

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

AMANDA VIEIRA VICENTINI

**CONTRASTANDO PADRÕES DE RECOMBINAÇÃO EM ISOLADOS DE POTYVÍRUS
OBTIDOS DE PLANTAS MONOCOTILEDÔNEAS E DICOTILEDÔNEAS**

UBERLÂNDIA
NOVEMBRO-2017

AMANDA VIEIRA VICENTINI

**CONTRASTANDO PADRÕES DE RECOMBINAÇÃO EM ISOLADOS DE POTYVÍRUS
OBTIDOS DE PLANTAS MONOCOTILEDÔNEAS E DICOTILEDÔNEAS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Alison Talis Martins Lima

**UBERLÂNDIA, MG
NOVEMBRO-2017**

AMANDA VIEIRA VICENTINI

**CONTRASTANDO PADRÕES DE RECOMBINAÇÕES EM ISOLADOS DE POTYVÍRUS
OBTIDOS DE PLANTAS MONOCOTILEDÔNEAS E DICOTILEDÔNEAS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheira Agrônoma.

Aprovado pela banca examinadora em 29 de novembro de 2017.

Prof. Dr. Alison Talis Martins Lima
Orientador

Eng. Agrônoma Ana Paula Ferreira Pinheiro
Membro da banca

Msc. Alexandre Moises Ericsson de Oliveira
Membro da banca

RESUMO

Os vírus são capazes induzir doenças em muitas espécies de plantas de importância econômica causando grandes prejuízos na agricultura. Os potyvírus (gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae*) representam cerca de 90% das espécies conhecidas da família. Eles possuem RNA como material genético e suas populações apresentam um grau elevado de variabilidade genética. Os principais mecanismos que atuam sobre a evolução dos vírus são mutação e recombinação. Mutações podem ocorrer de forma espontânea devido à incorporação incorreta de nucleotídeos durante a replicação viral. A recombinação consiste na troca de fragmentos de material genético entre vírus distintos durante infecções mistas. A alta frequência de recombinação é responsável pelo surgimento de novas características genéticas nos vírus, como a capacidade de infectar novos hospedeiros e suplantar a resistência genética das plantas. Com o intuito de compreender melhor os fatores envolvidos na alta variabilidade genética dessas populações virais, eventos de recombinação foram detectados por meio de ferramentas de bioinformática a partir de sequências genômicas completas de isolados de potyvírus. Dois conjuntos de dados foram analisados: o primeiro composto por sequências de isolados de potyvírus que infectam predominantemente plantas monocotiledôneas e o segundo composto por sequências de isolados que infectam plantas dicotiledôneas. Os genomas completos foram obtidos do GenBank por meio do Taxonomy browser e, posteriormente, foram analisados em dois programas, MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) e RDP (Recombination Detection Program), e os resultados interpretados a partir de gráficos de distribuição de sítios de recombinação. Os resultados do presente estudo indicam que a recombinação ocorre frequentemente nos isolados virais analisados e os padrões de distribuição de sítios de recombinação são diferentes entre espécies virais que infectam plantas monocotiledôneas ou dicotiledôneas. Enquanto os genomas de isolados que infectam plantas monocotiledôneas apresentam maior frequência de recombinação na porção 3', os genomas de isolados que infectam plantas dicotiledôneas apresentam maior propensão à recombinação na porção 5'.

