

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Tese

**Identificação e caracterização molecular de vírus com genoma de DNA em
batata-doce e de *Alternaria alternata* em feijão guandu**

Sílvia Letícia Santos Da Paz Maich

Pelotas, 2019

SÍLVIA LETÍCIA SANTOS DA PAZ MAICH

Identificação e caracterização molecular de vírus com genoma de DNA em batata-doce e de *Alternaria alternata* em feijão guandu

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Fitossanidade (área de conhecimento: Fitopatologia)

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Danielle Ribeiro de Barros

Co-orientador: Dr. Fábio Nascimento da Silva

Pelotas, 2019

Banca examinadora:

Dra. Danielle Ribeiro de Barros (Orientadora)
Universidade Federal de Pelotas

Dra. Cândida Renata Jacobsen de Farias
Universidade Federal de Pelotas

Dr. César Bauer Gomes
Embrapa Clima temperado

Dr. Fábio Nascimento da Silva
Universidade do Estado de Santa Catarina

Dr. Ismail Teodoro de Souza Júnior
Universidade Federal de Pelotas

Aos meus pais: Paulo Antônio Costa da Paz e Maria Elizabeth Santos da Paz;

A meu irmão Paulo Ricardo Santos da Paz (*in memoriam*);

Ao meu esposo Davi Martins Maich;

Ao meu filho Mizael da Paz Maich

Dedico e Ofereço

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a DEUS por ter me abençoado até aqui e concedido a graça de mais uma conquista;

À minha família pelo amor, carinho e apoio durante todo este tempo;

Aos meus pais, pelo apoio e palavras de incentivo em todos os momentos;

Ao meu esposo pelo companheirismo e amizade e por ter me acompanhado em todos os momentos;

Ao meu filho, pela compreensão de muitas das vezes eu não poder estar presente, mas também pelos momentos de descontração e alegrias;

À Prof^a. Dra. Danielle, pela orientação em todos estes anos, ensinamentos e confiança concedida ao longo deste curso de pós-graduação;

Ao Dr. Ismail Souza, que por incansáveis vezes me ajudou, me orientou, sendo amigo em todos os momentos (sem palavras Best);

Ao Dr. Cristiano Bellé, que me ajudou muitas das vezes durante este percurso, sem nunca se negar, é uma das pessoas que admiro muito.

A Dra. Priscila Meneses pelo apoio, contribuição para os trabalhos e amizade;

As minhas colegas e amigas do Laboratório de Virologia Vegetal, Carolina Neves e Monique Nascimento, que me acompanharam durante todos estes anos, me ajudando nos trabalhos, dando conselhos, mas também em muitos momentos de descontração. Foi muito gratificante ter conhecido vocês.

A minha amiga Deise Cagliare que por muitos momentos passamos por coisas semelhantes em nossos trabalhos, mas não desistimos, uma deu força a outra.

As meninas do Laboratório de Melhoramento, Vivian Viana, Viviane Kopp e Cíntia Garcia por estarem sempre dispostas a me ajudar. Sou grata a Deus por colocar pessoas tão maravilhosas em meu caminho.

A universidade Federal de Pelotas, ao Programa de Pós Graduação PPGFS, pela oportunidade de realização do curso de pós-graduação; e ao CNPQ pelo fornecimento da bolsa de estudos.

Aos professores do PPGFS pelos ensinamentos repassados, e aos demais colegas que conviveram comigo durante este período;

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram com a realização desse trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

Resumo

MAICH, Sílvia Letícia Santos da Paz. **Identificação e caracterização molecular de vírus com genoma de DNA em batata-doce e de *Alternaria alternata* em feijão guandu**. 2019. 91f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

A batata-doce é uma das culturas alimentares mais importantes do mundo, com grande contribuição calórica para a dieta humana. Apesar de ser considerada uma planta rústica, é hospedeira de diversos patógenos, principalmente os vírus, que são capazes de causar perdas significativas e degenerescência na cultura. A maioria dos vírus descritos que infectam a batata-doce apresentam genoma de RNA, no entanto, recentemente, os vírus contendo genoma de DNA vêm se destacando. Além disso, neste estudo foi realizada a diagnose de uma doença na cultura do feijão guandu, que é uma fonte rica de nutrientes, principalmente em dieta vegetariana. Deste modo, os objetivos desta tese foram: i) identificar e caracterizar molecularmente as espécies virais contendo genoma composto por DNA infectando a batata-doce nas principais regiões produtoras de Pelotas - Rio Grande do Sul; ii) identificar o agente causal de uma doença no feijão guandu. Para atingir o objetivo estabelecido para a cultura da batata-doce foi realizada a extração de DNA total, amplificação de DNA pela técnica de PCR convencional e clonagem genômica. Para o feijão guandu, o patógeno isolado de folhas apresentando sintomas típicos de manchas necróticas com formato circular e anéis concêntricos foram submetidas à caracterização morfológica, molecular e ao teste de patogenicidade para identificação do agente causal. Das 303 amostras coletadas de batata-doce, foi possível identificar e caracterizar o genoma completo do vírus *Sweet potato symptomless mastrevirus 1* (*Mastrevirus*, *Geminiviridae*), e a detecção de vírus pertencentes ao gênero (*Badnavirus*, *Caulimoviridae*), além da obtenção parcial da sequência de um isolado deste gênero em uma amostra. No feijão guandu foi possível confirmar que o agente causal da doença foi *Alternaria* sp., sendo confirmada a partir das características morfológicas observadas na massa conidial, conídios marrom escuros, septados transversalmente e longitudinalmente, oblavado, ovóide ou elipsóide, por vezes, apresentando um bico na extremidade. A análise das sequências das regiões ITS, GAPDH e EF do fungo isolado apresentou 99,16% - 99,64% de identidade com as sequências correspondentes a *Alternaria alternata*.

Palavras-chave: Mastrevírus, Badnavírus, Clonagem genômica, *Cajanus cajan*, fungos.

Abstract

MAICH, Sílvia Leticia Santos da Paz. **Identification and molecular characterization of DNA genome viruses in sweet potato and *Alternaria alternata* in pigeonpea.** 2019. 91f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

Sweet potato is one of the most important food crops in the world, with a major caloric contribution to the human diet. Although considered a rustic plant, it is host to several pathogens, especially viruses, which are capable of causing significant losses and degeneration in the crop. Most of the described viruses that infect sweet potatoes have an RNA genome, but recently, DNA-containing viruses have been prominent. Another study carried out was the identification of a disease in pigeonpea crop, which is a rich source of nutrients, especially in a vegetarian diet. Thus, the objectives of this thesis were: i) to identify and molecularly characterize species of viral with genome of DNA infecting sweet potato in the main producing regions of Pelotas district - Rio Grande do Sul; ii) to identify the causal agent of a disease in pigeonpea. To achieve the established goal with sweet potato cultivation were performed, total DNA extraction, DNA amplification by conventional PCR technique and genomic cloning. For pigeonpea, leaves with symptoms were submitted to morphological, molecular characterization beyond pathogenicity tests to identify the causal agent. From the 303 samples collected from sweet potato, it was possible to identify and characterize the complete genome of *Sweet potato symptomless mastrevirus 1* (SPSMV-1), (*Mastrevirus*, *Geminiviridae*) virus, and the detection of virus belonging to the genus (*Badnavirus*, *Caulimoviridae*) in all samples, besides partially obtaining the sequence of an isolate of this genus. In pigeonpea it was possible to confirm that the causal agent of the disease was *Alternaria* sp., being confirmed from the morphological characteristics observed in the conidial mass, dark brown conidia, septate, oblong, ovoid or ellipsoid, sometimes with a beak at the end. Sequence analysis of the ITS, GAPDH and EF regions of the isolated fungus showed 99,16% - 99,64% identity with the sequences corresponding to *Alternaria alternata*. The results of this study reinforce the need for constant monitoring for the presence of viruses in the field, as well as the adoption of sanitary quality propagating material and vector control.

Keywords: Mastrevirus, Badnavirus, Genomic cloning, *Cajanus cajan*.

Lista de Figuras

- Figura 1** Estrutura do genoma de *Sweet potato symptomless mastrevirus1* (SPSMV-1). As setas indicam as ORFs, V no sentido viral e C no sentido complementar; ORF V1 codifica a proteína do capsídeo (CP); ORF V2 codifica a proteína de movimento (MP); ORF C1:C2 codifica a proteína associada à replicação (Rep); ORF C1 codifica a proteína RepA, responsável pela regulação da progressão ciclo celular , favorecendo a replicação viral; Regiões intergênicas (LIR e SIR).....30
- Figura 2.** Etapas do ciclo de replicação de Mastrevírus. Etapa I: conversão do ssDNA circular em intermediários dsDNA (Forma Replicativa). Etapa II: replicação por círculo rolante (RCA). Etapa III: produção de novos genomas de ssDNA circulares para encapsidação.....31
- Figura 3** Ciclo de replicação de pararetrovírus em plantas.34
- Figura 4** Estrutura do genoma de *Sweet potato pakakuy virus* (SPPV). As setas indicam as ORFs; o asterisco indica a região tRNA-met; a linha vertical preta indica “stem-loop”; a linha pontilhada indica a localização de uma sequência líder prevista.....37
- Figura 5** Phylogenetic tree of the complete genomic sequences of the Brazilian SPSV-1 (MH375686) and other 32 mastrevirus. The begomovirus (TLCV, *Tomato leaf curl virus*) was used as outgroup. Numbers at the nodes indicate Bayesian posterior probabilities.....53

Figura 6 Representação esquemática das sequências de Badnavirus obtidas no genoma. Em preto estão as sequências obtidas.....62

Figura 7 (A) Symptoms of diseased leaves caused by *Alternaria alternate* in *Pigeonpea*; (B) symptom in the leaves obtained in the postulate; (C) Color of the colony on the reverse side; (D, E) Conidia.....73

Lista de Tabelas

Tabela 1	Espécies virais descritas na Batata-doce.....	21
Tabela 2	Lista de primers utilizados no estudo	59
Tabela 3	Fragmentos obtidos dos isolados SPV-A e SPV-B	62

Sumário

1. Introdução	12
2. Revisão de literatura	16
2.1. Cultura da batata-doce	16
2.2. Vírus com genoma de DNA que infectam a cultura da batata- doce	20
2.3. Gênero <i>Mastrevírus</i>	27
2.4. Gênero <i>Badnavírus</i>	31
2.5. Cultura do Feijão guandu	38
2.6. <i>Alternaria alternata</i> ((Fr.) Keissler)	40
3. Artigos	44
3.1. First Report on <i>Sweet Potato Symptomless Virus 1</i> in <i>Ipomoea batatas</i> in state of Rio Grande do Sul, Brazil	45
3.2. Genomic characterization of a Brazilian isolate of <i>Sweet potato symptomless virus 1</i>	49
3.3. Detecção e caracterização molecular parcial de um isolado de Badnavirus no Brasil	55
3.4. First Report of <i>Alternaria alternata</i> in Pigeonpea in Brazil	71
4. Conclusões	74
5. Considerações finais	74
Referências	75
Anexo 1	91

1. Introdução Geral

O elevado aumento populacional expõe uma série de problemas no mundo, dentre eles a produção de alimentos. A agricultura é responsável por um dos principais pilares da segurança alimentar, que é a disponibilidade de alimentos, sendo que, maior parte da produção vem da agricultura familiar, fornecendo mais de 70% dos alimentos do mundo em 75% da área agricultável (CHARLTON, 2016; BERNE, 2017). Embora avanços na área da engenharia genética e novas práticas agrícolas proporcionem uma produção de alimentos que acompanhe o crescimento populacional, elevados custos ao meio ambiente é gerado como consequência, levando a uma intensa degradação ambiental e comprometendo em longo prazo a produtividade agrícola (RAMANKUTTY *et al.*, 2018). Além da degradação ambiental, as mudanças climáticas também têm afetado negativamente a produtividade agrícola. Muitas regiões sofrem com o aumento dos extremos climáticos, principalmente o aumento da temperatura e mudanças na precipitação, resultando no aumento da mortalidade de plantas, na menor produtividade das culturas e também na menor capacidade de trabalho. Sendo que, somente a seca pode causar mais de 80% de danos e prejuízos na agricultura (FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO, 2018).

Dentre outros fatores de grande importância, patógenos e pragas contribuem expressivamente para a redução do rendimento e da qualidade da produção agrícola (FAO, 2017). Existe um grande número de patógenos que atacam as plantas e mesmo utilizando-se as melhores medidas de manejo, ainda são responsáveis por até 16% das perdas na produção agrícola, com um prejuízo estimado de 38 bilhões ao ano (STRANGE, 2005; CHAKRABORTY; NEWTON, 2011; LEONBERGER *et al.*, 2016). Fungos, oomycetes, bactérias, vírus, nematoides e fitoplasmas são os principais

causadores de doenças em plantas. Dentre eles, os vírus destacam-se por serem agentes fitopatogênicos com tamanho extremamente reduzidos, podendo ser vistos somente com o auxílio de microscópio eletrônico. São parasitas obrigatórios, pois dependem da maquinaria de células vivas do hospedeiro para se multiplicarem, e na maioria das vezes, são dependentes de vetores para aquisição, transmissão e sobrevivência (AMORIM; REZENDE; BERGAMIN FILHO, 2011).

Os vírus podem apresentar genoma de RNA ou DNA. A maioria dos vírus que infectam plantas apresenta genoma composto por RNA. No entanto, com o surgimento de novas tecnologias, como *Next Generation Sequencing* – (NGS) têm proporcionado um aumento na caracterização de patógenos nos últimos anos (BARZON *et al.*, 2011). E com isso, tem se observado um aumento considerável nos últimos anos de espécies com genoma de DNA, destacando-se os geminivirus (HULL, 2002; ROJAS *et al.*, 2005 ; SEAL *et al.*, 2006; ROOSSINCK; MARTIN; ROUMAGNAC, 2015).

Culturas como arroz, milho, mandioca e batata-doce são a base alimentar em diversos países, principalmente países em desenvolvimento. A batata-doce e o feijão guandu são considerados alimentos de subsistência, principalmente em algumas regiões da África (JONES; FREEMAN; LE MONACO 2002; MOTSA; MODI; MABHAUDHI, 2015). Na região Nordeste do Brasil, a batata-doce é considerada como uma das principais hortaliças consumidas, e o feijão guandu é consumido preferencialmente na forma de grãos verdes (SANTOS *et al.*, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 2008).

A batata-doce é uma das culturas alimentares mais cultivadas no mundo. É uma raiz tuberosa que apresenta alto teor de proteínas, carboidratos, minerais, ferro, fibras alimentares, vitaminas A, E, C e do complexo B, principalmente as variedades que apresentam a polpa amarela (MOHANRAJ; SIVASANKAR, 2014). As folhas também contêm elevados níveis de proteína, fibra e minerais, principalmente K, P, Ca, Mg, Fe, Mn e Cu, sendo indicado para consumo também como vegetais folhosos principalmente na tentativa de reduzir a desnutrição (SUN *et al.*, 2014).

Apesar de ser considerada uma planta rústica, a batata-doce é acometida por diversas doenças, e as viroses não são exceção. Até o

momento, já foram relatadas mais de 30 espécies infectando a cultura, distribuídas em gêneros pertencentes a nove famílias: *Bromoviridae*, *Bunyaviridae*, *Caulimoviridae*, *Closteroviridae*, *Comoviridae*, *Flexiviridae*, *Geminiviridae*, *Luteoviridae* e *Potyviridae*. Além disso, vale ressaltar que mais da metade destas espécies possuem genoma de DNA e são pertencentes às famílias *Geminiviridae* e *Caulimoviridae* (CLARK *et al.*, 2012).

A batata-doce por ser geralmente propagada vegetativamente, favorece o acúmulo viral e conseqüentemente leva a degenerescência da cultura. O vírus *Sweet potato symptomless mastrevirus 1* (SPSMV-1), pertencente ao gênero *Mastrevirus* da família *Geminiviridae*, e o vírus *Sweet potato pakakuy virus* (SPPV), pertencente ao gênero *Badnavirus* da família *Caulimoviridae*, têm ganhado destaque em pesquisas recentes no entanto, a ação dos mesmos na planta ainda não é totalmente compreendida (CAO *et al.*, 2017; KREUZE *et al.*, 2017). Estudos envolvendo a distribuição e os efeitos destes vírus nas plantas infectadas são de extrema importância para o manejo preventivo. Portanto, a realização da caracterização desses vírus é de suma importância para o maior conhecimento sobre a biologia desses grupos, visando também à avaliação da distribuição de ambos os vírus na cultura.

O feijão guandu [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] é uma leguminosa arbustiva perene, pertencente à família *Fabaceae* (ou *Leguminosae*), que pode ser utilizado de várias formas como as sementes secas, vagens e sementes imaturas, vegetais verdes, forragem para os animais, e uso medicinal (AMALRAJ; IGNACIMUTHU, 1998; SIMTOWE *et al.* 2010). Além disso, suas sementes são uma importante fonte de proteína, principalmente para a população vegetariana (SINGH *et al.*, 1984). É uma planta tolerante a seca e seu cultivo exige menos recursos, sendo a principal fonte de proteínas para pequenos produtores, e também contribui para a melhoria da fertilidade do solo devido à fixação biológica de nitrogênio (FBN) em simbiose com bactérias (SNAPP *et al.* 2002; MHANGO; SNAPP; PHIRI, 2013; Me-NSOPE; LARKINS, 2016). Não diferente de diversas outras culturas, o feijão guandu é suscetível a diversas doenças, sendo umas das principais restrições para alto potencial de rendimento das cultivares (SHARMA; GHOSH; PANDE, 2013).

Uma das principais doenças do feijão guandu é a mancha de alternaria, causada pelo fungo *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. Os sintomas iniciais são pequenas manchas necróticas circulares, que se expandem rapidamente formando anéis concêntricos, principalmente quando a doença é favorecida por condições ambientais tais como temperaturas mais quentes e umidade elevada. Este patógeno tem sido identificado em proporções alarmantes em Andhra Pradesh e Karnataka na Índia, devido às mudanças climáticas foi observado um aumento na incidência da doença no campo, e os sintomas foram observada em toda a parte aérea (SHARMA; GHOSH; PANDE, 2013). Pouco se sabe sobre os danos causados por este patógeno na cultura. Na Índia foi relatada uma redução de 40 a 50% no rendimento de cultivo em decorrência da doença (KUSHWAHA *et al.*, 2010). No Brasil ainda não há relatos sobre esta doença.

Para se obter um panorama da presença de mastrevírus e badnavírus que infectam batata-doce, este trabalho foi realizado com DNAs extraídos de amostras coletadas nos anos de 2013 e 2014, que estavam armazenadas a -20°C. Anteriormente estas amostras haviam sido analisadas quanto à presença de vírus com genoma composto por DNA, mas somente para begomovirus. Este estudo foi realizado a partir de 303 amostras coletadas nos principais distritos produtores da região de Pelotas/RS, sendo possível destacar a predominância da espécie *Sweet potato leaf curl virus*, com incidência em todos os distritos pesquisados. Este resultado foi o passo inicial para a busca de outros vírus com genoma de DNA na região (MAICH, 2015).

Devido à importância destas culturas, consideradas de subsistência, o conhecimento de patógenos que afetam ambas as culturas se torna essencial para uma melhor aplicação de medidas de controle. Visando ter melhor conhecimento sobre as espécies e sua distribuição nas culturas. Os objetivos do presente estudo foram: identificar e caracterizar molecularmente as espécies virais contendo genoma composto por DNA infectando a batata-doce nas principais regiões produtoras do distrito de Pelotas - Rio Grande do Sul, por meio de sequenciamento do genoma viral; diagnosticar e identificar o agente causal de uma doença no feijão guandu.

2. Revisão de Literatura

2.1. Cultura da batata-doce

A batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), é uma espécie pertencente à família *Convolvulaceae*, originária das Américas Central e do Sul (LOEBENSTEIN; THOTTAPPILLY, 2009). Trata-se de uma espécie perene, porém é cultivada como cultura anual, destacando-se por ser uma planta rústica, que apresenta boa adaptação, resistência ao déficit hídrico e que não exige muitos cuidados com tratamentos culturais (MONTES *et al.*, 2008; CLARK *et al.*, 2012).

Em 2017, a área mundial plantada foi de 9.202.777 milhões de hectares, com uma produtividade média de 12.261 toneladas por hectare, proporcionando uma produtividade total de 112.835.316 t (FAOSTAT, 2017). De acordo com os dados mais recentes do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil teve uma produção de 776.285 t em uma área de 53.480 ha, obtendo produtividade igual a 14,5 t/ha no ano de 2017. A região Sul foi responsável pelo maior volume de produção com 276.926 t, seguida da região Nordeste com 241.621 t e Sudeste com 225.336 t (IBGE 2017).

A batata-doce é cultivada em praticamente todos os Estados Brasileiros, sendo que o Rio Grande do Sul se destaca por ter a maior produção nacional com 186.199 t, depois vem São Paulo com 163.475 t, Paraná com 57.859 t, Rio Grande do Norte com 52.174 t e Minas Gerais com 47.928 t. Os estados que apresentam maiores áreas de plantio são: Rio Grande do Sul (12.975 ha); São Paulo (8.383 ha); Paraíba (4.289 ha) e Sergipe (3.465 ha). Apesar do Rio Grande do Sul ser o maior produtor de batata-doce, seu rendimento médio por hectare é baixo, com 14.351 kg/ha, enquanto o Mato Grosso apresenta 37.244

kg/ha e o Mato Grosso do Sul com 23.659 kg/ha. Entre os municípios do Rio Grande do Sul com maior produção, destacam-se Guaíba (13.300 t); Mariana Pimentel (13.200 t); Barra do Ribeiro (9.000 t); Pelotas (5.600 t) e Camaquã (4.500 t) (IBGE, 2017).

A batata-doce é a sétima cultura alimentar mais importante do mundo e tem grande contribuição calórica para a dieta humana (SHEKHAR *et al.*, 2015). Apresentando grande importância alimentar, principalmente para populações com baixo poder aquisitivo e que se concentram em países subdesenvolvidos. No Brasil é considerada como uma das principais hortaliças consumida pela população nordestina (OLIVEIRA *et al.*, 2008). Também é considerado um alimento de subsistência, possuindo um elevado teor de proteína, rica em carboidratos, vitaminas E, C, do complexo B e minerais, podendo ter altos teores de vitamina A (MOHANRAJ; SIVASANKAR, 2014).

