revealed the symptomatic common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) virome in Iran. *Tropical Plant Pathology*
- Barreto SS, Hallwass M, Aquino OM, Inoue-Nagata AK (2013) A study of weeds as potential inoculum sources for a tomato-infecting begomovirus in central Brazil. *Phytopathology* 103:436-444
- Biswas D, Mandal A (2025). Whitefly transmitted begomovirus infection in plant and host response: a review. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. <https://doi.org/10.1007/s12298-025-01579-1>
- Corvalán LCJ, Melo-Ximenes AA, Carvalho LR, Silva-Neto CME, Diniz-Filho JAF, Telles MPC, Nunes R (2025) Is there a key primer for amplification of core land plant DNA barcode regions (*rbcL* and *matK*)? *Ecology and Evolution* 15:e70961. <https://doi.org/10.1002/ece3.70961>
- Duarte LM. et al. (2002). Genetic diversity of begomovirus infecting tomato and associated weeds in Southeastern Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 27:200–206. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582002000400006>
- Dye AE. et al. (2023). Cassava begomovirus species diversity changes during plant vegetative cycles. *Frontiers in Microbiology* 14:1163566. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1163566>

- Fernandes, F. R., Albuquerque, L. C., Cruz, A. R. R., Rocha, W. B., Pereira, T. G., Dias, N. M., Nagata, T., Faria, J. C., Oliveira, C. L., Naito, F. Y. B., Zerbini, F. M., Aragão, F. J. L., & Inoue-Nagata, A. K. (2011). Molecular and biological characterization of a new Brazilian begomovirus, *Euphorbia yellow mosaic virus*, infecting *Euphorbia heterophylla*. *Archives of Virology*, 156(8), 1429–1432. <https://doi.org/10.1007/s00705-011-1070-4>
- Ferro CG (2016). Species diversity and genetic variability of begomoviruses and associated DNA satellites infecting non-cultivated plants in Brazil and Spain. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa.
- Fiallo-Olivé E, Martínez-Zubiaur Y, Moriones E, Navas-Castillo J (2012) A novel class of DNA satellites associated with New World begomoviruses. *Virology* 426:1–6. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2012.01.024>
- Fox A. et al. (2025). Implications of high throughput sequencing of plant viruses in biosecurity – a decade of progress? *Peer Community Journal* 5:e71. <https://doi.org/10.24072/pcjournal.572>
- Frontiers editorial (2025). Interactive dynamics of geminiviruses with host plants. *Frontiers in Plant Science* 2025:1616024. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1616024>
- GUYOT V. et al. (2024). A new genus of alphasatellites associated with banana bunchy top virus in Southeast Asia. *Virus Evolution* 10:vead076. <https://doi.org/10.1093/ve/vead076>
- Lima, E. S. S. (2023). *High throughput sequencing (HTS)-based identification and characterization of Geminiviridae family members in weeds associated with the tomato crop in Brazil* [Master's thesis, Universidade de Brasília]. Repositório Institucional da UnB. <https://repositorio.unb.br/handle/10482/47105>
- Luo, C., Luo, Y., Luo, H., Han, K., Lei, L., Jia, M.-A., & Xu, T. (2025). *High-throughput sequencing identification and multiplex RT-PCR detection of pepper viruses*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 136, 102555.

- Mar, T. B., Souza, J., Lau, D., Buffon, G., Zandona, C., & Zerbini, F. M. (2017). Genetic variability and population structure of the New World begomovirus Euphorbia yellow mosaic virus. *Archives of Virology*, 162(11), 3537–3543. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3502-3>
- Maina S. et al. (2024). High-throughput sequencing for plant virology diagnostics and its potential in plant health certification. *Frontiers in Horticulture* 3:1388028. <https://doi.org/10.3389/fhort.2024.1388028>
- Mosquera-Yuqui F, Ramos-Lopez D, Hu X, Yang Y, Mendoza JL, Asare E, Habiger J, Hurtado-Gonzales OP, Espindola AS (2025) A comparative template-switching cDNA approach for HTS-based multiplex detection of three viruses and one viroid commonly found in apple trees. *Scientific Reports* 15:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-86065-0>
- Nery FMB, Batista JG, Melo FFS, Ribeiro SG, Boiteux LS, Melo FL, Silva JGI, Reis LNA, Pereira-Carvalho RC (2023) Novel plant-associated genomoviruses from the Brazilian Cerrado biome. *Archives of Virology* 168:286. <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05892-6>
- Oliveira IA. et al. (2024). *Geminiviridae* and *Alphasatellitidae* diversity revealed by metagenomic analysis of susceptible and tolerant tomato cultivars across distinct Brazilian biomes. *Viruses* 16:899. <https://doi.org/10.3390/v16060899>
- Reis LNA. et al. (2022). Complete genomic sequence of an isolate of plant-associated genomovirus 12 (genus *Gemycircularvirus*) from open-field tomatoes in Brazil. *Journal of Plant Pathology* 104:1129–1134. <https://doi.org/10.1007/s42161-022-01151-w>
- Reis LNA. et al. (2025). Discovery of a novel alphasatellite of the genus *Clecrusatellite* associated with tomato-infecting begomoviruses in Brazil. *Archives of Virology* 170:108. <https://doi.org/10.1007/s00705-025-06293-7>
- Singh A. et al. (2025). Conventional and cutting-edge advances in plant virus detection:

emerging trends and techniques. 3 *Biotech* 15:100. <https://doi.org/10.1007/s13205-025-04253-1>

Universidade de São Paulo (2023). Evidence of infection of cassava plants with the begomovirus passionfruit severe leaf distortion virus in Brazil. *Scientia Agricola* 81:1–4. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2023-0215>

Villamor DEV. et al. (2019). High Throughput Sequencing for Plant Virus Detection and Discovery. *Phytopathology* 109:716–725. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-18-0257-RVW>