Palavras-chave: Bioinformática, evolução molecular, fitovírus, RNA

ABSTRACT

Viruses are able to induce diseases in many economically important plant species causing severe losses in agriculture. Potyviruses (genus *Potyvirus*, family *Potyviridae*) account for about 90% of the species known in the family. They possess RNA as genetic material and their populations show a high degree of genetic variability. The main mechanisms that act on the evolution of viruses are mutation and recombination. Mutations may occur spontaneously due to misincorporation of nucleotides during viral replication. Recombination consists in the exchange of genetic material fragments between distinct viruses during mixed infections. The high frequency of recombination is responsible for the emergence of new genetic characteristics in the viruses, as the ability to infect new hosts and to overcome the host genetic resistance. In order to better understand the factors involved in the high genetic variability of these virus populations, recombination events were detected using bioinformatics tools based on complete genomic sequences of potyviruses. Two data sets were analyzed: the first one composed of potyvirus isolates that infect predominantly monocotyledonous plants and the second one composed of isolates that typically infect dicotyledonous plants. The complete genomes were obtained from GenBank by using the Taxonomy browser and were subsequently analyzed into two programs, MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) and RDP (Recombination Detection Program) and the results were interpreted from breakpoint distribution plots. The results of this study indicate that the recombination occurs frequently in the viral isolates analyzed and the breakpoint distribution patterns are different between potyviruses that predominantly infect monocotyledonous or dicotyledonous plants. While the genomes of monocot-infecting potyviruses show a higher frequency of recombination in the 3' portion, the genomes of dicot-infecting potyviruses are more prone to recombination in the 5' portion.

Keywords: Bioinformatics, molecular evolution, plant viruses, RNA

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. O gênero <i>Potyvirus</i>	3
2.2. Evolução dos vírus de RNA	3
2.3. Recombinação.....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	5
3.1. Conjuntos de dados de sequências de potyvírus.....	5
3.2. Alinhamentos múltiplos de sequências.....	6
3.3. Análises de recombinação	6
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	7
4.1. Padrão de recombinação em genomas de potyvírus que infectam plantas monocotiledôneas	7
4.2. Padrão de recombinação em genomas de potyvírus que infectam plantas dicotiledôneas.....	8
5. CONCLUSÕES	10
6. REFERÊNCIAS	11

1. INTRODUÇÃO

Os vírus são partículas infecciosas submicroscópicas constituídas por um ácido nucleico (DNA ou RNA) envolvido por uma capa proteica. A maioria dos vírus que infectam plantas possuem genomas constituídos por RNA e para infectar plantas necessitam de vetores como, por exemplo, insetos, ácaros e nematoides, podendo causar grandes prejuízos na agricultura. Segundo Adams et al. (2011), a família *Potyviridae* é considerada a segunda maior família de vírus que infectam plantas possuindo uma vasta gama de hospedeiros, incluindo-se plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas (Hull 2002; King et al. 2012).

A família é composta por oito gêneros: *Brambyvirus*, *Bymovirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus*, *Poacevirus*, *Potyvirus*, *Rymovirus* e *Tritimovirus* (King et al. 2012). A maioria dos vírus de importância econômica pertencem ao gênero *Potyvirus*. O gênero *Potyvirus* é o mais estudado e compreende vírus com genomas compostos de RNA de fita simples de aproximadamente 10.000 nucleotídeos encapsulados em partículas com morfologia alongada flexuosa (King et al. 2012).

A variabilidade genética em populações virais é gerada por meio de dois mecanismos evolutivos principais denominados mutação e recombinação. Esses mecanismos são responsáveis por um grande número de variações genéticas sobre as quais a seleção natural pode atuar (Roossinck 1997, 2003). A mutação refere-se à incorporação incorreta de nucleotídeos durante o processo de replicação e representa a principal fonte de variação em populações virais (García-Arenal et al. 2003). Pode-se especular que a maior frequência de mutação resulta em uma maior capacidade adaptativa, incluindo-se a capacidade de infectar novos hospedeiros ou suplantando a resistência genética de plantas (Roossinck 2003).

A recombinação pode ser considerada uma importante fonte de variação genética, pois pode resultar em mudanças drásticas nas propriedades biológicas dos vírus. A recombinação refere-se à troca de fragmentos de material genético (DNA ou RNA) entre vírus distintos durante infecções mistas. Há inúmeros relatos da ocorrência de recombinação em populações naturais de potyvírus sugerindo um papel importante na evolução desse grupo de vírus (Revers et al. 1996; Krause-Sakate et al. 2004; Desbiez et al. 2011).