Recentemente, a conscientização sobre os benefícios da batata-doce para a saúde, incluindo efeitos antimutagênicos, antioxidantes, anti-inflamatório, protetores hepáticos, cardioprotetores e antidiabéticos, estimulou o interesse pela cultura (CLARK *et al.*, 2012; BOVELLE-BENJAMIN, 2007). As variedades de batata-doce com polpa laranja ou roxa apresentam elevados teores de antioxidantes que são responsáveis pela proteção do corpo contra os radicais livres (PHILPOTT *et al.*, 2004; RAUTENBACH *et al.*, 2010). Foram demonstrados as atividades anti-inflamatórias e anti-cancerígenas de extratos brutos da batata-doce de polpa roxa, constatando sua capacidade de inibir o crescimento ou induzir a apoptose de células cancerígenas dos câncer de mama, câncer gástrico e adenocarcinoma de cólon, assim como, na prevenção do câncer de bexiga (SUGATA; LIN; SHIH, 2015; LI *et al.*, 2018). Portanto, além de ser um alimento extremamente rico e de fácil inclusão em dietas, também fornecem uma série de benefícios para a saúde. No entanto, estudos mais aprofundados ainda são necessários.

Outro fator que tem sido estudado ultimamente é o uso da biomassa de batata-doce para a produção de biocombustíveis, uma alternativa promissora para a produção de bioetanol de maneira sustentável (CASTRO *et al.*, 2008). Em um estudo realizado recentemente com a cultivar Duda, foi possível obter um rendimento de 161,4 l/t, com uma produtividade média de 10.598 l/ha,

sendo 46% superior ao obtido através da cana-de-açúcar e 149% a mais que o obtido com o milho, demonstrando assim uma alternativa relevante (SILVA *et al.*, 2018).

A biomassa da batata-doce também tem sido utilizada para alimentação animal, para muitos produtores se torna uma alternativa economicamente viável, pois tem disponível no local o resíduo da colheita, contribui para a redução de custos, bem como, a poluição ambiental (KLINGER *et al.* 2017). Porém o uso da batata-doce na alimentação animal depende da disponibilidade de outros alimentos, como por exemplo, os cereais, bem como a digestibilidade das variedades plantadas (MURUGAN *et al.*, 2012). Estudos recentes comprovaram que o feno de alfafa pode ser substituído pela batata-doce sem prejudicar o desempenho e a composição da carne animal (KLINGER *et al.* 2018). Também foi comprovado que folhas de batata-doce juntamente com outros coprodutos têm o potencial de melhorar o fornecimento de proteínas e aminoácidos em dietas para suínos em crescimento, bem como sua composição química, digestibilidade e valor energético possibilitam seu uso como fonte alternativa de alimento (NGUYEN *et al.*, 2012; VOLPATO *et al.*, 2015).

Recentemente, um estudo foi realizado sobre a viabilidade do uso da biomassa de batata-doce na produção de bioenergia e biofertilizante. Neste estudo foi possível a geração de 2.376,44 kWh/dia, 26,53 t/ano de N, 20,45 t/ano de P e 23,6 t/ano de K através da co-digestão anaeróbica de batata-doce e estrume de gado leiteiro, tornando-se uma ótima alternativa para os agricultores, pois a utilização da biomassa da produção agrícola promove o desenvolvimento sustentável e a produção de energia renovável de baixo custo (MONTORO *et al.*, 2019).

Apesar de sua rusticidade, a batata-doce é acometida por diversas doenças causadas por bactérias, fungos, nematoides e vírus, sendo que estes últimos podem formar complexos virais que agem em sinergismo, potencializando a doença (UNTIVEROS; FUENTES; SALAZAR, 2007). Devido à característica de ser propagada vegetativamente, a ocorrência de infecção viral, tende a agravar durante os cultivos sucessivos, resultando na degenerescência da cultura (KROTH; DANIELS; PIEROBOM, 2004).

O baixo rendimento da batata-doce pode estar relacionado ao fato dos produtores não apresentarem grandes preocupações com os tratamentos culturais e manejo da cultura, bem como, a utilização de propagação vegetativa na obtenção de mudas para plantios subsequentes. O aumento na produtividade, através do uso de fertilizantes minerais e esterco de animais separadamente ou de forma conjunta, já foram constatados em diversos estudos, principalmente em solos com baixa fertilidade, reforçando assim, a importância da realização da adubação adequada para o cultivo (AGBEDE, 2010; RÓS; NARITA; HIRATA, 2014). A baixa produtividade nas lavouras de batata-doce também pode estar relacionada à qualidade das mudas utilizadas, pois a propagação vegetativa favorece o acúmulo e a perpetuação dos vírus, levando a perdas significativas quanto aos aspectos quantitativos e qualitativos do produto final (POZZER *et al.*, 1994). Foi comprovado que a presença de vírus na batata-doce limita o desenvolvimento do sistema radicular, bem como a tuberação das raízes, conseqüentemente reduzindo a produtividade e gerando um produto com baixo valor comercial (MONTES; PAULO; MONTES, 2015). Portanto a obtenção de mudas com elevada sanidade se torna um passo importante para o ganho na produtividade.

Além da obtenção de mudas com excelente qualidade, a busca por variedades resistentes também se torna crucial, pois a rápida disseminação de vírus em mudas saudáveis no campo já foi constatada (POZZER *et al.*, 1994; ADIKINI *et al.*, 2015). Esta rápida disseminação pode ocorrer devido à falta de práticas agrícolas e a não retirada de hospedeiros alternativos para os vírus, servindo como fonte de inóculo para cultivos recém introduzidos (ADIKINI *et al.*, 2015).

Outro fator que pode contribuir com elevada eficiência na disseminação dos vírus em campo são os insetos vetores. A disseminação global da mosca branca (*Bemisia tabaci*) tem favorecido a emergência de doenças, principalmente das espécies de begomovírus, devido a sua elevada taxa de reprodução, capacidade de dispersão, capacidade de burlar os sistemas de defesa da planta, e principalmente, pela sua polifagia extrema (GILBERTSON *et al.*, 2015). No que diz respeito a transmissão por vetores a mosca branca tem seu destaque, sendo vetor de espécies pertencentes aos gêneros

Begomovirus, *Crinivirus*, *Carlavirus*, *Ipomovirus* e *Torradovirus* (NAVAS-CASTILLO, FIALLO-OLIVÉ; SÁNCHEZ-CAMPOS, 2011). Sendo que, na cultura em estudo, apenas vírus pertencentes ao gênero *Torradovirus* ainda não foram identificados.

Portanto, o conhecimento do agente causal bem como seu modo de disseminação no campo torna-se essencial na tomada de decisões quanto às práticas de controles a serem empregadas.

2.2. Vírus com genoma de DNA que infectam a cultura da batata-doce

Como característica de plantas que são reproduzidas principalmente de forma vegetativa, a batata-doce acumula muitas espécies virais durante seu processo produtivo. Um levantamento feito por CLARK e colaboradores (2012), verificou-se a existência de mais de 30 vírus infectando a cultura, sendo estes distribuídos nos gêneros de nove famílias, sendo 25 espécies já aceitas e nove espécies tentativas presentes no ICTV (*International Committee of Taxonomy of Virus*) (BROWN *et al.*, 2015; GIBSON, KREUZE, 2015).

O maior número de espécies virais (genoma de DNA e RNA) identificados na batata-doce pertencem às famílias *Geminiviridae* (DNA) e *Potyviridae* (RNA) (Tabela 1). No entanto, espécies pertencentes às famílias *Geminiviridae* e *Caulimoviridae* representam mais da metade dos vírus com genoma de DNA (CLARK *et al.*, 2012; WYLIE *et al.*, 2017; ZERBINI *et al.*, 2017). A maioria das espécies aceitas pertence ao gênero *Begomovirus*, considerado o gênero que possui o maior número de espécies de vírus de plantas pelo ICTV (BROWN *et al.*, 2015). A nível mundial na cultura da batata-doce existem 14 espécies virais com genoma composto por DNA aceitas pelo ICTV, sendo que, 11 delas pertencem ao gênero *Begomovirus* (*Geminiviridae*), uma espécie pertencente ao gênero *Solendovirus*, uma espécie do gênero *Cavemovirus*, e uma espécie do gênero *Badnavirus*, os três últimos gêneros pertencentes a família *Caulimoviridae*. Existem ainda, oito espécies tentativas submetidas ao ICTV, sete delas pertencentes ao gênero *Begomovirus* e outra ao gênero *Mastrevirus* (KREUZE *et al.*, 2009; CUELLAR *et al.*, 2011; CLARK *et al.*, 2012; BROWN *et al.*, 2015).

Tabela 1. Espécies virais descritas na Batata-doce

Vírus (RNA)	Acrônimo	Família	Gênero	Identificação	Outros isolados
<i>Sweet potato feathery mottle virus</i>	SPFMV	<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	D86371; NC_001841	
<i>Sweet potato latent virus</i>	SPLV	<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	KC443039; NC_020896	
<i>Sweet potato mild speckling virus</i>	SPMSV	<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	U61228; NC_038563	
<i>Sweet potato virus 2</i>	SPV2	<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	JN613807; NC_017970	
<i>Sweet potato virus C</i>	SPVC	<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	GU207957; NC_014742	
<i>Sweet potato virus G</i>	SPVG	<i>Potyviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	JQ824374; NC_018093	
<i>Sweet potato mild mottle virus</i>	SPMMV	<i>Potyviridae</i>	<i>Ipomovirus</i>	Z73124; NC_003797	
<i>Sweet potato chlorotic stunt virus</i>	SPCSV	<i>Closteroviridae</i>	<i>Crinivirus</i>	AJ428554; NC_004123, AJ428555; NC_004124	
<i>Sweet potato chlorotic fleck virus</i>	SPCFV	<i>Betaflexiviridae</i>	<i>Carlavirus</i>	AY461421; NC_006550	
<i>Sweet potato C6 virus</i>	SPC6V	<i>Betaflexiviridae</i>	<i>Carlavirus</i>	JX212747	
<i>Sweet potato leaf speckling virus</i>	SPLSV	<i>Luteoviridae</i>	<i>Polerovirus</i>	DQ655700	
<i>Sweet potato ringspot virus</i>	SPRV	<i>Secoviridae</i>	<i>Nepovirus</i>		
Vírus (DNA)	Acrônimo	Família	Gênero	Identificação	Outros isolados
<i>Sweet potato golden vein Korea virus</i>	SPGVKRV	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	KT992056; NC_043433	
<i>Sweet potato leaf curl Canary virus</i>	SPLCCV	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	FJ529203; NC_013465	
<i>Sweet potato leaf curl China virus</i>	SPLCCNV	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	DQ512731;NC _038464	
<i>Sweet potato leaf curl Georgia virus</i>	SPLCGV	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	AF326775; NC_004640	

<i>Sweet potato leaf curl Guangxi virus</i>	SPLCGV	Geminiviridae	Begomovirus	KJ476510; NC_024693	
<i>Sweet potato leaf curl Henan virus</i>	SPLCHnV	Geminiviridae	Begomovirus	KC907406; NC_021719	
<i>Sweet potato leaf curl Sao Paulo virus</i>	SPLCSPV	Geminiviridae	Begomovirus	HQ393477; NC_025681	
<i>Sweet potato leaf curl Shandong virus</i>	SPLCSdV	Geminiviridae	Begomovirus	KU323597	
<i>Sweet potato leaf curl Sichuan virus 1</i>	SPLCSiV/1	Geminiviridae	Begomovirus	KC488316; NC_038465	
<i>Sweet potato leaf curl Sichuan virus 2</i>	SPLCSiV/2	Geminiviridae	Begomovirus	KF156759; NC_022586	
<i>Sweet potato leaf curl South Carolina virus</i>	SPLCSCV	Geminiviridae	Begomovirus	HQ333144; NC_015317	
<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV/US	Geminiviridae	Begomovirus	AF104036;NC_004650	
<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV/CN	Geminiviridae	Begomovirus	EU253456	China/Yunnan/RL31/2006/China
<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV	Geminiviridae	Begomovirus	AJ132548	Spain/1998
<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV/BR	Geminiviridae	Begomovirus	FJ969829	Brazil/Para/Belem1/2008/Brazil
<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV/Fu	Geminiviridae	Begomovirus	FJ515898	China/Fujian/Fp3/2007/Fujian
<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV/IT	Geminiviridae	Begomovirus	AJ586885	Italy/Sicily/2002/Italy
<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV/JP	Geminiviridae	Begomovirus	AB433786	Japan/Miyazaki/1996/Japan
<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV/PB	Geminiviridae	Begomovirus	FJ969830	Brazil/Paraiba/Souza1/2008/Paraiba
<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV/PE	Geminiviridae	Begomovirus	HQ393456	Brazil/Rondonia/PortoVelho/2008/Pernambuco
<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV/PR	Geminiviridae	Begomovirus	DQ644562	PuertoRico/80/N2/2006/Puerto Rico
<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV/RO	Geminiviridae	Begomovirus	HQ393447	Brazil/Bahia/Utinga/2008/Rondonia

<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV/SP	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	HQ393473	Brazil/SaoPaulo/AlvaresMachado/2009/Sao Paulo
<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV/SC	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	HQ333138	UnitedStates/South Carolina/646/B11/2006/South Carolina
<i>Sweet potato leaf curl virus</i>	SPLCV/ES	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	EF456744	Spain/Canary Islands/BG6/2002/Spain
<i>Sweet potato mosaic virus</i>	SPMV	<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	FJ969831; NC_038466	
<i>Sweet potato symptomless virus 1</i>	SpSV/1	<i>Geminiviridae</i>	<i>Mastrevirus</i>	Q44429; KY565231	
<i>Sweet potato vein clearing virus</i>	SPVCV	<i>Caulimoviridae</i>	<i>Solendovirus</i>	NC_015228	
<i>Sweet potato collusive Virus</i>	SPCV	<i>Caulimoviridae</i>	<i>Cavemovirus</i>	NC_015328	
<i>Sweet potato badnavirus A</i>	SPPV-A	<i>Caulimoviridae</i>	<i>Badnavirus</i>	FJ560943	
<i>Sweet potato badnavirus B</i>	SPPV-B	<i>Caulimoviridae</i>	<i>Badnavirus</i>	FJ560944; NC_012728	

No Brasil, os vírus com genoma de DNA: *Sweet potato collusive vírus* (SPCV, família: *Caulimoviridae*; gênero: *Cavemovirus*), *Sweet potato leaf curl vírus* (SPLCV, família: *Geminiviridae*; gênero: *Begomovirus*) e *Sweet potato leaf curl São Paulo vírus* (SPLCSPV, família: *Geminiviridae*; gênero: *Begomovirus*) já foram identificados a partir de diferentes técnicas moleculares (PAPROTKA *et al.*, 2010; ALBUQUERQUE *et al.*, 2011; FERNANDES *et al.*, 2012).

Através da técnica de amplificação utilizando a enzima Phi29 polymerase (*Rolling circle amplification* - RCA), foi possível identificar o vírus *Sweet potato leaf curl vírus* (SPLCV) em um Banco de Germoplasma de batata-doce em Brasília. Além deste primeiro relato, os autores destacaram o elevado número de plantas infectadas com *Geminivirus*, indicando o potencial epidêmico dos *Begomovirus* no Brasil (PAPROTKA *et al.*, 2010). Um ano depois, foi apresentada a sequência completa do genoma de uma nova estirpe do SPLCV, conhecida como *Sweet potato leaf curl São Paulo vírus* (SPLCSPV), que

também serviu para indicar a grande diversidade de *Begomovirus* na cultura (ALBUQUERQUE *et al.*, 2011).

O vírus *Sweet potato collusive virus* (SPCV, família: *Caulimoviridae*; gênero: *Cavemovirus*) foi detectado em um levantamento de vírus no Banco Ativo de Germoplasma de batata-doce da Embrapa Hortaliças através da técnica NCM-Elisa. Além deste vírus, as plantas foram testadas para mais nove outros vírus. Também foi possível identificar que, dos 100 genótipos testados, 56% estavam infectadas por complexos virais envolvendo diferentes combinações de vírus, tanto vírus com genoma de RNA quanto de DNA (FERNANDES *et al.*, 2012).

Em uma pesquisa realizada na China, foi possível verificar que a co-infecção de dois ou mais vírus é frequente. Das 219 amostras testadas, apenas 30,1% estavam infectadas com apenas uma espécie viral, 17,4% estavam infectados por duas espécies virais, 10,5% com três espécies, 22,2% com quatro espécies ou mais, no entanto, em apenas uma amostra, foi possível identificar sete espécies virais. Comprovando assim, que em culturas onde a propagação vegetativa é um dos principais meios de reprodução, pode favorecer o acúmulo de várias espécies (MA *et al.*, 2018).

Um estudo realizado por MBANZIBWA e colaboradores (2014), verificou-se a distribuição de *Sweet potato pakakuy virus* (SPPV, família: *Caulimoviridae*; gênero: *Badnavirus*) na Tanzânia, onde ficou demonstrado que o vírus estava disseminado na cultura e a ocorrência em co-infecção com *Sweet potato symptomless mastrevirus 1* (SPSMV-1, família: *Geminiviridae*; gênero: *Mastrevirus*). O efeito de infecções sinérgicas também havia sido identificado anteriormente, quando uma planta infectada somente com SPPV-B não apresentava expressão de sintomas, porém em plantas que os sintomas eram mais severos, a presença do vírus *Sweet potato chlorotic stunt virus* estirpe WA (SPCSV-WA, família: *Closteroviridae*; gênero: *Crinivirus*) foi sempre constatada, supondo que sua presença pode estar promovendo um aumento na gravidade dos sintomas (KASHIF *et al.*, 2012).

Outro grupo de vírus que infectam a cultura da batata-doce está dentro do gênero *Begomovirus*, e são conhecidos como “sweepovírus”. Este nome foi proposto aos begomovírus que infectam batata-doce, pois são filogeneticamente diferentes das espécies do Novo Mundo (Américas –

Hemisfério Ocidental) e do Velho Mundo (Europa, Ásia e África – Hemisfério Oriental) (ALBUQUERQUE *et al.*, 2012). Possuem apenas um componente genômico (monopartido) e se multiplicam em diversas espécies de plantas da família *Convolvulaceae*. Os sintomas são diferentes dependendo do hospedeiro, mas podem causar encarquilhamento nas folhas e amarelecimento das nervuras, embora a infecção de algumas variedades seja assintomática (ALBUQUERQUE *et al.*, 2012). Estes vírus têm sido identificados em diversos países, inclusive no Brasil (BANKS *et al.*, 1999; FUENTES; SALAZAR, 2003; KWAK *et al.*, 2006; BRIDDON; BULL; BEDFORD, 2006; LUAN; ZHANG; AN, 2006; MIANO *et al.*, 2006; PRASANTH; HEGDE, 2008; LOZANO *et al.*, 2009; PAPROTKA *et al.*, 2010; WASSWA *et al.*, 2011; ALBUQUERQUE *et al.*, 2011), podendo ocasionar reduções no rendimento entre 10 e 80% (CLARK; HOY, 2006; LING *et al.*, 2010).

Além de causarem perdas relevantes economicamente, estes vírus também interagem sinergicamente com outros vírus. Foi constatada a ocorrência de interações sinérgicas entre begomovírus e *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV, família: *Closteroviridae*; gênero: *Crinivirus*), resultando no aumento expressivo na concentração de begomovírus e redução da concentração de SPCSV. Os autores acreditam que isso pode ocorrer devido à competição entre os co-infectantes, resultando no favorecimento de um vírus sobre o outro. O aumento na concentração de begomovírus pode contribuir para um aumento na taxa de transmissão e disseminação do vírus (CUELLAR *et al.*, 2015). Recentemente, também foi identificada interação entre os begomovírus *Sweet potato mosaic virus* (SPMV) e *Sweet potato leaf curl São Paulo virus* (SPLCSPV) com *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV, família: *Potyviridae*; gênero: *Potyvirus*) e *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV, família: *Closteroviridae*; gênero: *Crinivirus*), contribuindo significativamente para um aumento na expressão de sintomas (NHLAPO *et al.*, 2018a). A combinação dos begomovírus SPMV e SPLCSPV também foi testada em co-infecção com SPFMV, *Sweet potato virus G* (SPVG, família: *Potyviridae*; gênero: *Potyvirus*) e *Sweet potato virus C* (SPVC, família: *Potyviridae*; gênero: *Potyvirus*). Os autores realizaram diversos tipos de combinações, incluindo combinação somente com SPMV e SPLCSPV (vírus de DNA), e observaram uma redução considerável

no rendimento total e comercializável da batata-doce. A co-infecção somente com os begomovírus levou a perdas entre 32% e 84% no rendimento, já o tratamento contendo as quatro espécies virais as perdas ficaram entre 66 a 93%, dependendo da variedade (MULABISANA *et al.*, 2019).

No gênero *Badnavirus*, espécies como, por exemplo, o *Sweet potato pakakuy virus* (SPPV: família *Badnaviridae*) estão distribuídas na batata-doce, pois já foram identificadas em todos os continentes, porém seu impacto na cultura ainda é desconhecido (CLARK *et al.*, 2012; KREUZE *et al.*, 2017). Estudos da interação de SPPV em co-infecção com *Sweet potato feathery mottle virus* (SPFMV, família: *Potyviridae*; gênero: *Potyvirus*) e *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV, família: *Closteroviridae*; gênero: *Crinivirus*), resultaram apenas no aumento sinérgico limitado da titulação de um dos dois isolados de SPPV, o *Sweet potato badnavirus B* (KREUZE *et al.*, 2017). Um estudo realizado em Barbados, com plantas de batata-doce apresentando sintoma de *Sweet potato virus disease* (SPVD), levou a resultados sugestivos de que a doença possa estar sendo causada por um complexo das principais famílias virais detectadas, *Geminiviridae* (61% *Begomovirus* e *Mastrevirus*) e *Caulimoviridae* (*Badnavirus*), já que a incidência dos vírus SPFMV e SPCSV foram relativamente baixas (ALLEYNE *et al.*, 2019).

Diante do conhecimento do efeito de sinergismo entre estas espécies, o conhecimento de vírus com genoma de DNA, o qual foi negligenciado por muito tempo, demonstrou extrema importância. O fato de existirem evidências moleculares que indicam a presença de espécies virais, pertencentes aos gêneros *Mastrevirus* e *Badnavirus*, no campo reforça a ideia de que eles podem estar disseminados. Após a detecção, o passo seguinte é a obtenção do genoma completo para se conhecer as espécies virais, a partir disso a realização da caracterização molecular fornecerá subsídio para o estudo da variabilidade entre outros isolados existentes na mesma espécie, e por fim, a construção de um clone infeccioso que permite compreender a ação dos mesmos em plantas infectadas e seu impacto na produtividade da cultura.

A obtenção do genoma completo em espécies de *Badnavirus* pode ser dificultada por apresentarem elevada variabilidade entre as espécies, bem como, a presença de sequências endógenas que podem impossibilitar a

precisão do diagnóstico (KREUZE *et al.*, 2017; BHAT; HOHN; SELVARAJAN, 2016). No entanto, estas sequências endógenas podem apresentar um importante papel epidemiológico, gerando vírus epissomais, que em condições de estresse podem desencadear o processo infeccioso (GEERING *et al.*, 2005; GAYRAL; ISKRA-CARUANA, 2009).

Na cultura em estudo, a ação de espécies virais pertencentes a este gênero ainda não é compreendida, e existe uma escassez de sequências completas depositadas no *Genbank*. Kreuze e colaboradores (2009) conseguiram obter a sequência completa de duas espécies virais (SPPV-A e SPPV-B) através do sequenciamento de siRNA, no entanto restaram muitas lacunas que foram preenchidos através da confecção de diversos pares de primers. As espécies SPPV-A e B apresentaram 79.5% de identidade, demonstrando uma variabilidade entre elas. No entanto, o conhecimento da variabilidade fornece informações essenciais sobre o processo evolutivo, que no caso das espécies pertencentes a este gênero podem ser geradas através de frequentes eventos de mutação e recombinação genética (GOVIND *et al.*, 2014; FERREIRA *et al.*, 2018). Portanto, os resultados apresentados neste trabalho é o primeiro passo para iniciar uma pesquisa sobre o impacto do vírus na produção de batata-doce, e possibilitar estratégias de controle mais eficientes.

2.3. Gênero *Mastrevirus*

O gênero *Mastrevirus* da família *Geminiviridae* consiste em vírus com genomas circulares de DNA de cadeia simples (ssDNA) de 2,6-2,8 kb (MUHIRE *et al.*, 2013). Apresenta o segundo maior número de espécies (ZERBINI *et al.*, 2017). Estes vírus infectam plantas monocotiledôneas ou dicotiledôneas e são transmitidos por cigarrinhas (Hemiptera: *Cicadellidae*) de modo persistente (circulativo, não propagativo) (FAUQUET *et al.*, 2005).

A família *Geminiviridae* tem-se apresentado como a família de maior importância dentre os vírus que infectam plantas, principalmente após o surgimento do biótipo B da mosca branca, inseto vetor predominante dos vírus pertencentes ao grupo begomovírus, permitindo superar os potyvírus em mais

de 200 espécies aceitas (NAVAS-CASTILLO, FIALLO-OLIVÉ; SÁNCHEZ-CAMPOS, 2011). Para a cultura em estudo, existe uma quantidade maior de espécies relatadas com vírus de DNA, superando os de RNA (BROWN *et al.*, 2015). Baseado na organização genômica, inseto vetor, gama de hospedeiros e relações filogenéticas, a família é dividida em nove gêneros: *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Capulavirus*, *Grablovirus*, *Topocovirus*, *Bercutovirus*, *Eragrovirus*, *Turncurtovirus* e *Begomovirus* (ZERBINI *et al.*, 2017).

Os vírus pertencentes a esta família apresentam partícula icosaédrica geminada, sendo que os gêneros *Becurtovirus* (duas espécies), *Capulavirus* (quatro espécies), *Curtovirus* (três espécies), *Eragrovirus* (uma espécie), *Grablovirus* (uma espécie), *Mastrevirus* (mais de 30 espécies), *Topocuvirus* (uma espécie) e *Turncurtovirus* (uma espécie) apresentam o genoma monopartido, e o gênero *Begomovirus* (mais de 320 espécies) pode apresentar genoma tanto monopartido, quanto bipartido (DNA-A, DNA-B) (ZERBINI *et al.*, 2017).

Segundo estabelecido, os critérios para separação de espécie dentro do gênero são: identidade de nucleotídeos acima de 78% quando comparado com outras espécies contendo genoma completamente sequenciado, além de diferenças sorológicas da capa protéica viral e insetos vetores (ZERBINI *et al.*, 2017). A espécie tipo é o *Maize streak vírus* (MSV), que causa uma das doenças mais graves no milho (*Zea mays* L.), conhecida como *Maize streak disease* (MSD), está disseminada na cultura e ocasionam perdas na produção chegando a ameaçar a segurança alimentar (THOTTAPPILLY *et al.*, 1993). As quedas no rendimento causadas pelo MSV variam de acordo com a temperatura e precipitação, no entanto podem causar perdas de até 100% no rendimento (ALEGBEJO *et al.*, 2002). Na África, os prejuízos podem chegar até 480 milhões por ano. O vírus é transmitido por mais de 10 espécies de cigarrinhas, sendo a *Cicadulina mbila* considerada como vetor principal (KARAVINA, 2014).

Outra espécie de grande importância para a cultura do trigo (*Triticum* spp.) é o *Wheat dwarf vírus* (WDV), transmitido pela cigarrinha *Psammotettix alienus* (família *Cicadellidae*). A incidência desta doença em campo pode causar perdas que variam de 35 a 90% no rendimento (LINDBLAD; WAERN, 2002).

Um vírus que vem se destacando ultimamente é o *Chickpea chlorotic dwarf virus* (CpCDV), agente causal da doença *Chickpea stunt disease* (CSD) no grão-de-bico, causando perdas entre 75-95% na produtividade, considerada a doença viral de maior importância para a cultura. A transmissão é realizada pela cigarrinha *Orosius albicinctus* de maneira circulativa (persistente) e não-propagativa. O CpCDV é capaz de infectar diferentes culturas de importância econômica, como por exemplo, o tomate e o feijão. Para este vírus a alta frequência de recombinações teve um papel crucial no aumento da gama de hospedeiros, bem como para sua diversificação e rápida evolução. Além do vírus CpCDV, outras cinco espécies virais do gênero *Mastrevirus* também já foram identificados no grão-de-bico (KANAKALA; KURIA, 2018).

A primeira detecção de Mastrevírus na cultura da batata-doce ocorreu no Peru, com a obtenção do genoma parcial de 1.012 nucleotídeos (nt) (GenBank: FJ560945) para este vírus (KREUZE *et al.*, 2009). O nome *Sweet potato symptomless mastrevirus 1* (SPSMV-1) foi proposto como uma espécie tentativa para mastrevírus em batata-doce (KREUZE *et al.*, 2009; CAO *et al.*, 2017). A partir de então o SPSMV-1 tem sido detectado na Tanzânia, Coreia, China e em alguns países da América Central (MBANZIBWA *et al.*, 2014; KWAK *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2015).

O genoma completo de SPSMV-1 foi caracterizado por Cao e colaboradores (2017) nas cultivares de batata-doce Naspot 1 (Q44429 GenBank: KY565231) e Beauregard (GWB GenBank: KY565232) provenientes do Quênia e Estados Unidos (Figura 1). O SPSMV-1 possui uma organização genômica típica de mastrevírus que infectam plantas dicotiledôneas, apresentando quatro fases de leitura aberta (ORFs V1, V2, C1 e C2). A região intergênica longa (LIR, 2277-2602 nt) está entre a proteína de movimento (MP) e a proteína associada a replicação (Rep), e contém uma sequência não-nucleotídica incomum $^{2396}\text{TAAGATT}\downarrow\text{CC}^{2404}$, sendo que os nucleotídeos sublinhados diferem de outros mastrevírus (TAATATTAC) (ZERBINI *et al.*, 2017). O SPSMV-1 também apresenta uma terceira ORF (C3) na metade N-terminal da ORF C1, sendo que esta ORF está presente em outros mastrevírus que infectam plantas dicotiledôneas (CAO *et al.*, 2017).

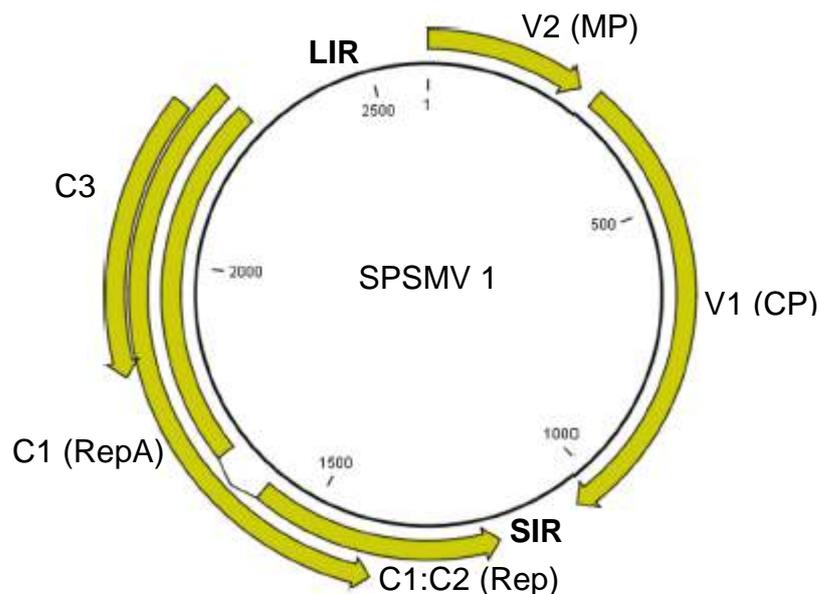


Figura 1. Estrutura do genoma de *Sweet potato symptomless mastrevirus 1* (SPSMV-1). As setas indicam as ORFs, V no sentido viral e C no sentido complementar; ORF V1 codifica a proteína do capsídeo (CP); ORF V2 codifica a proteína de movimento (MP); ORF C1:C2 codifica a proteína associada à replicação (Rep); ORF C1 codifica a proteína RepA, responsável pela regulação da progressão ciclo celular, favorecendo a replicação viral; Regiões intergênicas (LIR e SIR).
Fonte: Adaptado de CAO *et al.*, 2017.

A região intergênica longa (LIR) apresenta a origem de replicação e o início da transcrição. Já a região intergênica curta (SIR) é composta pela origem de replicação da cadeia complementar e de terminação da transcrição. O genoma apresenta leitura bidirecional e se replica através do mecanismo de círculo rolante no núcleo da célula hospedeira. O processo de replicação é iniciado com a conversão do ssDNA em intermediários de dsDNA, sendo conhecidos como forma replicativa, pelas proteínas do hospedeiro. Posteriormente, os intermediários são amplificados pelo mecanismo de círculo rolante e servem como molde para a transcrição e a síntese de ssDNA para a formação de novas partículas virais (Figura 2). Os Matrevírus fazem uso do mecanismo “splicing” para realizar a expressão gênica (ZERBINI *et al.*, 2017; GUTIERREZ, 1999).

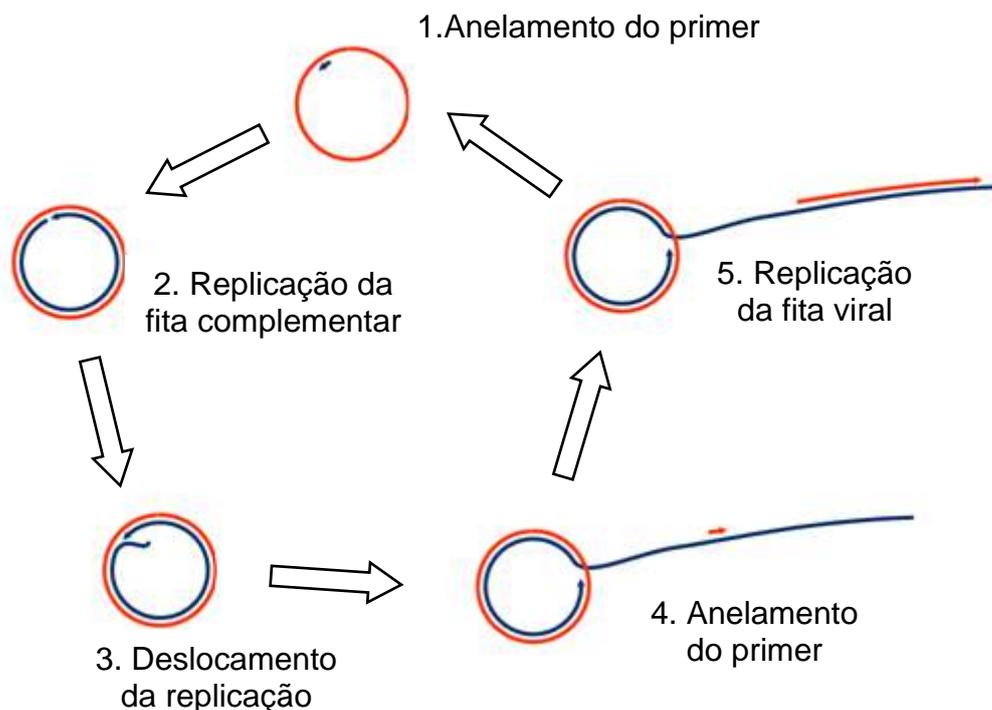


Figura 2. Etapas do ciclo de replicação de *Mastrevirus*. Etapa I: conversão do ssDNA circular em intermediários dsDNA (Forma Replicativa). Etapa II: replicação por círculo rolante (RCA). Etapa III: produção de novos genomas de ssDNA circulares para encapsidação. Fonte: Adaptado de JESKE (2018).

No Brasil o SPSMV-1 foi identificado através de um levantamento com 100 amostras de nove estados. Foram analisados Norte (1), Sudeste (2), Sul (4), Centro-Leste (19) e Nordeste (74 amostras). Ao todo cinquenta amostras foram positivas, Norte (1), Sudeste (1), Sul (2), Centro-Leste (6) e no Nordeste (40) (SOUZA *et al.*, 2018). No entanto, ainda existem poucas informações sobre este vírus e seu impacto econômico na cultura da batata-doce.

2.4. Gênero *Badnavirus*

A família *Caulimoviridae* engloba espécies virais que apresentam o genoma composto por fita dupla de DNA (dsDNA), sendo composta por oito gêneros: *Badnavirus*, *Caulimovirus*, *Cavemovirus*, *Petuvirus*, *Rosadnavirus*, *Solendovirus*, *Soymovirus* e *Tungrovirus*, sendo divididos de acordo com a

organização genômica, gama de hospedeiro, inseto vetor e relações filogenéticas (GEERING; HULL, 2012; BHAT; HOHN; SELVARAJAN, 2016).

O gênero *Badnavirus* é o segundo de maior incidência, apresentando como espécie tipo *Commelina yellow mottle virus* (ComYMV) (HAGEN *et al.*, 1993). Engloba vírus de plantas que apresentam o genoma formado por DNA de fita dupla (dsDNA) e dependendo da espécie, o tamanho varia entre 7,2 a 9,2 kb, encapsidados em partículas baciliformes com 120 - 150 nm de comprimento e 30 nm de diâmetro (BHAT; HOHN; SELVARAJAN, 2016). Segundo os critérios estabelecidos pelo ICTV, a definição de espécies dentro do gênero exige <80% de identidade da sequência nucleotídica ou <89% de identidade da sequência de aminoácidos na região conservada da transcriptase reversa (RT)/ribonuclease H (RNase H) (GEERING; HULL, 2012).

O genoma é caracterizado por apresentar descontinuidades em fita simples ou gaps em sítios específicos em ambas as fitas, podendo variar de acordo com o gênero ou espécie viral (GEERING, 2014). Apresenta três ORFs (I, II, III), sendo que a ORF I e II não são totalmente compreendidas. A ORF I, dependendo da espécie, pode variar entre 399 a 927pb e codifica proteínas associadas ao vírion. Já a ORFII codificam proteínas de ligação aos ácidos nucléicos e seu tamanho é um pouco menor, variando entre 312 a 561pb. A ORF III, que apresenta maior tamanho, entre 5100 a 6000pb, codifica uma proteína que ao ser clivada origina quatro a cinco produtos, dentre eles estão, a proteína do capsídeo (CP), a protease aspartato (AP), a transcriptase reversa (RT), a ribonuclease H (RNaseH) e uma proteína putativa que possibilita o movimento de célula a célula (MP). Sendo que, a protease aspartato é responsável clivagem desta poliproteína (BHAT; HOHN; SELVARAJAN, 2016).

Os vírus pertencentes ao gênero *Badnavirus* infectam tanto monocotiledôneas quanto dicotiledôneas. No entanto alguns gêneros da família *Caulimoviridae* ficam restritos somente a monocotiledôneas (*Tungrovirus*) ou dicotiledôneas (*Petuvirus*, *Soymovirus*, *Cavemovirus*). Geralmente os badnavírus são transmitidos por cochonilhas, mas também podem ser transmitidos por afídeos como *Rubus yellow net virus* (RYNV), *Gooseberry vein banding associated virus* (GVBAV) e *Spiraea yellow leaf spot virus* (SYLSV), já o vírus *Piper yellow mottle virus* (PYMoV) pode ser transmitido por cochonilha (*Planococcus*

citri) e pecevejo (*Diconocoris distantii*) (GEERING, 2014). Além dos insetos vetores, a transmissão pode ocorrer através de práticas de manejo como enxertia e propagação vegetativa, via contato de plantas hospedeiras, sementes e pólen (FAUQUET *et al.*, 2005).

São classificados como pararetrovírus, pois apresentam a capacidade de integração de fragmentos de DNA viral no genoma do hospedeiro para replicação, levando a formação de sequências virais endógenas (*Endogenous Pararetroviral Sequences* - EPRVs) (GAYRAL; ISKRA-CARUANA, 2009). Acredita-se que esta integração possa ocorrer através de recombinação ilegítima, sendo que sua presença não necessariamente indica associação com a infecção. Porém estes fragmentos podem dar origem à infecção sistêmica através de eventos de recombinação e cruzamentos interespecíficos. No entanto, a presença destas sequências pode dificultar o diagnóstico das doenças (BHAT; HOHN; SELVARAJAN, 2016). Estas sequências caracterizam-se por apresentar um padrão de arranjo similar com repetições em *tandem*, duplicações internas, fragmentações e inversão do genoma viral, podendo resultar em genomas virais parciais e não funcionais, ou serem ativadas ocasionando liberação do genoma viral funcional que causará infecção no hospedeiro (GAYRAL; ISKRA-CARUANA, 2009).

A replicação dos vírus classificados como pararetrovírus ocorre via transcrição reversa de um intermediário de RNA pré-genômico. Este processo ocorre em duas etapas, sendo que, na primeira etapa ocorre a transcrição do DNA no núcleo, e posteriormente, ocorre a transcrição reversa deste transcrito no citoplasma (Figura 3) (BHAT; HOHN; SELVARAJAN, 2016). A partícula de DNA circular viral entra na célula, ocorre a desencapsidação através da ação de proteinases, e então é transportado para o núcleo, onde as descontinuidades e gaps são reparadas, produzindo fita dupla de DNA superenrolados (“mini cromossomos”). Então, o DNA é transcrito pela RNA polimerase II codificada pelo hospedeiro, dando origem a um RNA pré-genômico, que traduzido, resulta em proteínas virais. Na etapa final, o RNA pré-genômico é convertido novamente para dsDNA através da ação da transcriptase reversa no citoplasma, estes dsDNA são encapsidados formando

novas partículas virais (DE KOCHKO *et al.*,1998; BHAT; HOHN; SELVARAJAN, 2016).

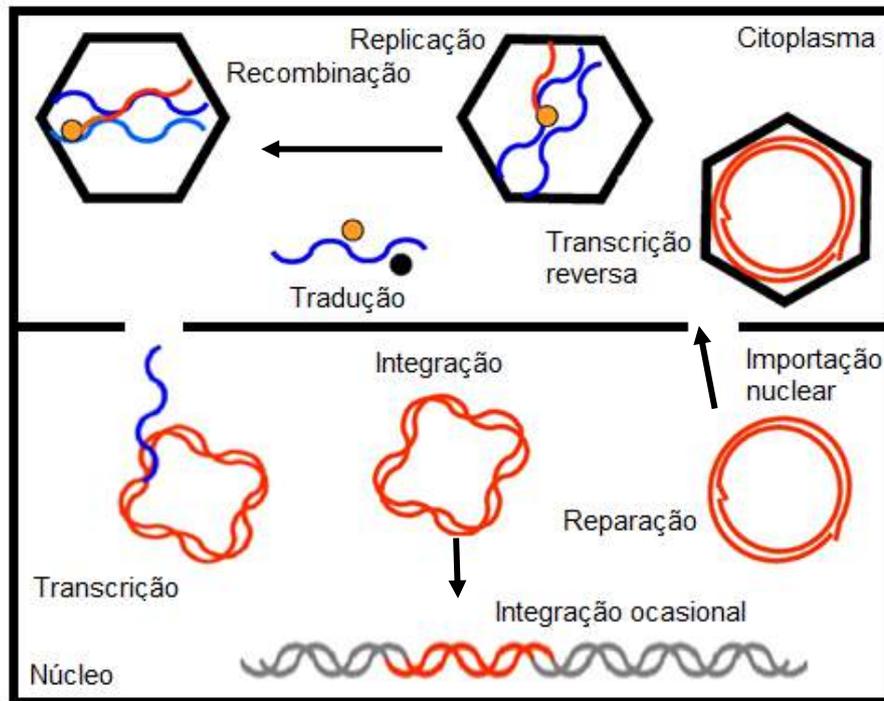


Figura 3. Ciclo de replicação de pararetrovírus em plantas

Fonte: Adaptado de BHAT; HOHN; SELVARAJAN (2016).

Espécies virais pertencentes a este gênero estão mundialmente distribuídas, e têm emergido como importantes patógenos para muitas culturas tropicais, alguns hospedeiros importantes economicamente, tais como o arroz (OMURA *et al.*, 1983), cana-de-açúcar (LOCKHART; AUTREY, 1988), banana (LOCKHART; OLSZEWKI, 1993), cacau (BRUNT *et al.*, 1996), citros (AHLAWAT *et al.*, 1996), pimenta (LOCKHART *et al.*, 1997), inhame (PHILLIPS *et al.*, 1999) e o taro (YANG *et al.*, 2003). Os badnavírus se destacam especialmente com o *Cacao swollen shoot vírus* (CSSV), *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV), *Citrus yellow mosaic vírus* (CiYMV) e *Banana streak viruses* (BSVs). As perdas econômicas geradas por diferentes espécies de badnavírus em diversas culturas variam entre 10-90% (GEERING, 2014; BHAT; HOHN; SELVARAJAN, 2016). Os sintomas causados pela infecção de badnavírus podem variar de acordo com a cultivar, a espécie viral e as condições ambientais, mas na maioria dos casos inclui mosaico, clorose, estrias

necróticas, deformação das folhas e redução do tamanho dos entrenós levando ao desenvolvimento de nanismo (BHAT; HOHN; SELVARAJAN, 2016).

Uma lista contendo os dez vírus mais importantes do mundo foi publicada com o intuito de apresentar os vírus que realmente causam grandes danos econômicos, e podem afetar muitas pessoas pela falta de alimento. Nesta lista constam os seguintes vírus, na ordem de importância: *African cassava mosaic disease* (ACMD, família: *Geminiviridae*; gênero: *Begomovirus*); *Banana bunchy top nanovirus* (BBTV, família *Naniviridae*; gênero: *Babuvirus*); *Banana streak badnavirus* (BSV, família: *Caulimoviridae*; gênero: *Badnavirus*); *Barley yellow dwarf disease* (BYD, família: *Luteoviridae*; gênero: *Polerovirus*); *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV, família: *Bromoviridae*; gênero: *Cucumovirus*); *Maize streak mastrevirus* (MSV, família: *Geminiviridae*; gênero: *Mastrevirus*); *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV, família: *Potyviridae* ; gênero: *Potyvirus*); *Sugarcane mosaic potyviruses* (SCMV, família: *Potyviridae* ; gênero: *Potyvirus*); *Rice tungro disease complex* (família: *Secoviridae*; gênero: *Waikavirus*); *Rice yellow mottle sobemovirus* (RYMV, gênero: *Sobemovirus*); *Sweet potato feathery mottle potyvirus* (SPFMV, família: *Potyviridae*; gênero: *Potyvirus*) (RYBICKI, 2015). Como se pode observar, o vírus *Banana streak badnavirus* (BSV), pertencente ao gênero *Badnavirus* é o terceiro colocado, demonstrando sua importância.