Entre os principais potyvírus que infectam plantas monocotiledôneas destacam-se o *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) e o *Sorghum mosaic virus* (SrMV), e dentre os potyvírus que infectam plantas dicotiledôneas destacam-se o *Bean common mosaic virus* (BCMV), *Lettuce mosaic virus* (LMV), *Papaya ringspot virus* (PRSV) e *Soybean mosaic virus* (SMV).

O SCMV causa o mosaico da cana de açúcar sendo uma das doenças mais comuns no Brasil em canaviais. O sintoma comum do mosaico ocorre em folhas novas, onde touceiras afetadas tem seu desenvolvimento retardado, podendo diminuir o porte e a produtividade da cultura. O controle pode ser feito com medidas de exclusão e quarentena e é recomendado o uso de variedades resistentes. O LMV é o agente causal da doença de maior importância na cultura da alface. A dispersão do LMV está associada à transmissão por sementes de plantas infectadas, à rápida disseminação pelos afídeos vetores e à ocorrência de grande número de espécies da vegetação espontânea como hospedeiras naturais do vírus. Dentre as medidas de controle, a mais eficiente é o uso de cultivares resistentes ao vírus (Kimati, H.; Amorim, Bergamin Filho, A.; Rezende 1997). O PRSV é o causador da doença mais destrutiva na cultura do mamoeiro sendo considerado um fator limitante para produção de mamão. Entre os sintomas estão a clorose em plantas afetadas, mosaico nas folhas, intensas deformações e bolhas, pecíolos muitas vezes com tamanho reduzido e curvados de forma irregular (Souza Júnior et al. 2005).

Devido à grande importância das doenças causadas pelos potyvírus na agricultura, o objetivo do trabalho foi comparar os padrões de recombinação em genomas completos de potyvírus obtidos de plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O gênero *Potyvirus*

A família *Potyviridae* é dividida em oito gêneros (*Brambyvirus*, *Bymovirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus*, *Poacevirus*, *Potyvirus*, *Rymovirus* e *Tritimovirus*) dependendo do inseto vetor e do número de componentes do genoma viral (King et al. 2012). Os genomas dos vírus pertencentes ao gênero *Potyvirus* são constituídos por uma única molécula de RNA de fita simples com comprimento de aproximadamente 10.000 nucleotídeos, sentido positivo, apresentando uma única ORF (do inglês “Open Reading Frame”) localizada entre as regiões 5’ e 3’ não traduzidas. O genoma codifica uma poliproteína que após processo de auto-clivagem gera 10 proteínas maduras (P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, VPg, NIa-Pro, NIb e CP) e uma proteína adicional fundida à proteína P3 denominada PIPO (Adams et al. 2011). A extremidade 5’ do RNA genômico é covalentemente ligada a uma proteína de origem viral denominada VPg e a extremidade 3’ é poliadenilada (Fauquet et al. 2005).

Todos os membros da família induzem a formação de inclusões citoplasmáticas cilíndricas em forma de “cata-vento” durante o processo de infecção viral. As inclusões citoplasmáticas são produzidas a partir da proteína CI. Por outro lado, somente alguns membros da família são capazes de induzir a formação de inclusões nucleares a partir das proteínas NIa e NIb (do inglês “Nuclear inclusion a” e “Nuclear inclusion b”, respectivamente) (Urcuqui-Inchima et al. 2001).

Na célula da planta hospedeira os vírus se movimentam de duas maneiras: movimento célula-a-célula que ocorre por meio das conexões intercelulares (plasmodesmas) e movimento sistêmico. Duas proteínas estão relacionadas ao movimento sistêmico: HC-Pro e a proteína capsidial (Adams et al. 2011). A eficiência da infecção por vírus depende da maquinaria celular do hospedeiro, uma vez que os vírus são parasitas obrigatórios. Para completar seu ciclo o vírus necessita de fatores da planta, dessa forma, a perda ou mutação de um fator essencial pode induzir a uma resistência viral recessiva (Diaz-Pendon et al. 2004).