A doença *Banana streak virus* (BSV) é considerada uma das mais importantes para a cultura da banana (*Musa spp.*), as espécies *Banana streak GF virus* (BSGFV), *Banana streak IM virus* (BSIMV), *Banana streak MY virus* (BSMYV), *Banana streak VN virus* (BSVNV), *Banana streak UA virus* (BSUAV), *Banana streak UI virus* (BSUIV), *Banana streak UM virus* (BSUMV), *Banana streak UL virus* (BSULV), *Banana streak CA virus* (BSCAV) e *Banana streak OL virus* (BSOLV) já foram identificadas compondo este complexo viral (HARPER; HULL, 1998; JAMES *et al.*, 2011; GEERING; HULL, 2012). São transmitidos principalmente através da propagação vegetativa, ou através de diversas espécies de cochonilhas (*Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae*), porém não são transmitidos mecanicamente (LOCKHART; JONES, 1999). Este vírus também pode causar infecções juntamente com outros vírus. Na Turquia, as espécies BSOLV, BSGFV, e BSIMV já foram identificadas em infecção mista com o *Cucumber*

mosaic virus (CMV), causando faixas cloróticas emosaico nas folhas (FIDAN; KOÇ, 2019).

Outra planta que também é hospedeira de uma ampla gama de badnavírus é o inhame (*Dioscorea* spp.), e o fato de ser reproduzida vegetativamente facilita o acúmulo viral na cultura, fato preocupante principalmente em bancos de germoplasma (KENYON; LEBAS; SEAL, 2008). Na cultura, existem apenas duas espécies aceitas pelo ICTV, o *Dioscorea bacilliform* AL virus (DBALV) e o *Dioscorea bacilliform* SN virus (DBSNV), identificados em *D. alata* e *D. sansibarensis* Pax, respectivamente (GEERING; HULL, 2012). No Brasil, principalmente no Nordeste, o vírus DBALV é responsável por grandes perdas na cultura, sendo a única espécie até então identificada na região, também foi determinado que a variabilidade de sua sequência é alta (LIMA *et al.*, 2013).

Na cultura da batata-doce foram identificados *Sweet potato badnavirus* A e B, sendo coletivamente chamados de *Sweet potato pakakuy virus* (SPPV) (KREUZE *et al.*, 2009). Os SPPV já foram reportados em todos os continentes (MBANZIBWA *et al.*, 2011; KASHIF *et al.*, 2012; MBANZIBWA *et al.*, 2014; MINGOT *et al.*, 2016; QIN *et al.*, 2016), porém pouco se sabe sobre a biologia desse grupo (KREUZE *et al.*, 2017). A sequência completa do genoma de SPPV tem sido reportada contendo 8082nt para SPPV-A (FJ560943) e 7961nt para SPPV-B (FJ560944) (KREUZE *et al.*, 2009). A comparação entre os genomas demonstrou que ambos compartilham 79,5% de identidade e apresentam a mesma região de tRNA-met (TGGTATCAGAGCGAGTAT), um curto “stem-loop” (GGCAGGCTAAGCCTA CC) e uma sequência putativa com uma estrutura secundária (KREUZE *et al.*, 2017). A partir da caracterização do genoma completo foi possível verificar que sua estrutura genômica é semelhante à de um típico badnavírus, com exceção da ORF3 que foi separada em duas metades por uma pequena região não codificadora. A ORF3a codifica a proteína de movimento (MP) e capsídeo (CP) e a ORF3b apresenta os domínios de aspartato protease (PR), transcriptase reversa (RT) e RNaseH (RH). A ORF2 codifica uma proteína associada ao vírion e a ORF1 e 4 ainda são desconhecidas (Figura 4) (KREUZE *et al.*, 2017; ICTV, 2019).

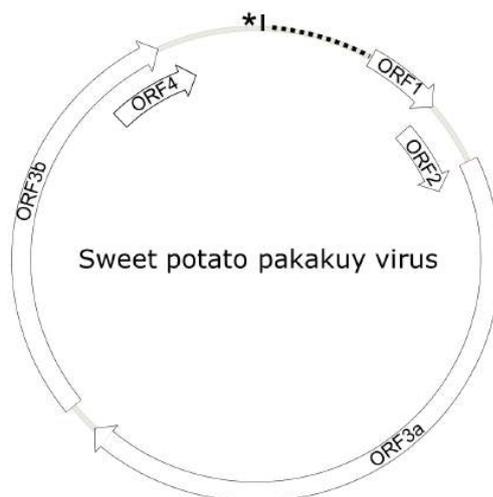


Figura 4. Estrutura do genoma de *Sweet potato pakakuy virus* (SPPV). As setas indicam as ORFs; o asterisco indica a região tRNA-met; a linha vertical preta indica “stem-loop”; a linha pontilhada indica a localização de uma sequência líder prevista. Fonte: KREUZE *et al.*, 2017.

Dos vírus relatados na cultura da batata-doce, a maioria está associada a infecções assintomáticas e, em alguns casos, mesmo na planta indicadora, este resultado também tem sido reportado em infecções ocasionadas por SPPV (GU *et al.*, 2014; KREUZE *et al.*, 2017). Porém, os sintomas podem surgir ou serem agravados quando as plantas são submetidas a estresses (BHAT; HOHN; SELVARAJAN, 2016). O principal meio de disseminação de SPPV é através da propagação vegetativa, sua elevada eficiência de transmissão tem sido comprovada através da enxertia em *I. setosa* (QIN *et al.*, 2016; KREUZE *et al.*, 2017). No entanto, também podem ser transmitidos através de sementes e por vetores, como cochonilhas e algumas espécies de afídeos, de forma semi-persistente (KREUZE *et al.*, 2017; ICTV, 2019).

Fora a identificação no Peru (KREUZE *et al.*, 2009), o SPPV também foi encontrado na Tanzânia (MBANZIBWA *et al.*, 2011), em Honduras e Guatemala (KASHIF *et al.*, 2012), na China (QIN *et al.*, 2016), na Espanha (MINGOT *et al.*, 2016), e recentemente na África do Sul (NHLAPO *et al.*, 2018b). Ainda não há relatos da presença deste vírus na cultura da batata-doce no Brasil.

Além das doenças causadas pelas espécies isoladas, pode-se ter a ocorrência de infecções causadas por complexos virais e interações sinérgicas,

que podem influenciar no sintoma (VALVERDE; CLARK; VALKONEN, 2007). Como citada anteriormente, a doença complexa mais conhecida entre as espécies de badnavírus é a *Banana streak virus* (BSV). No entanto, Mbanzibwa e colaboradores (2014) realizaram uma pesquisa para a avaliação da distribuição de SPPV e SPSMV-1 e verificaram que esses vírus estavam amplamente espalhados e co-infectando plantas sintomáticas e assintomáticas de batata-doce na Tanzânia. Portanto, o estudo aprofundado de ambas as espécies se torna essencial para o entendimento da ação dos mesmos na planta hospedeira.

2.5. Cultura do Feijão guandu

O feijão guandu [*Cajanus cajan* (L.) Millsp.] é uma leguminosa arbustiva perene, pertencente à família *Fabaceae* (ou *Leguminosae*), cultivada principalmente nas regiões subtropicais e semi-áridas da Ásia, África e América (VAN DER MAESEN, 1990). A planta é um arbusto ereto, que dependendo do cultivar pode chegar a 4 m de altura; suas folhas são trifoliadas com 4 a 10 cm; as flores podem apresentar coloração amarelo ou amarelo-alaranjado; as vagens indeiscentes, com formato oblongo, podem apresentar coloração verde, marrom ou púrpura, com duas a nove sementes redondas por vagem (SEIFFERT; THIAGO, 1983; SOUZA *et al.*, 2007).

É considerada uma planta rústica, não sendo exigente quanto à fertilidade e tipo de solo. Caracteriza-se por ser tolerante tanto a seca quanto o frio, e produz quantidade significativa de biomassa mesmo em solos degradados, sendo uma excelente opção de uso na recuperação de solos nessas condições (FLORENTIN *et al.*, 2010). A principal maneira de consumo do feijão guandu é como as ervilhas partidas, porém, suas sementes e as vagens imaturas também podem ser consumidas como vegetal verde (QIAO *et al.*, 2011).

O feijão guandu é uma fonte rica de nutrientes como: proteínas, carboidratos, minerais e vitaminas, ideais para a nutrição humana, principalmente em dietas vegetarianas (TALARI; DEVINDRA, 2018). Além de seu valor nutricional, o guandu também possui várias propriedades medicinais

para tratar diabetes, colesterol, obesidade, varíola, catapora, sarampo, prevenção do câncer, entre outros (AMALRAJ; IGNACIMUTHU, 1998; SINGH; BASU, 2012; TALARI, DEVINDRA, 2018).

Além disso, suas folhas e caules também são utilizados como forragem para alimentar animais, pois apresentam um elevado teor protéico, e suas vagens e folhas possuem alta digestibilidade. Favorece o aumento da produtividade e possibilita a redução de custos, pois permite reduzir a quantidade de alimento concentrado, sem apresentar efeitos negativos no desempenho de novilhas (RODRIGUES *et al.*, 2004). Geralmente são cultivadas em consócio com gramíneas, proporcionando um aumento no crescimento devido sua elevada capacidade de fixação de nitrogênio, bem como, na palatabilidade das gramíneas (BONAMIGO, 1999).

É uma importante cultura para a agricultura de subsistência, pois seu retorno econômico pode vir de todas as partes da planta. Além de ser tolerante a seca, apresenta resiliência frente a vários estresses, e outro fator que contribui ainda mais é a capacidade de enriquecer solos degradados, tornando-se uma cultura de grande interesse, principalmente para pequenos agricultores asiáticos e africanos (SAXENA, 2006). Por este motivo, o feijão guandu também tem sido muito utilizado para a adubação verde, pois possui o sistema radicular profundo e ramificado, o que possibilita uma maior fixação de nitrogênio e produção de massa, conseqüentemente, fornecendo grandes quantidades de matéria orgânica e nutrientes, melhorando as condições físicas e biológicas do solo (PAULO *et al.*, 2006).

A produção mundial de feijão guandu em 2017 foi de 6.807.550 t, sendo que, somente o continente Asiático produziu 5.686.583 t, tendo a Índia como produtor destaque, com 4.870.000 t, seguido por Mianmar com 798.689 t. Na África, Malawi (470.653 t), Tanzânia (279.210 t), Quênia (201, 289 t) e Haiti (121.700 t) foram os maiores produtores. Nas Américas e Caribe, a maior produção foi obtida na República Dominicana (22.962 t), seguida por, Panamá (1.986 t), Venezuela (862 t) e Colômbia (698 t) (FAO, 2017).

No Brasil, o feijão guandu é cultivado nas regiões semi-áridas em consócio com outras culturas para a produção de grãos em sistemas agrícolas de base familiar, e em outras regiões é cultivado em quintais domésticos nas

periferias de cidades do interior do Nordeste, ambos com propósito de serem utilizados na alimentação humana e animal, bem como, para complemento da renda familiar quando vendidos em feiras livres (SOUZA *et al.*, 2007; AZEVEDO; RIBEIRO; AZEVEDO, 2007).

No entanto, a produtividade do feijão guandu tem se mantido estagnada nas últimas décadas, podendo ser devido à exposição a estresses bióticos e abióticos, bem como o cultivo em áreas marginais com o uso limitado de insumos e o emprego de práticas ineficientes (VARSHNEY *et al.*, 2012). O feijão guandu também é suscetível a diversas doenças, sendo umas das principais restrições para o potencial de alto rendimento das cultivares (SHARMA; GHOSH; PANDE, 2013).

Mais de 100 patógenos podem atacar o feijão guandu, dentre eles, fungos, oomicetos, bactéria, vírus, nematoides e fitoplasmas. No entanto, nem todos estes patógenos causam danos que levam a perdas econômicas, e geralmente a distribuição de doenças mais relevantes são restritas geograficamente. Até o presente momento, as doenças que causam danos econômicos são: murcha de fusarium (*Fusarium udum* Butler), *Sterility mosaic disease* (SMD), *Pigeonpea sterility mosaic virus* (PPSMV), phytophthora (*Phytophthora drechsleri* f. sp. cajani) e mancha de alternaria (*Alternaria alternata* ((Fr.) Keissler) (KUMAR; SINGH; CHAND, 2016).

2.6. *Alternaria alternata* ((Fr.) Keissler)

Nees von Esenbeck foi o primeiro a descrever o gênero *Alternaria* em 1816. Posteriormente, Keissler (1912) analisando novamente os espécimes, classificou como *A. alternata*, que é tipo reconhecido até hoje para o gênero. Espécies do gênero são encontradas no ar, solo, plantas mortas e sementes, e são capazes de sobreviver em condições adversas, como alta e baixa temperatura, tornando-os adaptáveis (ROTEM, 1994). São classificadas taxonomicamente no Reino Fungi, Filo Ascomycota, Subfilo Pezizomycotina, Classe Dothideomycetes, Ordem Pleosporales, Família Pleosporaceae, Gênero *Alternaria* (Mycobank).

Doenças causadas por fungos pertencentes ao gênero *Alternaria*, estão entre as mais comuns em locais de produção agrícola. Dependendo da cultura atacada, recebe diferentes denominações, como “pinta preta” em solanáceas; “mancha de alternaria” para crucíferas e cucurbitáceas; “mancha púrpura” para aliáceas e “queima das folhas para apiáceas (TOFOLI; DOMINGUES, 2004).

Para as solanáceas, a pinta preta é umas das doenças mais importantes devido às perdas econômicas, afetando a produtividade e a qualidade do produto (PEREIRA; CARVALHO; PINHEIRO, 2013). No cultivo de tangerinas, a mancha marrom causada pelo fungo *A. alternata* f. sp. *citri*, também é uma das doenças principais, causando manchas necróticas em tecidos jovens e a senescência de folhas e frutos (SOUZA *et al.*, 2009). Além disso, a presença do fungo *Alternaria* influencia fortemente na qualidade das sementes, expressando toxinas que afetam o desenvolvimento fisiológico das mesmas (JAJOR; KOZLOWSKA; WOJTOWICZ, 2012).

Para realizar a identificação precisa de espécies de *Alternaria*, se torna essencial a combinação da caracterização morfológica com as técnicas moleculares. A detecção destes organismos é realizada através de alguns métodos básicos que são baseados principalmente em abordagens microscópicas, morfológicas e culturais, e demandam tempo, trabalho, conhecimento extensivo e taxonomia clássica (NILSSON *et al.*, 2011). A caracterização morfológica inclui o comprimento do conidióforo primário, forma do conídio, tamanho do conídio primário e o arranjo de ramificações conidiais (SIMMONS; ROBERTS, 1993).

Os métodos baseados em ácido nucléico são capazes de detectar o patógeno em quantidades extremamente pequenas e permitem estabelecer a qual espécie está intimamente relacionada (ASLAM *et al.*, 2017). Um dos métodos moleculares mais comumente utilizados para detecção, identificação e classificação de patógenos é a reação em cadeia da polimerase (PCR), através da sequência da região do espaçador interno transcrito (ITS) (SIMMONS, 2007). No entanto, para algumas espécies, somente a região ITS não é suficiente para fornecer resultados precisos e específicos, sendo necessária a utilização de primers que amplifiquem outras regiões.

A mancha de alternaria, causada pelo fungo *A. alternata*, é uma das principais doenças do feijão guandu. Este patógeno pode causar sérios problemas nas planícies do nordeste da Índia em colheitas semeadas tardiamente, ou quando ocorrem na estação pós-seca. A ocorrência da doença é acentuada por temperaturas mais quentes e pela umidade elevada, pois favorece a esporulação do fungo (SHARMA; GHOSH; PANDE, 2013). No Brasil ainda não há relatos desta doença.

Inicialmente os sintomas aparecem como pequenas manchas necróticas com formato circular, porém, se expandem rapidamente formando anéis tipicamente concêntricos, e podem ocorrer em todas as partes da planta. Além das manchas, a doença pode evoluir levando a uma severa desfolhação e os galhos infectados podem secar totalmente (REDDY *et al.*, 2012; SHARMA; GHOSH; PANDE, 2013). Pouco se sabe sobre os danos deste patógeno sobre a cultura, porém na Índia foi relatada uma redução de 40 a 50% no rendimento de cultivo em decorrência da doença (KUSHWAHA *et al.*, 2010).

O fungo *A. alternata* no feijão guandu, apresenta abundante produção de micélios, com coloração bronzeada, ramificados e septados. Conidióforos simples de coloração castanho-oliva; com comprimentos variáveis e a presença de conídios terminais (únicos ou em curtas cadeias). Os conídios jovens apresentam formato estreitamente elíptico, com a presença de três a sete septos transversais, e um a cinco septos longitudinais, com cadeias contendo 5 a 15 conídios. Os conídios, quando maduros, apresentam tamanho de 10 - 30 x 5 - 12 µm, podendo ou não apresentar um bico cônico, com formato elipsoidal a ovóide, alongado, em cadeias ramificadas. Também realizaram a identificação através da técnica de PCR utilizando os primers ITS1 e ITS4 (SHARMA; GHOSH; PANDE, 2013). Portanto a utilização de métodos combinados se torna necessária para uma identificação precisa do patógeno, favorecendo a tomada de decisão quanto às estratégias de controle a serem empregadas.

Como existem muitas culturas de importância econômica que são afetadas por diversas espécies de *Alternaria*, há uma grande necessidade de controle efetivo deste patógeno. A princípio, deve-se evitar o plantio de cultivares suscetíveis em áreas onde possa ter resíduos infectados de um

plântio anterior. Estes resíduos precisam ser incorporados no solo, sendo também necessária adubação equilibrada, principalmente de potássio. Para o controle são utilizados produtos químicos, agentes de controle biológico, como bactérias e fungos, assim como plantas e resíduos vegetais (MAMGAIN; ROYCHOWDHURY; TAH, 2013).

Para o controle químico os fungicidas mancozeb, clorotalonil e iprodiona foram eficazes na inibição do crescimento micelial do patógeno *Alternaria tenuissima* no feijão guandu (BALAI *et al.*, 2018). Para o controle biológico de *Alternaria alternata* em *Aloe vera* foram utilizados duas estirpes de rizobactérias com o potencial de reduzir a gravidade da doença, assim como o fungicida mancozeb mesmo em baixas concentrações (GHOSH *et al.*, 2016).

Artigo 1 – Plant Disease [Publicado 103 (2019) 593]

1 **First Report on *Sweet Potato Symptomless Virus 1* in *Ipomoea batatas* in State of**
2 **Rio Grande do Sul, Brazil**

3
4 **S. L. S. P. Maich, M. B. Nascimento, C. G. Neves, I. T. Souza Junior**, Universidade
5 Federal de Pelotas - UFPel, Pelotas - 96010-900, RS, Brazil. **F. N. da Silva**,
6 Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, Lages – 88.520-000, SC, Brazil.
7 **D. R. Barros**, Universidade Federal de Pelotas - UFPel, Pelotas - 96010-900, RS,
8 Brazil.

9
10 The sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) crop is affected by more than 30 viruses,
11 half of which are DNA viruses of the families *Geminiviridae* (15)
12 and *Caulimoviridae* (3) (Clark *et al.* 2012). Recently, a new virus in the
13 genus *Mastrevirus* (family *Geminiviridae*), *Sweet potato symptomless virus 1* (SPSMV-
14 1), has been detected in Peru (Kreuze *et al.* 2009), Tanzania (Mbanzibwa *et al.* 2011),
15 and several countries in Central America (Kashif *et al.* 2012). This is the only
16 mastrevirus identified in sweet potato, and the importance of this asymptomatic virus
17 has been studied (Clark *et al.* 2012; Kreuze *et al.* 2009). In this study, a survey of sweet
18 potato fields was conducted in Pelotas, Rio Grande do Sul state, Brazil, to determine the
19 presence and incidence of SPSMV-1. A total of 303 asymptomatic leaf samples of
20 sweet potato local varieties were randomly collected from different producing regions in
21 Pelotas rural zone (districts 3, 6, and 9) between February and May of each year (2013
22 and 2014). Total DNA was extracted from leaves using the cetyltrimethylammonium
23 bromide method (Doyle 1991), followed by polymerase chain reaction (PCR) using
24 specific primers for mastrevirus MastvkF (5'-GACAGACCCCTAGGGTGA-3') and
25 MastvsR (5'ACTGCATATAGTACATGCCACA-3') (Mbanzibwa *et al.* 2011), targeting

26 a region within the coat protein and partial movement. A DNA fragment of
27 approximately 430 bp was amplified from 71 of 303 leaf samples tested by PCR and
28 sequenced. The nucleotide sequence was BLAST-analyzed in GenBank and was found
29 to share 69% identity with the sequence of the isolate Z01117 of SPSMV-1 from
30 Uruguay (accession no. KY565234). SPSMV-1 primer pair Detect-1F (5'-
31 CCTAAGTCGTCGTCCGATAG-3') and Detect-1R (5'-
32 TTGAGTCCAGGTAAACTGAGC-3') (Cao *et al.* 2017) amplified an expected 435-bp
33 product in 64 of the 71 field samples. SPSMV-1 virus was detected only in the local
34 variety 'Pé de galinha', which has as the following morphological characteristics: leaves
35 with five lobes and slightly yellowish peel and pulp. The PCR product was cloned into
36 the vector pGEM-T (Promega) and subjected to Sanger sequencing. BLAST analysis of
37 the GenBank nucleotide sequence database showed that the 435-bp sequence obtained
38 (GenBank accession no. MH178369) has 99% identity to that of the sequences of
39 SPSMV-1 from Uruguay (GenBank accession no. KY565234). This is the first report of
40 SPSMV-1 infecting sweet potato in Rio Grande do Sul, Brazil. Further studies should
41 include identifying the strains of this virus isolate through complete genome sequencing
42 and sweet potato variety responses. Furthermore, other studies should identify the
43 vectors of this virus in Brazil and possible other potential species of mastrevirus present
44 in the sweet potato crop because not all samples that tested positive using mastrevirus
45 generic primers were positive for SPSMV-1.

46

47 *References:*

- 48 Cao, M. *et al.* 2017. Arch. Virol. 162:2881.
49 Clark, C. A. *et al.* 2012. Plant Dis. 96:168–185.
50 Doyle, J. 1991. Methods Mol Biol. 57:283.