2.2. Evolução dos vírus de RNA

Quanto maior a variabilidade genética existente em uma população, maior será sua capacidade de adaptação ao meio. Os mecanismos evolutivos de mutação e recombinação atuam sobre os genomas virais permitindo que novos vírus, diferentes de seus parentais, surjam rapidamente na população (ROOSSINCK, 2003). Vários estudos estão sendo conduzidos para desvendar os padrões de recombinação em vírus de grande importância econômica e como esse mecanismo interfere na resistência das plantas aos vírus.

2.3. Recombinação

A recombinação envolve a troca de fragmentos de material genético entre genomas de vírus distintos. Ainda não se conhecem os fatores que facilitam a ocorrência da recombinação, porém dentre as possibilidades incluem a troca da fita molde pela replicase viral durante o processo de replicação, o término prematuro da síntese de RNA ou mesmo efeito de outros fatores virais e do hospedeiro (Bujarski 2013). A contribuição da recombinação para a evolução dos vírus já é bem estabelecida e é provável que esse mecanismo esteja diretamente relacionado ao surgimento de novas espécies emergentes na agricultura mundial. Embora a importância desse mecanismo seja reconhecida, ainda é um mistério como os eventos de recombinação podem aumentar a patogenicidade desses vírus, quais processos bioquímicos determinam o tipo de recombinação e quais processos evolutivos determinam se um vírus permanecerá ou não na natureza (García-Arenal et al. 2003; Roossinck 2003).

Estudos indicam que populações de potyvírus são altamente propensas à ocorrência de recombinação (Krause-Sakate et al. 2004; Desbiez et al. 2011). Ao mesmo tempo, estudos relatando evidências de que a recombinação possa estar envolvida na suplantação da resistência genética de plantas ou mesmo na ampliação da gama de hospedeiros de alguns potyvírus podem ser encontrados na literatura (Feng et al. 2014).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Conjuntos de dados de sequências de potyvírus

Todas as sequências de nucleotídeos analisadas neste estudo foram obtidas do Genbank e organizadas em dois conjuntos de dados distintos, cada um composto por diversas espécies de potyvírus. O primeiro conjunto de dados foi composto por 197 sequências compreendendo nove espécies distintas de isolados de potyvírus que infectam predominantemente plantas monocotiledôneas, enquanto o segundo foi composto por 506 sequências de 14 espécies distintas de isolados de potyvírus que tipicamente infectam plantas dicotiledôneas (Tabela 1).

Tabela 1. Conjuntos de dados de sequências de potyvírus analisados nesse estudo.

Hospedeiro (monocotiledôneas)	Número de sequências
<i>Canna yellow streak virus</i>	11
<i>Hardenbergia mosaic virus</i>	8
<i>Japanese yam mosaic virus</i>	9
<i>Leek yellow stripe virus</i>	12
<i>Onion yellow dwarf virus</i>	9
<i>Pennisetum mosaic virus</i>	22
<i>Sorghum mosaic virus</i>	22
<i>Sugarcane mosaic virus</i>	91
<i>Yam mild mosaic virus</i>	13
Total	197
Hospedeiro (dicotiledôneas)	
<i>Bean common mosaic necrosis virus</i>	13
<i>Bean common mosaic virus</i>	27
<i>Bean yellow mosaic virus</i>	43
<i>East asian passiflora virus</i>	24
<i>Lettuce mosaic virus</i>	32
<i>Papaya ringspot virus</i>	37
<i>Pepper mottle virus</i>	24
<i>Plum pox virus</i>	82
<i>Soybean mosaic virus</i>	59
<i>Sweet potato feathery mottle virus</i>	15
<i>Tobacco etch virus</i>	10
<i>Turnip mosaic virus</i>	73
<i>Watermelon mosaic virus</i>	29
<i>Zucchini yellow mosaic virus</i>	38
Total	506

3.2. Alinhamentos múltiplos de sequências

Alinhamentos múltiplos de sequências genômicas completas de potyvírus foram construídos utilizando-se o módulo Muscle (Edgar 2004) implementado no programa MEGA 7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (Kumar et al. 2016).

3.3. Análises de recombinação

Para detecção dos eventos de recombinação foi utilizado o programa RDP (Recombination Detection Program) (Martin et al. 2015). As sequências foram analisadas utilizando-se os seguintes módulos de detecção: RDP, GENECONV, Chimaera, MaxChi, BootScan, SiScan e 3Seq sendo considerados apenas os eventos detectados por pelo menos 4 desses métodos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Padrão de recombinação em genomas de potyvírus que infectam plantas monocotiledôneas

Foram analisados os eventos de recombinação presentes em um conjunto composto por sequências de isolados de potyvírus que infectam predominantemente plantas monocotiledôneas. Com base nas análises, foi observada a presença de um “hotspot” de recombinação na porção 3’ dos genomas virais (Figura 1).

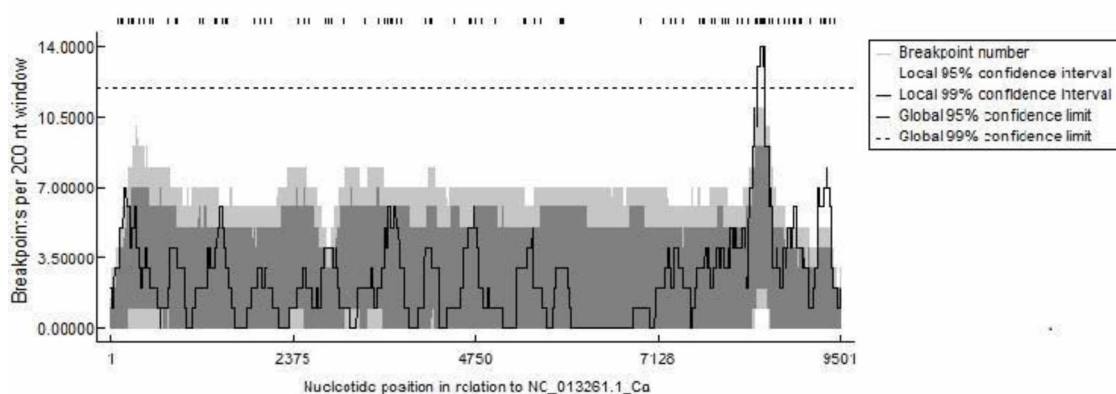


Figura 1. Distribuição de sítios de recombinação “breakpoints” ao longo dos genomas de potyvírus que infectam plantas monocotiledôneas. As linhas indicam o número de breakpoints de recombinação ao longo de janelas móveis de 200 nucleotídeos de comprimento. Aquelas regiões nas quais as linhas do gráfico atingem a linha tracejada indicam a presença de “hotspot”, que são regiões sujeitas a concentrar maior número de eventos de recombinação.

Com base na figura acima, que representa a distribuição de breakpoints ao longo dos genomas virais, houve uma concentração estatisticamente significativa de breakpoints na porção 3’ dos genomas virais sugerindo uma maior propensão à ocorrência de eventos de recombinação nessa região.

4.2. Padrão de recombinação em genomas de potyvírus que infectam plantas dicotiledôneas

Diferente dos resultados obtidos nas análises dos genomas dos potyvírus que infectam plantas monocotiledôneas, seqüências de isolados que infectam predominantemente plantas dicotiledôneas apresentaram um “hotspot” de recombinação na porção 5’ dos genomas (Figura 2).