- 51 Kashif, M. *et al.* 2012. *Plant Dis.* 96:1430.
- 52 Kreuze, J. F. *et al.* 2009. *Virology* 388:1–7.
- 53 Mbanzibwa, D. R. *et al.* 2011. *Plant Dis.* 95:224.

Artigo 2 – Australasian Plant Disease Notes

1 **Genomic characterization of a Brazilian isolate of *Sweet potato symptomless virus 1***

2

3 **S. L. S. P. Maich¹, M. B. Nascimento¹, C. G. Neves¹, I. T. Souza Junior¹, A. F. F. Quadros², F. N. da**
4 **Silva³, D. R. Barros¹**

5 ¹Universidade Federal de Pelotas - UFPel, Pelotas - 96010-900, RS, Brazil.

6 ²Dept de Fitopatologia/BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG 36570-900, Brazil.

7 ³Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, Lages – 88.520-000, SC, Brazil.

8 D. R. Barros- danielle.barros@ufpel.edu.br/(+55)5332757384 - orcid.org/0000-0002-9672-6089)

9

10 **Abstract**

11 The sweet potato crop is affected by several viruses, half of them being recently described as DNA
12 viruses; such as, the *Sweet potato symptomless virus 1* (SPSMV-1) of the genus *Mastrevirus* in the family
13 *Geminiviridae*. A survey of 303 sweet potato samples collected in different districts of Pelotas, Rio
14 Grande do Sul, Brazil allowed the identification and characterization of the SPSMV-1 in the south region
15 of Brazil. The genomic sequences obtained (GenBank Access number MH375686) were almost identical
16 (99%) to the SPSMV-1 sequence from Kenya (Q44429 isolate, access number KY565231). Furthermore,
17 the phylogenetic analysis performed using the complete genomic sequences revealed that SPSMV-1 from
18 Brazil was grouped in a cluster with other mastrevirus dicot-infecting. Thus, this is the first report of the
19 complete genomic sequence of a mastrevirus from Rio Grande do Sul, Brazil. New research, related to the
20 variability of the isolates and the construction of an infectious clone, are necessary for a better
21 understanding of the interaction of this virus with sweet potato plants.

22

23 Keywords: Sweet potato, SPSMV-1, Mastrevirus, complete genome, PCR.

24 Sweet potato culture is affected by more than 30 viruses (Clark *et al.* 2012), including a new virus of the
25 genus *Mastrevirus*, *Sweet potato symptomless virus 1* (SPSMV-1), identified in several countries (Kreuze
26 *et al.* 2009; Mbanzibwa *et al.* 2011; Kashif *et al.* 2012). The genus *Mastrevirus* belongs to the family
27 *Geminiviridae*, and consists of virus that present a single genomic component of single-stranded DNA
28 with 2.6-2.8 kb. These viruses infect monocotyledons and dicotyledons plants and are transmitted by
29 leafhoppers (Muhire *et al.* 2013).

30 In this study it was possible to identify and characterize the complete genome of the SPSMV-1 isolate
31 detected in 303 sweet potato samples collected in different producing city of Pelotas, Rio Grande do Sul
32 state, Brazil. DNA was extracted from leaves using the CTAB method (Doyle & Doyle, 1991). PCR was
33 then performed using specific primers for SPSMV-1, Detect-1F/1R (Cao *et al.* 2017), to obtain the region
34 encoding the coat protein (CP).

35 The approximately 500bp fragment was amplified in 64 of the 303 field samples tested. For cloning, a
36 sample was selected and PCR was performed using the primers Full-4F/4R, amplifying the expected 2600
37 bp fragment (Cao *et al.* 2017). The PCR product was purified and cloned in the pGEM®-T vector
38 (Promega), two clones has been sent for sequencing, performed by the Sanger method, using primers
39 M13F and M13R, the internal sequences of the clones were obtained by "primer walking".

40 Nucleotide sequences were initially analyzed using the BLAST n algorithm, the assembly of nucleotide
41 sequences were carried out using Geneious v.11.1.4. Pairwise sequence comparisons were performed
42 using Sequence Demarcation Tool (SDT) v.1.2 (Muhire *et al.* 2014). Genomic sequences were aligned to
43 using MUSCLE implemented in MEGA v.7.0 (Kumar *et al.* 2016). Phylogenetic trees based on
44 alignments were generated by Bayesian inference using MrBayes v.3.2.6 (Ronquist and Huelsenbeck
45 2003) with nucleotide substitution model selected by MrModeltest v.2.2 (Patil and Fauquet 2009) in the
46 Akaike Information Criterion (AIC). Analyses were carried out for 50,000,000 generations. The first
47 4,000 trees were discarded. The trees were visualized in FigTree.

48 The genomic organization of the SPSMV-1 genome is typical of the mastrevirus that infect
49 dicotyledonous plants, through an analysis in the ORF Finder program, it was possible to identify all
50 ORFs characteristics. In the viral sense was found ORF 1 encoding MP with 261 nt (<1-261), and ORF 2
51 encoding CP with 813 nt (236-1048). In the complementary sense was identified the ORF 3 encoding C3
52 protein with 456 nt (2296-1841), the ORF 4 encoding Rep with 408 nt (1590-1183), and the ORF 5
53 encoding RepA with 960 nt (2345 -1386).

54 In addition to the ORFs, containing two intergenic regions, one long (LIR) and one small (SIR). The LIR
55 region exhibits a stem loop with conserved nonanucleotide sequence ²³⁹⁶TAAGATT↓CC²⁴⁰⁴ (in bold
56 nucleotides are different) according by Cao (2017), that is associated with the site of viral replication,
57 suggesting that this unusual nonanucleotide may be characteristic of the SPSMV-1 species.

58 A phylogenetic tree based on the complete genomic sequences showed that SPSMV-1 (from south region
59 of Brazil) was grouped in the cluster of other isolates of sweet potatoes [Q44429 (KY565231), GWB
60 (KY565232), Z01019 (KY565235), Z01117 (KY565234), Z01046 (KY565233), Z01019 (KY565235)],
61 and dicot-infecting mastreviruses [CpCDV(AM850136), CpCDV (HE610413), CpYV (JN989439),
62 CpYDV (KM377674) and TYDV (M81103)], clearly separated from the monocot-infecting mastrevirus.
63 However, in the dicot-infecting mastreviruses cluster, the Brazilian SPSMV-1 was closer to the sweet
64 potato isolates, forming a distinct branch from the other virus (Fig1).

65 Recombination analysis using RDP4 revealed no evidence of significant recombination events (data not
66 shown). The apparent absence of recombinant findings in SPSMV-1 may be due to the low diversity of
67 dicotic-infecting mastrevirus in Brazil, or alternatively, the lack of co-infections, a prerequisite for
68 recombination.

69 In conclusion, this is the first report of the complete genomic sequence of a mastrevirus from Rio Grande
70 do Sul, Brazil. Additional research, such as variability and construction of an infectious clone, needed to
71 understand the biological significance of this virus in infected sweet potato plants.

72

73 **Acknowledgements** The authors would like to thank the CNPQ - National Council for Scientific and
74 Technological Development - for their financial support.

75 **Compliance with ethical standards**

76 **Conflict of interest**All authors declare that they have no conflict of interest.

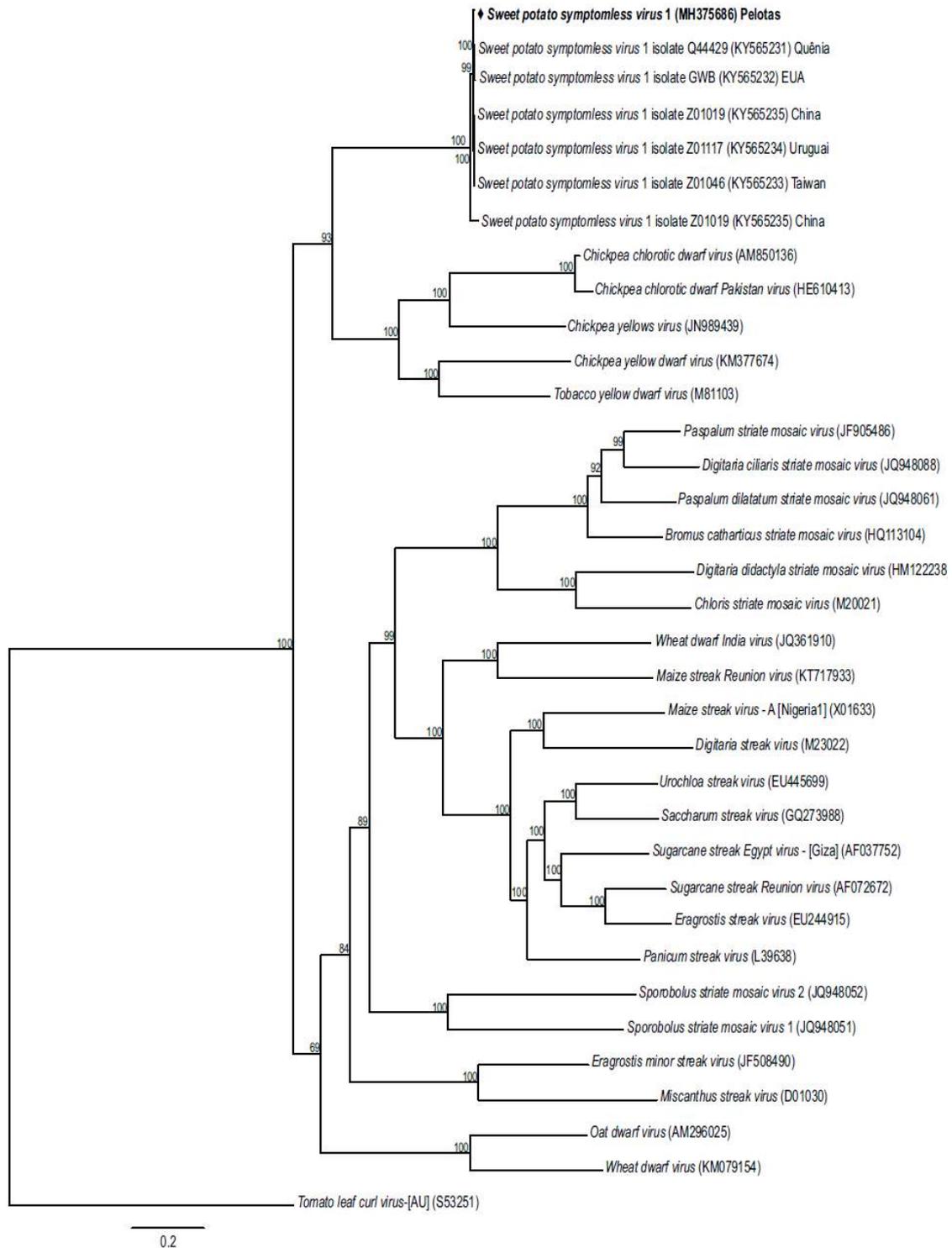
77 **Human and animal rights statement** This study did not contain any research involving human or
78 animal participants.

79 **References**

- 80 1. Clark, C.A., Davis, J.A., Abad, J.A., *et al.* (2012). Sweet potato viruses: 15 years of progress on
81 understanding and managing complex diseases. *Plant Dis* 96, 168–185.
- 82 2. Kreuze, J.F., Perez, A., Untiveros, M., *et al.* (2009). Complete viral genome sequence and discovery
83 of novel viruses by deep sequencing of small RNAs: a generic method for discovery and sequencing of
84 viruses. *Virology* 388, 1–7.
- 85 3. Mbanzibwa, D.R., Tairo, F.D., Gwandu, C., *et al.* (2011). First Report of *Sweet potato symptomless*
86 *virus* 1 and *Sweet potato virusA* in Sweet potatoes in Tanzania. *Plant Dis* 95, 224.
- 87 4. Kashif, M., Pietilä, S., Artola, K., *et al.* (2012). Detection of viruses in Sweet potato from Honduras
88 and Guatemala augmented by deep-sequencing of small-RNAs. *Plant Dis* 96, 1430–1437.
- 89 5. Muhire, B., Martin, D.P., Brown, J.K., *et al.* (2013). A genome-wide pairwise-identity-based proposal
90 for the classification of viruses in the genus *Mastrevirus* (family *Geminiviridae*). *Arch Virol* 158, 1411–
91 1424.
- 92 6. Cao, M., Lan, P., Li, F., *et al.* (2017). Genome characterization of *Sweet potato symptomless virus* 1: a
93 mastrevirus with an unusual nonanucleotide sequence. *Arch Virol* 162, 2881–2884.
- 94 7. Muhire, B.M., Varsani, A., Martin, D.P. (2014). SDT: A virus classification tool based on pairwise
95 sequence alignment and identity calculation. *PLoS One* 9:e108277,
96 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108277>
- 97 8. Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis
98 Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33, 1870–1874.
- 99 9. Ronquist, F., & Huelsenbeck, J.P. (2003). Mrbayes3: Bayesian phylogenetic inference under mixed
100 models. *Bioinformatics* 19,1572–1574.
- 101 10. Patil, B.L., Fauquet, C.M. (2009). Cassava mosaic geminiviruses: Actual knowledge and perspectives.
102 *Mol. Plant Pathol.* 10, 685–701.

103

104 **Fig 1.** Phylogenetic tree of the complete genomic sequences of the Brazilian SPSV-1 (MH375686) and
105 other 32 mastrevirus. The begomovirus (TLCV, *Tomato leaf curl virus*) was used as outgroup. Numbers
106 at the nodes indicate Bayesian posterior probabilities.



Artigo 3 – Archives of Virology

Detection and partial molecular characterization of a Badnavirus isolate in Brazil

Abstract

Sweet potato is one of the most important vegetables in the world, being one of the main sources of nutrients in some countries. Despite being considered a resistant plant, it hosts several pathogens, mainly viruses. Previously, most viruses reported in the crop had a genome composed of RNA, however, in recent years DNA viruses have been highlighted. Among them are the species belonging to the genus *Badnavirus* (family *Caulimoviridae*). Therefore, the aim of the present study was to identify the presence of viral species belonging to the genus *Badnavirus* in sweet potato leaf samples collected in the main producing regions of the city of Pelotas - RS. Through the PCR amplification it was possible to detect 48 positive samples among the 303 samples tested, using degenerate and specific primers for species of the genus. A chosen sample used for analysis with other pairs of specific primers, in order to achieve genome sequences. However, it was not possible to obtain the complete genome sequence, only partial. The generated fragments showed an identity between 72 to 87% when compared to the complete genome of the isolates SPV-A (FJ560943.2) and SPV-B (FJ560944.1), thus demonstrating the great variability that exists between them. Further, studies will be carried out in order to obtain the complete sequence of the genome, to better understand the action of the virus on the plant.

Keywords: Infectious diseases, *Caulimoviridae*, Partial genome, Genetic variability.

Introdução

The sweet potato (*Ipomoea potatoes* (L.) Lam.), is a species belonging to the family Convolvulaceae, originally from Central and South America [1]. It is a perennial species, but it is cultivated as an annual crop, standing out for being a rustic plant, which presents good adaptation, resistance to water deficit and does not require innumerable care with cultural treatments [2, 3]. Sweet potato is the seventh most important food crop in the world and has a major caloric contribution to the human diet [4]. In Brazil, it is one of the main vegetables consumed by the Northeastern population [5].

Despite considered a rustic plant, its method of propagation and the lack of proper management, facilitate the dissemination of pathogens and mainly the appearance of diseases of viral nature [6]. Due to the characteristic of vegetatively propagated, the occurrence of viral infection tends to worsen during successive crops, resulting in the degeneration of the culture [7], as well as the formation of viral complexes that act in synergism, potentiating the disease [8].

There are more than 30 viruses reported infecting sweet potato crops [3]. The largest number of viral species identified in sweet potatoes belongs to the *Geminiviridae* and *Potyviridae* families. Since species belonging to the *Geminiviridae* and *Caulimoviridae* families represent more than half of the viruses with a DNA genome [3, 9, 10].

Some species of the genus *Badnavirus* (family *Caulimoviridae*) may be widely distributed in sweet potatoes, as they have already been identified on all continents, but their impact on culture is still unknown [3, 11]. This genus includes plant viruses that have the genome formed by double-stranded DNA (dsDNA), depending on the species,

the size varies between 7.2 to 9.2 kb, with bacilliform particles of 120 - 150 nm in length and 30 nm in diameter [12].

Badnaviruses are classified as pararetroviruses, that is, they have the ability to integrate into the genome of the host plant, and are called endogenous parametrovirus sequences (Endogenous Pararetroviral Sequences- EPRVs) [13]. They infect a wide range of hosts, and in some cases can cause significant losses in productivity and product quality [12]. Thus, the aim of the present study was to carry out the detection and molecular characterization of Badnavirus infecting sweet potato samples collected in southern Brazil.

Material and methods

This research was carried out from material stored at -20°C, previously analyzed for the presence of viruses with a genome composed of DNA [14]. The collection of 303 symptomatic and asymptomatic sweet potato samples was carried out in 2013 and 2014 in the main producing districts of Pelotas. Leaf samples from different cultivars were collected, as yellow and chicken feet, being the most common. The samples were processed the next day of collection in the field.

The extraction of total DNA was performed for all samples collected individually from leaf discs about 1 cm in diameter according to Doyle & Doyle (1987) [15] and served as a template for the PCR amplification reactions. The remaining of the leaf samples were stored in an ultra-freezer at -80°C.

To detect badnavirus, PCR reactions were performed in a total volume of 25 µl, containing 5 µl of GoTaq®Flexi Buffer, 25 mM MgCl₂, 10 mM dNTPs mixture, 10 mM of each primer, using the primers Bad-FP (5-ATGCCITTYGGIITIAARAAYGCICC-3) and Bad-RP (5-

CCAYTTRCAIACISCICCCCAICC-3) [16], and 1U of GoTaq® Flexi DNA Polymerase, completing the volume with water.

The reaction consisted of an initial denaturation of 94 ° C for 4 min, and then 35 cycles of the denaturation at 94 ° C for 30 s, pairing at 50 ° C for 30 s and extension at 72 ° C for 30 s, followed by a final extension at 72 ° C for 10 s min. The amplified products was analyzed by agarose gel electrophoresis (1% w/v), stained with GelRed™ (Biotium) and visualized through the L-Pix EX photo-documentation system.

Samples that showed fragments from amplification with the Bad-FP and Bad-RP primers were subjected to analysis by a second pair of primers, obtained from the Sweet potato virus B (SPBV-B) sequence, BadnaBKF (5' - CAAATTAGGAGGCAGATAAATG-3) and BadnaBSR (5'-GGTCTTCTTATGTTCCACCTT-3) [17]. The reaction consisted of an initial denaturation of 94 ° C for 4 min, and then 35 cycles of the denaturation at 94 ° C for 60 s, pairing at 47 ° C for 60s and extension at 72 ° C for 60 s, followed by a final extension at 72 ° C for 10 s min. The amplified product was analyzed by agarose gel electrophoresis (1% w / v), stained with GelRed™ and visualized through the L-Pix EX photo-documentation system.

Subsequently, in order to sequence the viral genome, a sample was selected for amplification with specific primers for Badnavirus A and B obtained by Kreuze and collaborators (2009) [18]. It was also necessary to design primers based on the sequences obtained previously to try to complete the genome (Table 1). The amplification products obtained were purified using the Wizard®SV Gel and PCR Clean-Up System kit (Promega), and cloned into the vector pGEM®-T Easy Vector System I (Promega).

Table 1 – List of primers used in the study.

Primer	Sequence	Reference
SPBADNA2 1750F	5'-TCGAGGAATGGTAGGAAGATTATC-3'	Kreuze <i>et al.</i> , 2009
SPBADNA2 3150R	5'-GAGAGACATATGGTTCAGTGTAGTTG-3'	Kreuze <i>et al.</i> , 2009
SPBADNA2 3550F	5'-TGGAACCAAGATCAAGGAAGAA-3'	Kreuze <i>et al.</i> , 2009
SPBADNA 4600R	5'-TCCTGATGCCGATGATATGATCTG-3'	Kreuze <i>et al.</i> , 2009
SPBADNA 4600F	5'-CAGATCATATCATCGGCATCAGGA-3'	Kreuze <i>et al.</i> , 2009
6700F	5'-GTGCGAGTCCTACCCTTCAATCAG-3'	This study
1466R	5'-CTGTTGCGGCCCTGTTCTCCTC-3'	This study
3471F	5'-GGACGGAGGTCGTGTTGTTGTTCC-3'	This study
3863R	5'-CCATAGTACCCTTGAATCGGTATA-3'	This study
Bad-F	5-ATGCCITTYGGIITIAARAAYGCICC-3	Yang <i>et al.</i> , 2003
Bad-R	5-CCAYTTRCAIACISICCCCAICC-3	Yang <i>et al.</i> , 2003
BadnaBKF	5-CAAATTAGGAGGCAGATAAATG-3	Mbanzibwa <i>et al.</i> , 2011
BadnaBSR	5-GGTCTTCTTATGTTCCACCTT-3	Mbanzibwa <i>et al.</i> , 2011

The product of the ligation reaction was used to transform *Escherichia coli* (DH5 α) by the thermal shock method. Colonies containing the possible recombinant plasmids were peaked into liquid Luria Bertani (LB) medium and incubated at 37 °C for 12 h. After incubation, cultures were subjected to mini-preparation of plasmidial DNA by the alkaline lysis method [19] and the resulting DNA analyzed on a 1% agarose gel stained with GelRed™.

Plasmidial DNA samples whose length approached 5000 bp, corresponding to the plasmidial vector linked to the viral genome, were subjected to cleavage with restriction enzymes EcoRI and NotI (Promega), and the electrophoretic pattern was analyzed on an agarose gel (1 %). The samples, in which the fragment was verified according to that obtained via PCR, were sent for sequencing using the Ludwig

Biotecnologia service. After sequencing, the sequences obtained were analyzed on GenBank ([http // www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) to identify the isolates.

Another amplification method used in this study was the RCA (Rolling circle amplification), in order to differentiate between virus sequences and episomal sequence, as well as the amplification of the complete genome. The reaction consisted in use a mix consisting of a template DNA, a mixture of dNTPs, thioprotected primers, specific BadnaBKF primer, bacteriophage phi 29 DNA polymerase enzyme and a buffer solution suitable for enzymatic activity and DNA stability, which was subjected to the isothermal reaction at 30°C for 20 hours and 10 min at 65°C to inactivate the enzyme.

Results and discussion

According to the data observed in this study, in the evaluation with degenerate primers for the identification of badnavirus, of the 303 sweet potato samples analyzed, 48 were positive, presenting an amplified fragment of approximately 600 bp. The positive samples were subjected to amplification with a second pair of primers, specific for SPBV-B, and all of them amplified a fragment of approximately 800 bp.