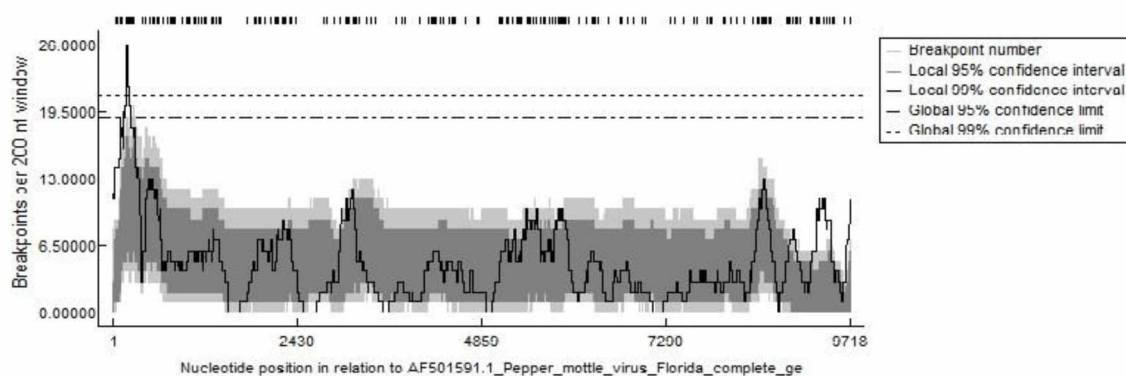


Figura 2. Distribuição de breakpoints de recombinação ao longo dos genomas de potyvírus que infectam dicotiledôneas. As linhas indicam o número de “breakpoints” de recombinação ao longo de janelas móveis de 200 nucleotídeos de comprimento. Aquelas regiões nas quais as linhas do gráfico atingem a linha tracejada indicam a presença de “hotspot”, que são regiões sujeitas a concentrar maior número de eventos de recombinação.

Com base nos resultados, houve um acúmulo estatisticamente significativo de sítios de recombinação na porção 5’ dos genomas indicando uma maior propensão de recombinação nessa região. “Hotspots” de recombinação têm sido relatados em genomas de potyvírus que infectam plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas. Ohshima et al. (2007) analisaram 92 genomas completos de isolados de *Turnip mosaic virus* (TuMV), sendo 50 isolados coletados na Europa e Ásia (os quais eles mesmos sequenciaram) e 42 isolados obtidos de bancos de dados públicos. Eles detectaram somente 24 eventos de recombinação sugerindo que o TuMV é uma espécie que apresenta baixa frequência de recombinação (apenas 26% dos genomas analisados apresentaram eventos de recombinação). Os resultados obtidos por Ohshima et al. (2007) indicam a presença de dois “hotspots” de recombinação sendo o primeiro localizado na porção 5’ e o segundo localizado na região mediana dos genomas.

Portanto, os resultados do presente trabalho confirmam a existência de um “hotspot” de recombinação na porção 5’ dos genomas de potyvírus que infectam dicotiledôneas, porém não foi detectado o “hotspot” na porção mediana do genoma relatado por Ohshima et al. (2007). *Mangrauthia*

et al. (2008) analisaram 13 genomas completos de isolados de PRSV de diferentes continentes e detectaram 25 eventos de recombinação. Além disso, foi detectada a presença de “breakpoints” concentrados na porção 5’ do genoma.

5. CONCLUSÕES

Enquanto genomas de potyvírus que infectam plantas monocotiledôneas apresentam uma maior propensão à ocorrência de recombinação em suas porções 3', genomas de potyvírus que infectam plantas dicotiledôneas apresentam evidências de acúmulo de breakpoints na porção 5'. Esses resultados indicam que as dinâmicas de recombinação desses vírus são distintas. Trabalhos futuros visando uma melhor caracterização dos “hotspots” de recombinação em genomas de isolados de potyvírus serão realizados.

6. REFERÊNCIAS

- Adams MJ, King AM, Lefkowitz E, Carstens EB (2011) Part II: The viruses - Family *Potyviridae*. In: *Virus Taxonomy - Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. pp 1069–1090
- Bujarski JJ (2013) Genetic recombination in plant-infecting messenger-sense RNA viruses: overview and research perspectives. *Front Plant Sci*. doi: 10.3389/fpls.2013.00068
- Desbiez C, Joannon B, Wipf-Scheibel C, et al (2011) Recombination in natural populations of watermelon mosaic virus: New agronomic threat or damp squib? *J Gen Virol* 92:1939–1948. doi: 10.1099/vir.0.031401-0
- Diaz-Pendon JA, Truniger V, Nieto C, et al (2004) Advances in understanding recessive resistance to plant viruses. *Mol. Plant Pathol*.
- Edgar RC (2004) MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res* 32:1792–1797. doi: 10.1093/nar/gkh340
- Fauquet CM, Mayo M a, Maniloff J, et al (2005) *Virus Taxonomy: VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. *Virus Res* 83:221–222. doi: 10.1016/S0168-1702(01)00352-5
- Feng X, Poplawsky AR, Nikolaeva O V, et al (2014) Recombinants of bean common mosaic virus (BCMV) and genetic determinants of BCMV involved in overcoming resistance in common bean. *Phytopathology* 104:786–793. doi: 10.1094/PHYTO-08-13-0243-R
- García-Arenal F, Fraile A, Malpica JM (2003) Variation and evolution of plant virus populations. *Int. Microbiol.* 6:225–232
- Hull R (2002) *Matthews' Plant Virology*. *Matthews' Plant Virol*. doi: 10.1016/B978-012361160-4/50068-2
- Kimati, H.; Amorim, Bergamin Filho, A.; Rezende LEA (1997) *Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas*
- King AMQ, Adams MJ, Carsten EB, Lefkowitz EJ (2012) *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses*. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.
- Krause-Sakate R, Fakhfakh H, Peypelut M, et al (2004) A naturally occurring recombinant isolate of Lettuce mosaic virus. *Arch Virol* 149:191–197. doi: 10.1007/s00705-003-0201-y
- Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol* 33:1870–1874. doi: 10.1093/molbev/msw054
- Mangrauthia SK, Parameswari B, Jain RK, Praveen S (2008) Role of genetic recombination in the molecular architecture of Papaya ringspot virus. *Biochem Gen*. doi: 10.1007/s10528-008-9198-y
- Martin DP, Murrell B, Golden M, et al (2015) RDP4: Detection and analysis of recombination patterns in virus genomes. *Virus Evol* 1:. doi: 10.1093/ve/vev003
- Ohshima K, Tomitaka Y, Wood JT, et al (2007) Patterns of recombination in turnip mosaic virus genomic sequences indicate hotspots of recombination. *J Gen Virol* 88:298–315. doi: 10.1099/vir.0.82335-0
- Revers F, Le Gall O, Candresse T, et al (1996) Frequent occurrence of recombinant potyvirus isolates. *J Gen Virol* 77:1953–1965. doi: 10.1099/0022-1317-77-8-1953
- Roossinck MJ (1997) Mechanisms of plant virus evolution. *Annu Rev Phytopathol* 35:191–209. doi: 10.1146/annurev.phyto.35.1.191
- Roossinck MJ (2003) Plant RNA virus evolution. *Curr. Opin. Microbiol.* 6:406–409
- Souza Júnior MT, Nickel O, Gonsalves D (2005) Development of virus resistant transgenic papayas expressing the coat protein gene from a Brazilian isolate of Papaya ringspot virus. *Fitopatol Bras*. doi: 10.1590/S0100-41582005000400004
- Urcuqui-Inchima S, Haenni AL, Bernardi F (2001) Potyvirus proteins: A wealth of functions. *Virus Res*.