Despite the relatively expressive number of positive samples, the generated fragment is small to confirm the presence of the virus, since they can also be endogenous pararetroviral sequences (EPRVs). These sequences can be integrated into the plant's genome through illegitimate recombination, and their presence is not necessarily associated with infection [20]. In addition, there are cases in which these sequences, under specific stress conditions, can become pathogenic, resulting in the reconstitution and activation of the viral genome [21].

Kreuze and collaborators (2009) identified two badnavirus isolates in the sweet potato crop in Peru, known as Sweet potato Badnavirus A (SPV-A) and Sweet potato

Badnavirus B (SPV-B), collectively called Sweet potato pakakuy virus (SPPV) [18]. Some primers used by the authors made it possible for us to obtain larger fragments of the genome, so that we could then verify the presence of the virus in the plant and not the EPRVs.

For viral species belonging to the genus Badnavirus, the standard limit established by the ICTV (International Committee of Taxonomy of Virus) is >80% nucleotide identity in the RT/RNaseH region [22]. However, when performing the alignment of the sequences obtained with those deposited on the GenBank, a great variability was observed between the fragments. As for example, the sequence obtained by the primer BadnaBKF and BadnaBSR, compared to other sequences deposited in the GenBank, presented 98% identity with the isolated SPVV-A isolated partial sequence (KT448750.1), staying in position 1 to 861 in the genome, also presented 88% identity with the Hunan-184 isolate (MK052981.1) in position 1433 to 2271 in the genome.

In this way, when comparing the fragment with the sequences that present greater identities, the positions of the fragment in the genome are inserted. Thus, we tried to compare only with the complete sequences contained in the database. When the obtained fragments were compared with the complete sequences of Sweet potato badnavirus A (SPV-A) (FJ560943.2) and SPV-B (FJ560944.1), deposited in GenBank, the identity of the fragments varied between 72 to 87%, thus demonstrating the high variability between them (Table 2, Figure 1).

Table 2 – Fragments obtained from isolates SPV-A and SPV-B

Primer	Identity SPV-A/	Identity SPV-B /
	Position in the genome	Position in the genome
Bad-FP/ Bad-RP	-	76% / 6120-6703
BadnaBKF/ BadnaBSR	87% / 1433-2263	80% / 1467-2327
1750F/3150R	72% / 2152-3409	72% / 2203-3419
3550F/4600R	80% / 3966-5059	77% / 3976-5067
4600F/ Bad-R	75% / 6050-6602	75% / 6013-6586

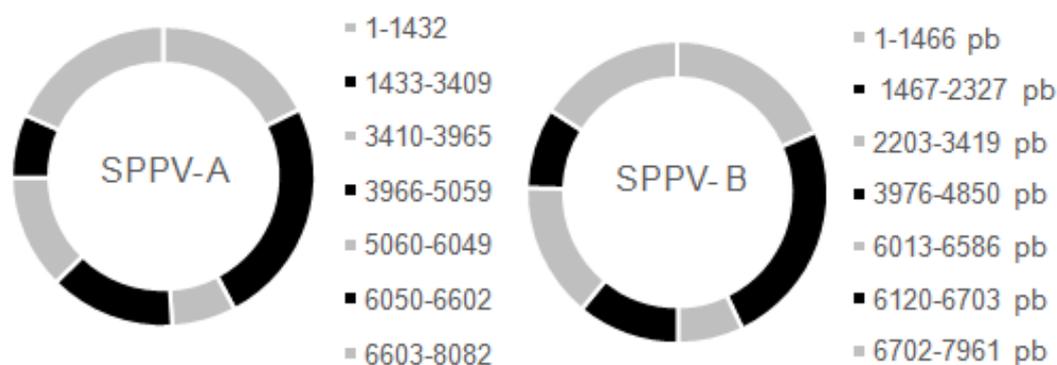


Fig. 1 Schematic representation of the *Badnavirus* sequences obtained in the genome. In black are the sequences obtained.

This high genetic variability previously reported in the complex of viral species responsible for the disease Banana streak viruses (BSVs) in banana plants (*Musa* spp.) [23, 24, 25], as well as for the virus *Dioscorea bacilliform* AL virus (DBALV) in the yam crop (*Dioscorea* spp.) [26]. In the sweet potato crop, in addition to the low SPPV concentration, an expressive sequence variation in different genotypes has also been

reported, as well as infection by more than one species of the virus in several genotypes, suggesting an active evolution of the SPPV virus [10].

However, primers designed to close some gaps in the genome amplified the plant's genome, making it impossible to obtain the complete genome. The identification of badnavirus species is still a challenge, because one of the most widely used amplification techniques is PCR, which makes it difficult to differentiate between episomal and integrated forms of the virus [27]. EPRVs are present in different host species, considered the most abundant class of endogenous viral sequences [28].

RCA is a method that has been used frequently lately, due to its high efficiency to differentiate endogenous and episomal sequences from badnavirus, making it possible to overcome the diagnosis deficiency via PCR [29]. Therefore, the same sample submitted to the PCR technique was also used in this method, and it was possible to obtain a fragment of approximately 8000 bp, thus reinforcing the presence of the virus in the host.

Both SPV-A and SPV-B have already been identified in Honduras, Guatemala [30], and Tanzania [31]. In China, out of 200 samples collected in several provinces, in 34 of them the presence of Sweet potato badnavirus A (SPBV-A) was reported [32]. In Brazil, this is the first report of Badnavirus in the sweet potato crop, requiring in-depth studies regarding the damage caused by this pathogen in the sweet potato crop. New sequences are being provided in order to obtain larger fragments for the assembly of the complete genome of the isolate.

Thus, the need to acquire or maintain propagating material of good sanitary quality and thus guarantee productivity is reinforced, this information is also important for the development of control strategies and understanding of the diversity of viruses present in the culture for the sampled region.

Acknowledgements The authors would like to thank the CNPQ - National Council for Scientific and Technological Development - for their financial support.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest All authors declare that they have no conflict of interest.

Referências Bibliográficas

1. LOEBENSTEIN G, THOTTAPPILLY G (2009). The Sweet potato. Dordrecht, The Netherlands, Springer Sciences Business Media BV
2. MONTES SMNM, FIRETTI R, GOLLA AR, TARSITANO MAA (2008) Custos e rentabilidade da batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) na região oeste do estado de São Paulo: estudo de caso. Infobibos. http://www.infobibos.com/Artigos/2008_1/batata/index.htm
3. CLARK CA, DAVIS JA, ABAD JA, CUELLAR WJ, FUENTES S, KREUZE JF, GIBSON RW, MUKASA SB, TUGUME AK, TAIRO FD, VALKONEN JPT (2012) Sweet potato Viruses: 15 Years of Progress on Understanding and Managing Complex Diseases. Plant Disease, Saint Paul, v. 96(2): 168-185.
4. SHEKHAR S, MISHRA D, BURAGOHAIR AK, CHAKRABORTY S, CHAKRABORTY N (2015) Comparative analysis of phytochemicals and nutrient availability in two contrasting cultivars of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). Food Chemistry 173: 957-965. Doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.172.
5. OLIVEIRA MKT, NETO FB, CÂMARA FA, DOMBROSKI JLD, FREITAS RMO (2008) Multiplicação *in vitro* de batata-doce (*Ipomoea batatas* Lam). Revista Caatinga 21 (4): 129-134.
6. VALVERDE RA, CLARK CA, VALKONEN JPT (2007) Viruses and virus disease complexes of sweet potato. Plant Viruses 1: 116-126.
7. KROTH LL, DANIELS J, PIEROBOM CR (2004) Degenerescência da batata-doce no Rio Grande do Sul. Revista Brasileira Agrociência 10 (1): 79-82.
8. UNTIVEROS M, FUENTES S, SALAZAR LF (2007) Synergistic interaction of *Sweet potato chlorotic stunt virus* (Crinivirus) with Carla-, Cucumo-, Ipomo-, and Potyvirus infecting sweet potato. Plant Disease 91(6): 669-676.

9. WYLIE SJ, ADAMS M, CHALAM C, KREUZE J, LÓPEZ-MOYA JJ, OHSHIMA K, PRAVEEN S, RABENSTEIN F, STENGER D, WANG A, ZERBINI FM & ICTV REPORT CONSORTIUM (2017) ICTV Virus Taxonomy Profile: *Potyviridae*. Journal of General Virology 98: 352-354.
10. ZERBINI FM, BRIDDON RW, IDRIS A, MARTIN DP, MORIONES E, NAVAS-CASTILLO J, RIVERA-BUSTAMANTE R, ROUMAGNAC P, VARSANI A, and ICTV Report Consortium (2017) ICTV Virus Taxonomy Profile: *Geminiviridae*, Journal of General Virology 98: 131–133.
11. KREUZE JF, PEREZA, GALVEZA M, CUELLAR WJ (2017) Badnaviruses of sweet potato: symptomless co-inhabitants on a global scale. BioRxiv. Doi: <http://dx.doi.org/10.1101/140517>
12. BHAT A, HOHN T, SELVARAJAN R (2016) Badnaviruses: The Current Global Scenario. Viruses 8: 177.
13. STAGINNUS C, ISKRA-CARUANA ML, LOCKHART B, HOHN T, RICHERT-PÖGGELER KR (2009) Suggestions for a nomenclature of endogenous pararetroviral sequences in plants. Archives of Virology 154: 1189–1193.
14. MAICH, SLSP (2015) Levantamento e caracterização molecular parcial de begomovírus infectando batata-doce nos principais distritos produtores da região de Pelotas- RS. 44f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.
15. DOYLE JJ, DOYLE JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. Phytoch Bull 19: 11–15.
16. YANG IC, HAFNER GJ, REVILL PA, DALE JL, HARDING RM (2003) Sequence diversity of South Pacific isolates of taro bacilliform virus and the development of a PCR-based diagnostic test. Arch Virol 148:1957- 1968.

17. MBANZIBWA DR, TAIRO F, GWANDU C, KULLAYA A, VALKONEN JPT (2011) First report of *Sweet potato symptomless virus 1* and *Sweet potato virus A* in sweet potatoes in Tanzania. *Plant Disease* 95: 224.
18. KREUZE JF, PEREZ A, UNTIVEROS M, QUISPE D, FUENTES S, BARKER I, SIMON R (2009) Complete viral genome sequence and discovery of novel viruses by deep sequencing of small RNAs: a generic method for discovery and sequencing of viruses. *Virology* 388: 1–7.
19. SAMBROOK J, RUSSEL D (2001) *Molecular Cloning - A Laboratory Manual* (3 ed.). Cold Spring Harbor, NY. Cold Spring Harbor Laboratory Press
20. GEERING ADW, POGGIN MM OLSZEWSKI NE, LOCKHART BEL, THOMAS JE (2005) Characterisation of banana streak mysore virus and evidence that its DNA is integrated in the B genome of cultivated *Musa*. *Archives of Virology* 150(4):787- 796.
21. NDOWORA TDG, DAHAL G, LAFLEUR D, HARPER G, HULL R, OLSZEWSKI NE LOCKHART B (1999) Evidence that badnavirus infection in *Musa* can originate from integrated pararetroviral sequences. *Virology* 255: 214-220.
22. GEERING ADW, HULL R (2012) Family *Caulimoviridae*, in: KING AMQ, ADAMS MJ, CARSTENS EB, LEFKOWITZ E J (Eds.), *Virus Taxonomy*. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, Amsterdam, The Netherlands, pp 429–443
23. HARPER G, HULL R (1998) Cloning and sequence analysis of *Banana Streak Virus* DNA. *Virus Genes* 17: 271-278.
24. HARPER G, HART D, MOULT S, HULL R., GEERING A & THOMAS J (2005) The diversity of *Banana streak virus* isolates in Uganda. *Archives of Virology* 150(12): 2407–2420.

25. FIGUEIREDO DV, MEISSNER FILHO PE, SILVA NETO SP, BRIOSO PST (2006) Detecção e análise da variabilidade de sequências do *Banana streakvirus* (BSV) em bananeiras no Brasil. *Summa Phytopathologica* 32:118-23.
26. LIMA JS, LIMA ATM, CASTILLO-URQUIZA GP, SILVA SJC, ASSUNÇÃO IP, MICHEREFF SJ, ZERBINI FM, LIMA GSA (2013) Variabilidade genética de isolados de badnavírus infectando inhame (*Dioscorea* spp.) no nordeste do Brasil. *Tropical Plant Pathology* 38(4): 349-353.
27. BOUSALEM M, DURAND O, SCARCELLI N, LEBAS BSM, KENYON JL, MARCHAND L, LEFORT F, SEAL SE (2009) Dilemmas caused by endogenous pararetroviruses regarding the taxonomy and diagnosis of yam (*Dioscorea* spp.) badnaviruses: analyses to support safe germplasm movement. *Archives of Virology* 154: 297–314.
28. GAYRAL P ISKRA-CARUANA M (2009) Phylogeny of *Banana streak virus* reveals recent and repetitive endogenization in the genome of its banana host (*Musa* sp.). *Journal of Molecular Evolution* 69: 65-80.
29. JAMES AP, GEIJSKES RJ, DALE JL, HARDING RM (2011) Development of a novel rolling-circle amplification technique to detect *Banana streak virus* that also discriminates between integrated and episomal virus sequences. *Plant Disease* 95: 57-62.
30. KASHIF M, PIETILÄ S, ARTOLA K, JONES RAC, TUGUME AK, MÄKINEN V, VALKONEN JPT (2012) Detection of viruses in sweet potato from Honduras and Guatemala augmented by deep-sequencing of small-RNAs. *Plant Dis* 96: 1430-1437.
31. MBANZIBWA DR, TUGUME AK, CHIUNGA E, MARK D, TAIRO FD (2014) Small RNA deep sequencing-based detection and further evidence of DNA viruses infecting sweet potato plants in Tanzania. *Ann Appl Biol* 165:329–339.

32. QIN YH, LI XC, ZHANG ZC, QIAO Q, ZHANG DS, WANG YJ, TIAN YT, WANG S (2016). First Report of *Sweet potato badnavirus A* in China. *Plant Dis* 100: 865.

Artigo 4- Plant Disease

1 **First Report of *Alternaria alternata* in *Pigeonpea* in Brazil**

2

3 **S. L. S. P. Maich, C. G. Neves, I. T. Souza Junior, C. Belle, P. R. Meneses, C. J.**
4 **Farias, D. R. Barros**, Universidade Federal de Pelotas - UFPel, Pelotas - 96010-900,
5 RS, Brazil.

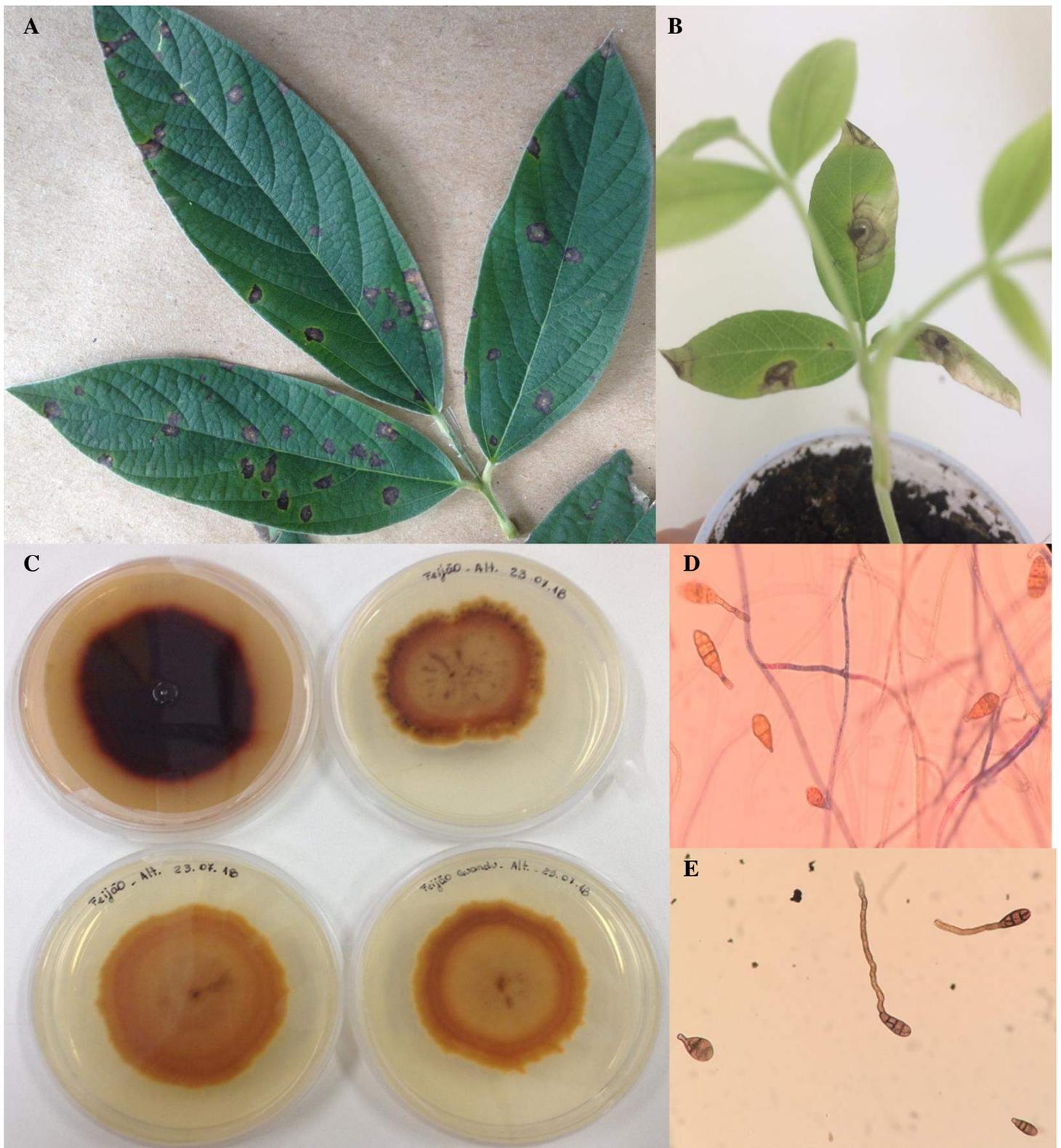
6

7 Pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millsp] is a perennial shrub legume, belonging to the
8 family Fabaceae, cultivated in semi-arid tropical and subtropical regions of Asia, Africa
9 and America (Van der Maesen, 1990). In August 2018, infected plants of pigeonpea
10 with symptoms of alternate spot were obtained from the plantations in the municipality
11 of Pelotas, Rio Grande do Sul state, Brazil. On the leaves, the initial symptoms form
12 small circular necrotic points, which develop into concentric rings and coalesce as they
13 develop. Initially the spots are light brown in color, with the development of the disease
14 become dark brown. These spots were also observed on the stems, forming the
15 concentric rings. The progression of the disease causes serious defoliation, dry leaves,
16 stains on the pods and can lead to death. Lesions were isolated from leaves samples and
17 cultured on solid medium potato-dextrose-agar (PDA) that had been surface-disinfected
18 (70% ethanol for 30 s and 1% NaClO for 1 min, followed by rinsing twice in sterile
19 water and drying on sterilized filter paper). Colonies on PDA exhibited branched,
20 septate, brownish mycelium. The color of the colony on the reverse side was initially
21 light brown and later turned darker brown were consistently observed after 7 days at
22 25°C under 12-h light and dark. The 7- to 10-day-old monoconidial culture (n=50
23 conidia) grown on plate agar medium produced conidia that were dark brown,
24 obclavate, ovoid or ellipsoid, with three to five transverse and zero to two longitudinal
25 septa, and measured 11.1 to 37.2 (average 17) × 6.2 to 11.4 (average 8.3) µm.

26 Sometimes a pale light bright to brown beak, was observed. On the basis of
27 morphological characteristics, the pathogen was identified as *Alternaria* sp. (Simmons
28 2007). Further diagnostic information was obtained by sequencing partial internal
29 transcribed spacers (ITS), elongation factor (EF), and glyceraldehyde-3-phosphate
30 dehydrogenase (GAPDH) genes of a representative isolate, using the method and
31 primers described by Woudenberg *et al.* (2013). Sequences of the studied DNA regions
32 were submitted to GenBank (ITS: MN199089; EF: MN970210; GAPDH: MN970209).
33 BLAST searches showed 99,16% - 99,64% identity with sequences of *Alternaria*
34 *alternata* (GAPDH: MN044655.1; ITS: MK518403.1; EF: MK340863.1). For the
35 pathogenicity test, mycelium discs containing the fungus were cut and the leaf wounded
36 with a needle, placing the disc over the wound (three replications). The experiment was
37 performed twice. The same number of uninoculated plants was used as a control. After
38 inoculation, the plants were placed in plastic boxes and maintained at 25°C in an
39 incubator with constant relative humidity of 80% and a 12-h photoperiod. Ten days after
40 inoculation, all inoculated plants showed stem spot symptoms, which were similar to
41 the symptoms previously observed in the field. The uninoculated plants remained
42 symptomless. The fungus re-isolated from inoculated stems exhibited the same
43 morphological and molecular traits as the initial isolate. To our knowledge, this is the
44 first report of alternate spot caused by *A. alternata* in pigeonpea in Brazil. This disease
45 can seriously affect pigeonpea quality and yield, so effective measures should be
46 implemented to control it.

47 Reference:

- 48 Simmons, E. G. 2007. CBS Fungal Biodiversity Centre.
49 Van der Maesen, L.J.G. 1990. CAB International, Wallingford, 15-46.
50 Woudenberg, J. H. C., *et al.* 2013. *Stud. Mycol.* 75:171.



Supplementary Figure 1. (A) Symptoms of diseased leaves caused by *Alternaria alternata* in *Pigeonpea*; (B) symptom in the leaves obtained in the postulate; (C) Color of the colony on the reverse side; (D, E) Conidia.

4. Conclusões

No estudo de avaliação da presença de vírus com genoma de DNA, pode-se concluir que nas lavouras das principais regiões produtoras de batata-doce em Pelotas, a presença de mastrevírus e badnavírus. Das 303 amostras analisadas, 71 amostras estavam infectadas com *Mastrevirus* e 48 com *Badnavirus*, e em 26 delas foi possível identificar a presença de ambas as espécies virais, todas na cultivar conhecida como pé-de-galinha. Além disso, a partir deste diagnóstico foi possível obter a caracterização molecular completa do isolado *Sweet potato symptomless mastrevirus 1* (SPSMV-1) (*Mastrevirus*, *Geminiviridae*), e a sequência parcial de um vírus pertencente ao gênero *Badnavirus*, que se apresentou altamente variável quando comparado a outros dois isolados com sequência completa depositada no GenBank.

Por fim conclui-se que *Alternaria alternata* [(Fr.:Fr.) Keissl.] está presente na cultura do feijão guandu como agente causal da doença mancha de alternaria. Foi constatado que esta doença pode afetar seriamente a cultura, já que todas as plantas analisadas morreram, portanto, a implementação de medidas fitossanitárias eficazes, se tornam essenciais para o controle deste patógeno.

5. Considerações finais

Durante as análises para a detecção de ambos os vírus, foi possível verificar que, além da ampla disseminação de vírus com genoma de DNA, algumas amostras estavam infectadas por ambas as espécies virais. Demonstra-se assim, a importância de estudos futuros na recuperação do genoma completo e a caracterização molecular de badnavírus, bem como o conhecimento da ação de ambas as espécies virais na planta hospedeira.

Os dados obtidos neste trabalho servirão como base para estudos adicionais na compreensão da ação destes vírus na planta, bem como no conhecimento da diversidade de vírus presente na cultura para a região amostrada. Além disso, auxiliará no desenvolvimento de estratégias de controle para ambos os patógenos, reforçando a necessidade de adquirir ou manter o material propagativo de boa qualidade sanitária e assim garantir a produtividade.

Referências Bibliográficas

ADIKINI, S.; MUKASA, S. B.; MWANGA, R. O. M., GIBSON, R. W. Sweet potato cultivar degeneration rate under high and low sweet potato virus disease pressure zones in Uganda. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 37, p. 136-147, 2015. DOI: 10.1080/07060661.2015.1004111

AGBEDE, T. M. Tillage and fertilizer effects on some soil properties, leaf nutrient concentrations, growth and sweet potato yield on an Alfisol in southwestern Nigeria. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 10, n. 1, p. 25- 32, 2010.

AHLAWAT, Y. S.; PANT, R. P.; LOCKHART, B. E. L.; SRIVASTAVA, M.; CHAKRABORTY, N. K. & VARMA, A. Association of a badnavirus with *Citrus mosaic disease* in India. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 80, p. 590-592, 1996.

ALBUQUERQUE, L. C.; INOUE-NAGATA, A. K.; PINHEIRO, B.; RESENDE, R. O.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J. Genetic diversity and recombination analysis of sweepviruses from Brazil. **Virology Journal**, v. 9, p. 241-254, 2012.

ALBUQUERQUE, L. C.; INOUE-NAGATA, A. K.; PINHEIRO, B.; RIBEIRO, S. D. G.; RESENDE, R. O.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILHO, J. A novel monopartite begomovirus infecting sweet potato in Brazil. **Arch Virol**, v. 156, p.1291–1294, 2011.

ALEGBEJO, M., OLOJEDE, S., KASHINA, B. & ABO, M. *Maize streak mastrevirus* in Africa: distribution, transmission, epidemiology, economic significance and management strategies. **Journal of Sustainable Agriculture**, v. 19, p. 35–45, 2002. Doi: 10.1300/J064v19n04_05.

ALLEYNE, A.T.; CUMMINS, C.; ROWE, K.; JAMES, M.; GUTIÉRREZ, D. L.; FUENTES, S. Sequencing and assembly of small RNAs reveal the presence of several begomoviruses, potyviruses, badnaviruses and mastreviruses in the sweet potato leaf virome in Barbados. **J Plant Pathol**, v. 101, p. 339–347, 2019.

AMALRAJ, T.; IGNACIMUTHU, S. Evaluation of the hypoglycemic effect of *Cajanus cajan* (seeds) in mice. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 36, p. 1032-1033, 1998.

AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. & BERGAMIN FILHO, A. eds. Manual de Fitopatologia. Volume 1 - Princípios e Conceitos. 4ª Edição. Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo. 2011. 704p.

ASLAM, S.; TAHIR, A.; ASLAM, M. F.; ALAM, M. W.; SHEDAYI, A. A.; SADIA, S. Recent advances in molecular techniques for the identification of phytopathogenic fungi – a mini review, **Journal of Plant Interactions**, v. 12 (1), p. 493-504, 2017. DOI: 10.1080/17429145.2017.1397205

AZEVEDO, R. L.; RIBEIRO, G. T.; AZEVEDO, C. L. L. Feijão Guandu: Uma Planta Multiuso. **Revista da Fapese**, v.3, n. 2, p. 81-86, 2007.

BALAI, L.; SINGH, R.; SINHA, A. Evaluation of different fungicides and antagonists In vitro and In vivo condition against *Alternaria blight* of pigeonpea. Legume research - an International Journal, 2018. Doi: 10.18805/LR-3962

BANKS, G. K.; BEDFORD, I. D.; BEITIA, F. J.; RODRIGUEZ-CEREZO, E.; MARKHAM, P. G. A Novel Geminivirus of *Ipomoea indica* (*Convolvulaceae*) from Southern Spain. **Plant Disease**. Scientific Societies, v. 83, p. 486, 1999.

BARZON, L.; LAVEZZO, E.; MILITELLO, V.; TOPPO, S. & PALÙ, G. Applications of Next-generation sequencing technologies to diagnostic virology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, p. 7861-7884, 2011.

BERNE, Strategy 2017 – 2020 Global Programme Food Security. Swiss Agency for Development and Cooperation (SDC), 2017. https://www.shareweb.ch/site/Agriculture-and-Food-Security/sdcccontext/Documents/sdc_strategy_gp_food_security.pdf

BHAT, A.; HOHN, T.; SELVARAJAN, R. Badnaviruses: The Current Global Scenario. **Viruses**, v. 8, p. 177, 2016.

BONAMIGO, L. A. Recuperação de pastagens com guandu em sistema de plantio direto. Informações Agronômicas (Encarte Técnico Potafos), nº 88, 8 p., 1999.

BOUSALEM, M.; DURAND, O.; SCARCELLI, N.; LEBAS, B. S. M.; KENYON, J. L.; MARCHAND, L.; LEFORT, F.; SEAL, S. E. Dilemmas caused by endogenous pararetroviruses regarding the taxonomy and diagnosis of yam (*Dioscorea* spp.) badnaviruses: analyses to support safe germplasm movement. **Archives of Virology**, v. 154, p.297–314, 2009.

BOVELL-BENJAMIN, A. C. Sweet Potato: A review of its past, present, and future role in human nutrition. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 52, p. 1–59, 2007. Doi:10.1016/s1043-4526(06)52001-7

BRIDDON, R. W.; BULL, S. E.; BEDFORD, I. D. Occurrence of *Sweet potato leaf curl virus* in Sicily. **Plant Pathology**. v. 55, p. 286–286, 2006.

BROWN, J. K.; ZERBINI, F. M.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; RAMOSSOBRINHO, R.; SILVA, J. C. F.; FIALLO-OLIVE, E.; BRIDDON, R. W.; HERNÁNDEZZEPEDA, C.; IDRIS, A.; MALATHI, V. G.; MARTIN, D. P.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.; UEDA, S. & VARSANI, A. Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. **Archives of Virology**, v. 160, p. 1593-1619, 2015.

BRUNT, A. A.; CRABTREE, K.; DALLWITZ, M. J.; GIBBS, A. J.; WATSON, L. Viruses of Plants. Descriptions and Lists from the VIDE Database. Wallingford, UK: **CAB International**, 1996, 1484 p. ISBN: 085198794X.

CAO, M.; LAN, P.; LI, F.; ABAD, J.; ZHOU, C.; LI, R. Genome characterization of *Sweet potato symptomless virus 1*: a mastrevirus with an unusual nonanucleotide sequence. **Arch Virol**, 2017. Doi: 10.1007/s00705-017-3396-z.

CASTRO, L. A. S. DE; EMYGDIO, B. M.; ABRANTES, V. L.; ROCHA, N. E. M. Acessos de batata-doce do banco ativo de germoplasma da Embrapa Clima Temperado, com potencial de produção de biocombustível – Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 26, (Documentos, 258), 2008.

CHAKRABORTY, S.; NEWTON, A. C. Climate change, plant diseases and food security: an overview. **Plant Pathology**, v. 60, p. 2– 14, 2011.

CHARLTON, K. Food security, food systems and food sovereignty in the 21st century: A new paradigm required to meet Sustainable Development Goals. **Nutrition & Dietetics**, v. 73(1), p. 3-12, 2016. DOI: 10.1111/1747-0080.12264

CLARK, C. A.; DAVIS, J. A.; ABAD, J. A.; CUELLAR, W. J.; FUENTES, S.; KREUZE, J. F.; GIBSON, R. W.; MUKASA, S. B.; TUGUME, A. K.; TAIRO, F. D.; VALKONEN, J. P. T. Sweet potato viruses: 15 years of progress on understanding and managing complex diseases. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 96, n. 2, p. 168-185, 2012.

CLARK, C. A.; HOY, M. W. Effects of common viruses on yield and quality of Beauregard sweet potato in Louisiana. **Plant Dis**, v. 90, p. 83–88, 2006.

CUELLAR, W. J.; DE SOUZA, J.; BARRANTES, I.; FUENTES, S.; KREUZE, J. F. Distinct cavemoviruses interact synergistically with *Sweet potato chlorotic stunt virus* (genus: *Crinivirus*) in cultivated sweet potato. **Journal of General Virology**, v. 92, p. 1233-1243, 2011.

CUELLAR, W. J.; GALVEZ, M.; FUENTES, S.; TUGUME, J.; KREUZE, J. Synergistic interactions of begomoviruses with *Sweet potato chlorotic stunt virus* (genus *Crinivirus*) in sweet potato (*Ipomoea batatas* L.): Sweet potato begomovirus synergism with SPCSV. **Mol Plant Pathol**, v. 16, p. 459–471, 2015.

DE KOCHKO, A.; VERDAGUER, B.; TAYLOR, N.; CARCAMO, R.; BEACHY, R. N.; FAUQUET, C. *Cassava vein mosaic virus* (CsVMV), type species for a new genus of plant double stranded DNA viruses? **Arch Virol**, v. 143, p. 945–962, 1998.

DOYLE, J.J; DOYLE, J.L.A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytoch Bull**, v. 19, p. 11–15, 1987.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Faostat 2017. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#compare>>. Acesso em: 30 de Julho 2019.

FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. The State of Food Security and Nutrition in the World 2018. Building climate resilience for food security and nutrition. Rome, FAO.

FAOSTAT.FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.FAO Statistical Data bases. <http://faostat.fao.org/>

FAUQUET, C.; MAYO, M. A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L. A. Virus taxonomy. Eight Report of the International committee on Taxonomy of Viruses. Amsterdam. **Elsevier**. 2005.

FERNANDES, F.R.; ALVES, R. C.; SOUZA, J. M. Diversidade viral associada à batata-doce no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Hortaliças. **Tropical Plant Pathology**, v. 37, 2012 (Suplemento), 45º Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Manaus, AM.

FERREIRA, C. H. L. H. Diversification into the genus *Badnavirus*: phylogeny and population genetic variability. Rio Largo, 2018. 71p. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal de Alagoas.

FIDAN, H.; KOÇ, G. Occurrence, ecology and phylogeny of *Banana streak badnavirus* (BSV) and *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) in *musa* sp. production areas of the mediterranean coastline of Turkey. **Applied Ecology and Environmental Research**, 2019. Doi: 17. 10.15666/aeer/1703_59355951.

FIGUEIREDO, D. V.; MEISSNER FILHO, P. E.; SILVA NETO, S. P.; BRIOSO, P. S. T. Detecção e análise da variabilidade de sequências do *Banana streakvirus* (BSV) em bananeiras no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 118-23, 2006.

FLORENTÍN, M.; PEÑALVA, M.; CALEGARI, A.; DERPSCH, R. Green manure/cover crops and crop rotation in conservation agriculture on small farms. **Integrated Crop Management**, vol. 12, p. 9–12, 2010. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, 2011, ISBN 978-92-5-106856-4.

FUENTES, S.; SALAZAR, L. F. First Report of *Sweet potato leaf curl virus* in Peru. **Plant Disease**. Scientific Societies; v. 87: 98–98, 2003.

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

GEERING, A. D. W. *Caulimoviridae* (Plant Pararetroviruses). In: Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons Ltd, Chichester; 2014. Doi: 10.1002/9780470015902.a0000746.pub3

GEERING, A. D. W.; HULL, R. Family *Caulimoviridae*, in: KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. (Eds.), **Virus Taxonomy**. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, Amsterdam, The Netherlands, p. 429–443 2012.

GEERING, A. D. W.; POOGGIN, M. M.; OLSZEWSKI, N. E.; LOCKHART, B. E. L.; THOMAS, J. E. Characterisation of banana streak myosvirosis virus and evidence that its DNA is integrated in the B genome of cultivated *Musa*. **Archives of Virology**, v. 150, n. 4, p. 787- 796, 2005.

GHOSH, R.; BARMAN, S.; KHATUN, J.; MANDAL, N. C. Biological control of *Alternaria alternata* causing leaf spot disease of *Aloe vera* using two strains of rhizobacteria. **Biological Control**, v. 97, p. 102-108, 2016.

GIBSON, R. W.; KREUZE, J. F. Degeneration in sweet potato due to viruses, virus-cleaned planting material and reversion: a review. **Plant Pathol**, v. 64, p. 1-15, 2015. Doi:10.1111/ppa.12273

GILBERTSON, R. L.; BATUMAN, O.; WEBSTER, C. G. & ADKINS, S. Role of the Insect Suprovectors *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in the Emergence and Global Spread of Plant Viruses. **Annual Review of Virology**, v. 2(1), p. 67–93, 2015. Doi:10.1146/annurev-virology-031413-085410.

GOVIND, P. R.; SUSHEEL, K. S.; DEEPTI, S.; MEENAKSHI, A.; PRIYANKA, S.; VIRENDRA, K. B. Genetically diverse variants of *Sugarcane bacilliform virus* infecting sugarcane in India and evidence of a novel recombinant *Badnavirus* variant. **Journal of Phytopathology**, v. 162, p. 779–787, 2014.

GU, Y. H.; TAO, X.; LAI, X. J.; WANG, H. Y.; ZHANG, Y. Z. Exploring the polyadenylated RNA virome of sweet potato through high-throughput sequencing. **PLoS ONE**, v. 9(6): e98884, 2014. Doi:10.1371/journal.pone.0098884

GUTIERREZ, C. Geminivirus DNA replication. **CMLS, Cell. Mol. Life Sci.**, v. 56, p. 313-329, 1999. Doi.org/10.1007/s000180050433

HAGEN, L. S.; JACQUEMOND, M.; LEPINGLE, A.; LOT, H.; TEPFER, M. Nucleotide sequence and genomic organization of cacao swollen shoot virus. **Virology**, v.196, p.619-628, 1993.

HARPER G.; HULL, R. Cloning and sequence analysis of *Banana Streak Virus* DNA. **Virus Genes**, v.17, p.271-278, 1998.

HARPER, G., HART, D., MOULT, S., HULL, R., GEERING, A., & THOMAS, J. The diversity of *Banana streak virus* isolates in Uganda. **Archives of Virology**, v. 150(12), p. 2407–2420, 2005.

- HULL, R. Matthews' **Plant Virology Academic Press**, San Diego (2002).
 IBGE. PRODUÇÃO AGRÍCOLA MUNICIPAL: Culturas temporárias e permanentes. 2017.
<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rs/pesquisa/14/10193?tipo=ranking&localidade1=431198&indicador=10234&ano=2017>
- JAJOR, E.; KOZLOWSKA, M.; WOJTOWICZ, M. Prevalence of fungi of the genus *Alternaria* on rape siliques and seeds depending on weather conditions. **Progress in Plant Protection**, Póznán, v. 52, n. 4, p. 1011-1015, 2012.
- JAMES, A. P.; GEIJSKES, R. J.; DALE, J. L.; HARDING, R. M. Development of a novel rolling-circle amplification technique to detect *Banana streak virus* that also discriminates between integrated and episomal virus sequences. **Plant Disease**, v. 95, p. 57-62, 2011.
- JESKE, H. Barcoding of plant viruses with circular single-stranded DNA based on rolling circle amplification. **Viruses**, v. 10, p. 469, 2018. Doi:10.3390/v10090469
- JONES, R.; FREEMAN, H. A.; LE MONACO, G. 2002. Improving the Access of Small Farmers in Eastern and Southern Africa to Global Pigeon Pea Markets. Agren Network Paper No. 120. London: United Kingdom: UK Department for International Development.
- KANAKALA, S.; KURIA, P. *Chickpea chlorotic dwarf virus*: An Emerging Monopartite Dicot Infecting Mastrevirus. **Viruses**, v. 11(1):5, 2018. Doi: 10.3390/v11010005.
- KARAVINA, C. *Maize streak virus*: A review of pathogen occurrence, biology and management options for small holder farmers. **African journal of agricultural research**, v. 9(36), p. 2736-2742, 2014. Doi: 10.5897/AJAR2014.8897
- KASHIF, M.; PIETILÄ, S.; ARTOLA, K.; JONES, R. A. C.; TUGUME, A. K.; MÄKINEN, V.; VALKONEN, J. P. T. Detection of viruses in sweet potato from Honduras and Guatemala augmented by deep-sequencing of small-RNAs. **Plant Dis.** v. 96, p. 1430-1437, 2012.
- KEISSLER, K. Zur kenntnis der pilzflora krains. Beihefte zum Botanischen Zentralblatt, v. 29: p. 395–440, 1912.
- KENYON, L.; LEBAS, B. S. M.; SEAL, S. E. Yams (*Dioscorea* spp.) from the South Pacific Islands contain many novel badnaviruses: implications for international movement of yam germplasm. **Archives of Virology**, v. 153, p. 877-889, 2008. Doi: 10.1007 / s00705-008-0062-5.
- KLINGER, A. C. K.; SILVA, L. P.; TOLEDO, G. S. P.; GALARRETA, B.; GOULART, F. Effect of sweet potato vines on performance parameters and some carcass characteristics of rabbits. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, p.152–156, 2017. <https://doi.org/10.1111/jpn.12672>

KLINGER, A. C. K.; SILVA, L. P.; TOLEDO, G. S. P.; FALCONE, D. B.; GOULART, F. R. Sweet potato vines in diets for growing rabbits on performance, carcass characteristics and meat quality. **Animal Science Journal**, v. 89, p. 1556–1560, 2018. Doi: 10.1111 / asj.13105.

KREUZE, J. F.; PEREZ, A.; GALVEZA, M.; CUELLARB, W. J. Badnaviruses of sweet potato: symptomless co-inhabitants on a global scale. **BioRxiv**. Doi: <http://dx.doi.org/10.1101/140517> bioRxiv preprint first posted online May. 21, 2017.

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

KROTH, L. L.; DANIELS, J.; PIEROBOM, C. R. Degenerescência da batata-doce no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 79-82, 2004.

KUMAR, A.; SINGH, M.; CHAND, G. Diseases of Pigeon Pea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) and Their Management in: Crop Diseases and Their Management Integrated Approaches. 295 p., 2016. <https://doi.org/10.1201/b19891>

KUSHWAHA, A.; SRIVASTAVA, A.; NIGAM, R.; SRIVASTAVA, N. Management of Alternaria blight of pigeon pea crop through chemicals. **Intern. J. Pl. Prote.** v. 3, p. 313-315, 2010.

KWAK, H. R.; KIM, M. K.; CHUNG, M. N.; LEE, S. H.; PARK, J. W.; KIM, K. H.; CHOI, H. S. Virus disease incidences of sweet potatoes in Korea. **The Plant Pathology Journal**. v. 22, p. 239–247, 2006.

KWAK, H. R.; KIM, M. K.; SHIN, J. C.; LEE, Y. J.; SEO, J. K.; LEE, H. U.; JUNG, M. N.; KIM, S. H.; CHOI, H. S. The current incidence of viral disease in Korean sweet potatoes and development of multiplex RT-PCR assays for simultaneous detection of eight sweet potato viruses. **Plant Pathol J**, v. 30, p. 416–424, 2014.

LEONBERGER, K.; JACKSON, K.; SMITH, R.; GAUTHIER, N. W. "Plant Diseases [2016]". **Publicações de Agricultura e Recursos Naturais**. 182, 2016. https://uknowledge.uky.edu/anr_reports/182

LI, W. L.; YU, H. Y.; ZHANG, X. J.; KE, M.; HONG, T. Purple sweet potato anthocyanin exerts antitumor effect in bladder cancer. **Oncology reports**, v. 40(1), p. 73–82, 2018. Doi:10.3892/or.2018.6421.

LIMA, J. S.; LIMA, A. T. M.; CASTILLO-URQUIZA, G. P.; SILVA, S. J. C.; ASSUNÇÃO, I. P.; MICHEREFF, S. J.; ZERBINI, F. M.; LIMA, G. S.A. Variabilidade genética de isolados de badnavírus infectando inhame (*Dioscoreaspp.*) no nordeste do Brasil. **Tropical Plant Pathology**, v. 38(4), p. 349-353, 2013.

LINDBLAD, M.; WAERN, P. Correlation of wheat dwarf incidence to winter wheat cultivation practices. **Agric Ecosyst Environ**, v. 92, p. 115-122, 2002. Doi: 10.1016 / S0167-8809 (01) 00302-4

LING, K. S.; JACKSON, D. M.; HARRISON, H.; SIMMONS, A. M. PESIC-VANESBROECK, Z. Field evaluation of yield effects on the U.S.A. heirloom sweet potato cultivars infected by *Sweet potato leaf curl virus*. **Crop Prot**, v. 29, p. 757–765, 2010.

LOCKHART, B. E. L.; AUTREY, L. J. C. Occurrence in sugar cane of a bacilliform virus related serologically to *Banana streak virus*. **Plant Disease**, v. 72, p.230-233, 1988.

LOCKHART, B. E. L., JONES, D. R. (1999): Banana Streak. – In: Jones, D. R. (ed.) Diseases of Banana, Abaca and Enset. CABI, Wallingford, UK, pp. 263-274.

LOCKHART, B. E. L.; KIRATIYA-ANGUL, K.; JONES, P.; ENG, L.; SILVA, P.; OLSZEWSKI, N. E.; LOCKHART, N.; DEEMA, N.; SANGALANG, J. Identification of *Piper yellow mottle virus*, a mealybug transmitted badnavirus infecting Piper spp. Southeast Asia. **European of Plant Pathology**, v. 103, p.303-311, 1997.

LOCKHART, B. E. L.; OLSZEWSKI, N. E. Serological and genomic heterogeneity of *Banana streak badnavirus*: implications for virus detection in Musa germplasm, breeding banana and plantain for resistance to diseases and pests. **CIRAD/INIBAP**, p. 105-113, 1993.

LOEBENSTEIN, G.; THOTTAPPILLY, G. The Sweet potato. Dordrecht, The Netherlands, **Springer Sciences Business Media BV**, 2009.

LOZANO, G.; TRENADO, H.; VALVERDE, R.; NAVAS-CASTILLO, J. Novel begomovirus species of recombinant nature in sweet potato (*Ipomoea batatas*) and *Ipomoea indica*: taxonomic and phylogenetic implications. **Journal of General Virology**. v. 90, p. 2550–2562, 2009.

LUAN, Y. S.; ZHANG, J.; AN, L. J. First Report of *Sweet potato leaf curl virus* in China. **Plant Disease**. Scientific Societies, v. 90, p. 1111, 2006.

MA, S.; ZHENG, Q.; YE, J.; FENG, W.; ZHOU, G.; ZHANG, T. Identification of viruses infecting sweet potato in southern China by small RNA deep sequencing and PCR detection. **Journal of General Plant Pathology**, v. 58, p. 122-127, 2018.

MAICH, SÍLVIA LETÍCIA SANTOS DA PAZ Levantamento e caracterização molecular parcial de begomovírus infectando batata-doce nos principais distritos produtores da região de Pelotas- RS. 2015. 44f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

MAMGAIN, A.; ROYCHOWDHURY, R.; TAH, J. *Alternaria* pathogenicity and its strategic controls. **Research Journal of Biology**, v. 1, p.01-09, 2013.

MBANZIBWA, D. R.; TAIRO, F.; GWANDU, C.; KULLAYA, A.; VALKONEN, J.P.T. First report of *Sweet potato symptomless virus 1* and *Sweet potato virus A* in sweet potatoes in Tanzania. **Plant Disease**, v. 95, p. 224, 2011.

MBANZIBWA, D. R.; TUGUME, A. K.; CHIUNGA, E.; MARK, D.; TAIRO, F. D. Small RNA deep sequencing-based detection and further evidence of DNA viruses infecting sweet potato plants in Tanzania. **Ann Appl Biol**, v. 165, p. 329–339, 2014.

ME-NSOPE, N.; M. LARKINS. Beyond Crop Production: Gender Relations along the Pigeon Pea Value Chain and Implications for Income and Food Security in Malawi. *Journal of Gender, Agriculture and Food Security*, v. 01, Ed. 03: p. 1-22, 2016. <http://agrigender.net/uploads/JGAFS-132016-1-Paper.pdf>.

MHANGO, W.G.; SNAPP, S.S.; PHIRI, G.Y. Opportunities and constraints to legume diversification for sustainable maize production on smallholder farms in Malawi. **Renewable Agriculture and Food Systems**, v. 28, Ed.03, p. 234-244, 2013.

MIANO, D. W.; LABONTE, D. R.; CLARK, C. A.; VALVERDE, R. A.; HOY, M. W.; HURTT, S.; LI, R. First report of a *Begomovirus* infecting sweet potato in Kenya. **Plant Disease**. Scientific Societies, v. 90, p. 832, 2006.

MINGOT, A.; VALLI, A.; RODAMILANS, B.; SAN LEÓN, D.; BAULCOMBE, D. C.; GARCÍA, J. A.; LÓPEZ- MOYA, J. J. The P1N-PISPO trans -frame gene of *Sweet potato feathery mottle potyvirus* is produced during virus infection and functions as an RNA silencing suppressor. **J Virol**, v. 90, p. 3543–3557, 2016.

MOHANRAJ, R.; SIVASANKAR, S. (2014). Sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) - A Valuable Medicinal Food: A Review. **Journal of medicinal food**, v. 17 (7), p. 733-741, 2014.

MONTES, S. M. N. M.; FIRETTI, R.; GOLLA, A. R.; TARSITANO, M. A. A. Custos e rentabilidade da batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) na região oeste do estado de São Paulo: estudo de caso. Artigo em Hypertexto, 2008. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_1/batata/index.htm>. Acesso em 20 junho 2019.

MONTES, S. M. N. M.; PAULO, E. M.; MONTES, R. M. Avaliação da ação de uma virose na produção e qualidade de tubérculos de batata-doce. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, 2015. Doi.org/10.1590/1808-1657000492013

MONTORO, S. B.; LUCAS, J.; SANTOS, D. F. L.; COSTA, M. S. S. M. Anaerobic co-digestion of sweet potato and dairy cattle manure: A technical and economic evaluation for energy and biofertilizer production. **Journal of Cleaner Production**, v. 226, p. 1082-1091, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.148>.

MOTSA, N. M.; MODI, A. T.; MABHAUDHI, T. Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) as a drought tolerant and food security crop. **South African Journal of Science**, v. 111(11-12), p. 1-8, 2015. Doi.org/10.17159/sajs.2015/20140252.

MUHIRE, B.; MARTIN, D. P.; BROWN, J. K.; NAVAS-CASTILLO, J.; MORIONES, E.; ZERBINI, F. M. , RIVERA-BUSTAMANTE, R.; MALATHI, V. G.; BRIDDON, R. W.; VARSANI, A. A genome-wide pairwise-identity-based proposal for the classification of viruses in the genus *Mastrevirus* (family *Geminiviridae*). **Arch Virol**, v. 158, p. 1411–24, 2013.

MULABISANA, M. J.; CLOETE, M.; LAURIE, S. M.; MPHELA, W.; MASERUMULE, M.M. NHLAPO, T. F.; COCHRANE, N. M.; OELOFSE, D.; REY, M.E. C. Yield evaluation of multiple and co-infections of begomoviruses and potyviruses on sweet potato varieties under field conditions and confirmation of multiple infection by NGS, **Crop Protection**, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.01.009>.

MURUGAN, S.; PARAMASIVAM, S. K.; NEDUNCHEZHIAN, M. Sweet potato as animal feed and fodder. **Fruit. Veg. Cereal Sci. Biotechnol.**, v. 6, p. 106–114, 2012.

NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVÉ, E.; SÁNCHEZ-CAMPOS, S. Emerging Virus Diseases Transmitted by Whiteflies. **Annual Review of Phytopathology**, v. 49(1), p. 219–248, 2011. Doi:10.1146/annurev-phyto-072910-095235.

NEES VON ESENBECK, C.G. (Ed.). Das system der pilze und schwämme. Wurzburg: University of Illinois Urbana-Champaign, v. 1, 480 p, 1816.

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

NGUYEN, T. H.; NGOAN, L. D.; BOSCH, G.; VERSTEGEN, M. W.; HENDRIKS, W. H. Ileal and total tract apparent crude protein and amino acid digestibility of ensiled and dried cassava leaves and sweet potato vines in growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 172, p. 171–179, 2012.

NHLAPO, T. F.; MULABISANA, J. M.; ODENY, D. A.; REY, M. E. C.; REES, D. J. G. First Report of *Sweet potato badnavirus A* and *Sweet potato badnavirus B* in South Africa. **Plant Disease**, v. 102, p. 1865-1865, 2018b. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-08-17-1235-PDN>

NHLAPO, T.F.; REES, D.J.G.; ODENY, D. A.; MULABISANA, J. M.; REY, M. E. C. (2018). Viral metagenomics reveals sweet potato virus diversity in the Eastern and Western Cape provinces of South Africa. **Journal of Botany**, v. 117, p. 256-267, 2018a.

NILSSON, R. H.; TEDERSOO, L.; LINDAHL, B. D.; KJØLLER, R.; CARLSEN, T.; QUINCE, C.; ABARENKOV, K.; PENNANEN, T.; STENLID, J.; BRUNS, T.; LARSSON, K. H.; KÖLJALG, U.; KAUSERUD, H. Towards standardization of the description and publication of next-generation sequencing data sets of fungal communities. **New Phytologist**, v. 191, p. 314– 318, 2011.

OLIVEIRA, M. K. T.; NETO, F. B.; CÂMARA, F. A.; DOMBROSKI, J. L. D.; FREITAS, R. M. O. Multiplicação *in vitro* de batata-doce (*Ipomoea batatas* Lam). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 4, p. 129-134, 2008.

OMURA, T.; SAITO, S.; USUGI, T. and HIBINO, H. Purification and serology of rice tungro spherical and rice tungro baciliform viruses. **Annals of the Phytopathological**, Society of Japan, v. 49, p. 73-76, 1983.

PAPROTKA, T.; BOITEUX, L. S.; FONSECA, M. E. N.; RESENDE, R. O.; JESKE, H.; FARIA, J. C.; RIBEIRO, S. G. Genomic diversity of sweet potato geminiviruses in a Brazilian germplasm bank. **Virus Research**, v. 149, p. 224– 233, 2010.

PAULO, E. M.; BERTON, R. S.; CAVICHIOLI, J. C.; KASAI, F. S. Produtividade do cafeeiro Mundo Novo enxertado e submetido à adubação verde antes e após a recepa. **Bragantia**, v. 65, n. 1, p. 115, 2006.

PEREIRA, R. B.; CARVALHO, A. D. F.; PINHEIRO, J. B. Manejo da pinta preta: uma ameaça às lavouras de tomateiro a céu aberto. Brasília: Embrapa Hortaliças. 5p. (Comunicado Técnico, 95), 2013.

PHILLIPS, S.; BRIDDON, R. W.; BRUNT, A. A.; HULL, R. The Partial Characterization of a Badnavirus infecting the greater Asiatic or water Yam (*Dioscorea alata*). **Journal of Phytopathology**, v. 147, p. 265-269, 1999.

PHILPOTT, M ; GOULD, K. S.; LIM, C.; FERGUSON, L. R. J. In Situ and In Vitro Antioxidant Activity of Sweet potato Anthocyanins. **Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 1511-1513, 2004.

POZZER, L.; SILVA, J. B. C.; DUSI, A. N.; KITAJIMA, E. W. Avaliação da taxa de reinfecção de plantas de batata-doce livre de vírus pelo *Sweet potato feathery mottle virus* em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, v.19 (2), p. 231-234, 1994.

PRASANTH, G.; HEGDE, V. Occurrence of *Sweet potato feathery mottle virus* and *Sweet potato leaf curl Georgia virus* on sweet potato in India. **Plant Disease**, v. 92, p. 311–311, 2008.

QIAO, G.; WEN, X. P.; YU, L. E.; JI, X. B. The enhancement of drought tolerance for pigeon pea inoculated by arbuscular mycorrhizae fungi. **Plant Soil Environ**, v. 57, p. 541–546, 2011.

QIN, Y. H.; LI, X. C.; ZHANG, Z. C.; QIAO, Q.; ZHANG, D. S.; WANG, Y. J.; TIAN, Y. T.; WANG, S. First Report of *Sweet potato badnavirus A* in China. **Plant Dis**, v. 100, p.865, 2016.

RAMANKUTTY, N.; MEHRABI, Z.; WAHA, K.; JARVIS, L.; KREMEN, C.; HERRERO, M.; RIESEBERG, L. H. Trends in global agricultural land use: Implications for environmental health and food security. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 69, p. 789–815, 2018. Doi: 10.1146/annurev-arplant-042817-040256pmid:29489395

RAUTENBACH, F.; FABER, M.; LAURIE, S.; LAURIE, R. Antioxidant capacity and antioxidant content in roots of 4 sweet potato varieties. **Journal of Food Science**, v. 75, p. C400-C405, 2010. Doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01631.x.

REDDY, M. V.; RAJU, T. N.; SHARMA, S. B.; NENE, Y. L.; MCDONALD, D.; PANDE, S.; SHARMA, M. 2012. Handbook of Pigeonpea Diseases (Revised). Information Bulletin No. 42. Patancheru, AP 502 324, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 64 pp. ISBN 92-9066-277-8. Order code IBE 042.

RODRIGUES, A. de A.; SANTOS, P. M.; GODOY, R.; NUSSIO, C. M. B. Utilização de guandu na alimentação de novilhas leiteiras. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste (Circular Técnica), n. 34, p. 8, 2004.

ROJAS, M. R.; HAGEN, C.; LUCAS, W. J.; GILBERTSON, R. L. Exploiting chinks in the plant's armor: Evolution and emergences of geminiviruses. **Annu. Rev. Phytopathol.**, v. 43, p. 361-394, 2005.

ROOSSINCK, M. J.; MARTIN, D. P.; ROUMAGNAC, P. Plant virus metagenomics: advances in virus discovery. **Phytopathology**, v. 105, p. 716–727, 2015.

RÓS, A. B.; NARITA, N.; HIRATA, A. C. S. Produtividade de batata-doce e propriedades físicas e químicas de solo em função de adubação orgânica e mineral. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 205-214, 2014. Doi: 10.5433/1679-0359.2014v35n1p205.

ROTEM, J. The genus *Alternaria* biology, epidemiology, and pathogenicity. Saint Paul: **APS Press**, 326p., 1994.

RYBICKI, E. P. A Top Ten list for economically important plant viruses. **Arch. Virol.**, v. 160, p. 17–20, 2015. Doi: 10.1007/s00705-014-2295-9.

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. Molecular Cloning - A Laboratory Manual (3 ed.). Cold Spring Harbor, NY. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, 2001.

SANTOS, C. A. F.; MENEZES, E. A.; ARAÚJO, F. P. de. Introdução, coleta e caracterização de recursos genéticos de guandu para produção de grãos e forragem. In: QUEIRÓZ, M. A. de; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (Org.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro. 1a ed. Petrolina: Embrapa Semi-árido, 1999. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/104415/1/Carlos-Antonio.pdf>. Acesso em: 25 julho 2019.

SAXENA, K. B. 2006. Seed Production Systems in Pigeon pea. Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 76 pp. ISBN 92-9066-490-8. Order code BOE 040

SEAL, S. E.; VANDENBOSCH, F.; JEGER, M. J. Factors influencing begomovirus evolution and their increasing global significance: Implications for sustainable control. **Crit. Rev. Plant Sci.**, v. 25, p. 23-46, 2006.

SEIFFERT, N. F.; THIAGO, L. R. L. S. Legumineira – Cultura forrageira para produção de proteína. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, novembro, 1983. (Circular Técnica, n. 13). Disponível em: <http://old.cnpgc.embrapa.br/publicacoes/ct/ct13/02guandu.html>. Acesso em: 03 Ago. 2019.

SHARMA, M.; GHOSH, R.; PANDE, S. Occurrence of *Alternaria alternate* causing Alternaria blight in pigeon pea in India. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 4, p. 702-705, 2013.

SHEKHAR, S.; MISHRA, D.; BURAGOHAIN, A. K.; CHAKRABORTY, S.; CHAKRABORTY, N. Comparative analysis of phytochemicals and nutrient availability in two contrasting cultivars of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). **Food Chemistry**, v. 173, p. 957-965, 2015. Doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.172.

SILVA, J. O. V.; ALMEIDA, M. F.; ALVIM-FERRAZ, M. C.; DIAS, J. M. Integrated production of biodiesel and bioethanol from sweet potato. **Renewable Energy**, v. 124, p. 114-120, 2018. Doi.org/10.1016/j.renene.2017.07.052.

SIMMONS, E. G. *Alternaria: An Identification Manual*. Utrecht, Netherlands: CBS Fungal Biodiversity Centre, 2007.

SIMMONS, E.G.; ROBERTS, R.G. *Alternaria* themes and variations (73). **Mycotaxon**, v. 48, p. 109-140, 1993.

SIMTOWE, F.; SHIFERAW, B.; KASSIE, M. ; ABATE, T.; SILIM S.; SIAMBI, M.; MADZONGA, O.; MURICHO, G.; KANANJI, G. 2010 Assessment of the current situation and future outlooks for the Pigeon pea sub-sector in Malawi. Nairobi, Kenya: ICRISAT. https://www.researchgate.net/publication/228602228_Assessment_of_the_Current_Situation_and_Future_Outlooks_for_the_Pigeon_pea_Sub-sector_in_Malawi.

SINGH, J.; BASU, P. Non-nutritive bioactive compounds in pulses and their impact on human health: An Overview. **Food Nutr Sci**, v. 3, p. 1664-1672, 2012.

SINGH, U.; JAIN, K. C.; JAMBUNATHAN, R.; FARIS, D. G. Nutritional Quality of Vegetable Pigeonpeas [*Cajanus cajan* (L.) Mill sp.]: Mineral and Trace Elements. **Journal of Food Science**, v. 49 (2), p. 645–646, 1984.doi:10.1111/j.1365-2621.1984.tb12489.x

SNAPP, S. S.; ROHRBACH, D. D.; SIMTOWE, F.; FREEMAN, H. A. Sustainable soil management options for Malawi: Can Smallholder Farmers Grow More Legumes? **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 91, p. 159-174, 2002.

SOUZA, C. A.; ROSSATO, M.; MELO, F. L.; BOITEUX, L. S.; PEREIRA-CARVALHO, R. C. First report of *Sweet potato symptomless virus 1* infecting *Ipomoea batatas* in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, n.10, p. 2052, 2018. Doi.org/10.1094/PDIS-01-18-0083-PDN

SOUZA, F. H. D. de; FRIGERI, T.; MOREIRA, A.; GODOY, R. Produção de sementes de guandu. Embrapa Pecuária Sudeste. Documentos 69, 68 p., 2007.

SOUZA, M. C.; STUCHI, E. S.; DE GOES, A. Evaluation of tangerine hybrid resistance to *Alternaria alternata*. **Scientia Horticulturae**, v.123, p.1–4, 2009.

STAGINNUS, C. ; ISKRA-CARUANA, M. L. ; LOCKHART, B. ; HOHN, T. ; RICHERT-PÖGGELER, K. R. Suggestions for a nomenclature of endogenous pararetroviral sequences in plants. **Archives of Virology**, v. 154, p. 1189–1193, 2009.

STRANGE, R. N. Plant disease: a threat to global food security. **Annual Review of Phytopathology**, v. 43, p. 83– 116, 2005.

SUGATA, M.; LIN, Y.; SHIH, Y. C. Anti-inflammatory and anticancer activities of taiwanese purple-fleshed sweet potatoes (*Ipomoea batatas* L. Lam) extracts. **BioMed Research International**, 2015. Doi:10.1155/2015/768093.

SUN, H.; MU, T.; XI, L.; MIAO ZHANG, M.; CHEN, J. Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves as nutritional and functional foods. **Food Chemistry**, v.156, p.380-389, 2014.

TALARI, A.; DEVINDRA, S. Role of pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) in human nutrition and health: A review. **Asian Journal of Dairy and Food Research**, v.37(3), p. 212-220, 2018. DOI: 10.18805/ajdfr.DR-1379.

THOTTAPPILLY, G.; BOSQUE-PÉREZ, N.; ROSSEL, H. Viruses and virus diseases of maize in tropical Africa. **Plant Pathology**, v. 42, p. 494–509, 1993. Doi: 10.1111/j.1365-3059.1993.tb01529.x

TOFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Alternarioses em hortaliças: sintomatologia, etiologia e manejo integrado. São Paulo: Instituto Biológico, p. 23-33, 2004. (Divulgação Técnica, 66).

UNTIVEROS, M.; FUENTES, S.; SALAZAR, L. F. Synergistic interaction of *Sweet potato chlorotic stunt virus* (Crinivirus) with Carla-, Cucumo-, Ipomo-, and Potyviruses infecting sweet potato. **Plant Disease**, Saint Paul, v.91, n.6, p.669-676, 2007.

VALVERDE, R. A.; CLARK, C. A.; VALKONEN, J. P. T. Viruses and virus disease complexes of sweet potato. **Plant Viruses**, v. 1, p. 116-126, 2007.

VAN DER MAESEN, L. J. G. Pigeon pea: Origin, history, evolution and taxonomy. In: Nene, Y.L., Hall, S.D. and Sheila, V.K., Eds., The Pigeon pea, **CAB International**, Wallingford, 15-46, 1990.

VARSHNEY, R. K.; KUDAPA, H.; ROORKIWAL, M.; THUDI, M.; PANDEY, M. K.; SAXENA, R. K.; CHAMARTHI, S. K.; MOHAN, S. M.; MALLIKARJUNA, N.; UPADHYAYA, H.; GAUR, P. M.; KRISHNAMURTHY, L.; SAXENA, K. B.; NIGAM, S. N.; PANDE, S. Advances in genomics research and molecular breeding applications in SAT legume crops by using next generation sequencing and high-throughput genotyping technologies. **J. Biosci.** v. 37, p. 811–820, 2012. doi: 10.1007/s12038-012-9228-0

VOLPATO, R. M.; OLIVEIRA, V.; GEWEHR, C. E. & PEREZ NETO, D. Coprodutos da agroindústria na alimentação de leitões. **Ciência Rural**, v. 45(1), p. 86-91, 2015. Doi.org/10.1590/0103-8478cr20130391.

WANG, Y. J.; ZHANG, D. S.; ZHANG, Z. C.; WANG, S.; QIAO, Q.; QIN, Y. H.; TIAN, Y. T. First report on *Sweet potato symptomless virus 1* (genus *Mastrevirus*, family *Geminiviridae*) in sweet potato in China. **Plant Dis**, v. 99, p. 1042, 2015.

WASSWA, P.; OTTO, B.; MARUTHI, M. N.; MUKASA, S. B.; MONGER, W.; GIBSON, R. W. First identification of a sweet potato begomovirus (sweepovirus) in Uganda: characterization, detection and distribution. **Plant Pathology**. v.60, p. 1030–1039, 2011.

WOUDEBERG, J. H.; GROENEWALD, J. Z.; BINDER, M.; CROUS, P. W. *Alternaria* redefined. **Stud. Mycol.**, v. 75, p. 171 – 212, 2013

WYLIE, S. J.; ADAMS, M.; CHALAM, C.; KREUZE, J.; LÓPEZ-MOYA, J. J.; OHSHIMA, K.; PRAVEEN, S.; RABENSTEIN, F.; STENGER, D.; WANG, A.; ZERBINI, F. M. & ICTV REPORT CONSORTIUM. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Potyviridae*. **Journal of General Virology**, v. 98, p. 352-354, 2017.

YANG, I. C.; HAFNER, G. J.; DALE, J. L.; HARDING, R. M. Genomic characterisation of *Taro bacilliform virus*. **Archives of Virology**, v. 148, p. 937-949, 2003.

ZERBINI, F. M.; BRIDDON, R. W.; IDRIS, A.; MARTIN, D. P.; MORIONES, E.; NAVAS-CASTILLO, J.; RIVERA-BUSTAMANTE, R.; ROUMAGNAC, P.; VARSANI, A., and ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Geminiviridae*, **Journal of General Virology**, v. 98, p. 131–133, 2017.

Anexos

Anexo 1. Propriedades, Distritos, cultivares e número de amostras coletadas.

Propriedades	Distritos	Cultivares	Nº amostras
Peverada ⁽¹⁾	3º Distrito – Colônia Ramos	Precoce; Pé-de-galinha; Amarela	15
SDE ⁽¹⁾	3º Distrito – Colônia Osório	Precoce; Amarela	45
Hartwig ⁽¹⁾	9º Distrito – Estrada da Gama	Pé-de-galinha	23
Blank ⁽²⁾	3º Distrito – Cerrito Alegre	Amarela; Amélia; Paulista	53
S ^{ta} Clara ⁽²⁾	6º Distrito – Santa Silvana	Amarela	60
Wickboldt ⁽²⁾	6º Distrito – Santa Silvana	Amarela; Pé-de-galinha	25
Peverada ⁽²⁾	3º Distrito – Colônia Ramos	Precoce; Pé-de-galinha; Amarela	82
Total			303

(1) Amostras coletadas nos meses de março a abril de 2013. (2) Amostras coletadas de fevereiro a maio de 2014.