

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

MARIA CLARA DE SOUZA VILELA

**ANÁLISE COMPARATIVA DOS PADRÕES DE RECOMBINAÇÃO DE CINCO
ESPÉCIES DO GÊNERO *POTYVIRUS***

**UBERLÂNDIA-MG
AGOSTO-2017**

MARIA CLARA DE SOUZA VILELA

**ANÁLISE COMPARATIVA DOS PADRÕES DE RECOMBINAÇÃO DE CINCO
ESPÉCIES DO GÊNERO *POTYVIRUS***

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Universidade Federal de
Uberlândia, como parte das exigências
do Curso de graduação em Agronomia,
para obtenção do título de Engenheiro
Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Alison Talis
Martins Lima

**UBERLÂNDIA-MG
AGOSTO-2017**

MARIA CLARA DE SOUZA VILELA

**ANÁLISE COMPARATIVA DOS PADRÕES DE RECOMBINAÇÃO DE CINCO
ESPÉCIES DO GÊNERO *POTYVIRUS***

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Universidade Federal de
Uberlândia, como parte das exigências
do Curso de graduação em Agronomia,
para obtenção do título de Engenheiro
Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 4 de agosto de 2017.

Eng. Agron. Ana Paula Ferreira Pinheiro
Examinadora

MS. Alexandre Moisés Ericsson de Oliveira
Examinador

Prof. Dr. Alison Talis Martins Lima
Orientador

**UBERLÂNDIA-MG
AGOSTO-2017**

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, pela força e confiança depositada para a conclusão deste trabalho e de vários outros desafios propostos nesta vida.

Agradeço também aos meus pais pelo apoio, companheirismo, paciência e compreensão no decorrer deste curso e em todas as escolhas feitas por mim, não somente no âmbito acadêmico.

Ao Prof. Dr. Alison Talis Martins Lima por ter aceito a função de orientador, servindo de exemplo profissional e acadêmico, além da amizade estabelecida.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para o meu término de curso e conclusão deste trabalho. Muito obrigada!

RESUMO

Vírus de plantas utilizam diversos mecanismos evolutivos para gerar variabilidade genética. Dentre esses mecanismos, a recombinação pode ser extremamente importante, pois acelera a evolução viral por meio do surgimento de novas combinações genômicas. O objetivo deste trabalho foi estimar a frequência de recombinação em genomas de potyvírus obtidos de plantas coletadas em vários países e identificar sítios frequentes “hotspots” e não frequentes “coldspots” de recombinação ao longo dos genomas virais. Sequências de nucleotídeos correspondentes aos genomas completos de cinco espécies distintas foram analisadas: *Bean common mosaic virus*, *Lettuce mosaic virus*, *Plum pox virus*, *Sugarcane mosaic virus* e *Watermelon mosaic virus*. Os genomas virais foram obtidos do GenBank por meio da ferramenta Taxonomy Browser. Os conjuntos de dados foram alinhados utilizando-se o módulo Muscle contido no programa Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) e os eventos de recombinação foram detectados utilizando-se o Recombination Detection Program versão 4 (RDP4). Todos os conjuntos de dados de espécies analisados apresentaram um elevado número de eventos de recombinação sugerindo que esse mecanismo contribui significativamente para os níveis de variabilidade genética observados dentro e entre populações de potyvírus. A ocorrência frequente de recombinação pode resultar na ampliação da gama de hospedeiros ou mesmo na suplantação da resistência de plantas. Neste contexto, o presente estudo fornece informações relevantes para o nortear o melhoramento genético de plantas hospedeiras de potyvírus.

Palavras-chave: Evolução, Breakpoints, Bioinformática, Genoma viral, RNA

ABSTRACT

Plant viruses utilize a range of evolutionary mechanisms to generate genetic variability. Among these mechanisms, recombination can be extremely important, since it accelerates the viral evolution through the emergence of new genomic combinations. The aim of this work was to estimate the recombination frequency in genomes of potyviruses obtained from plants collected in several countries and to identify recombination hot- and coldspots throughout the viral genomes. Nucleotide sequences corresponding to full-length genomes of five distinct species were analyzed: *Bean common mosaic virus*, *Lettuce mosaic virus*, *Plum pox virus*, *Sugarcane mosaic virus* and *Watermelon mosaic virus*. Viral genomes were obtained from GenBank by using Taxonomy Browser. The data sets were aligned using the Muscle module contained in the Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) program and recombination events were detected using the Recombination Detection Program version 4 (RDP4). All species datasets showed a high number of recombination events suggesting that this mechanism contributes significantly to the levels of genetic variability observed within and among potyvirus populations. The frequent occurrence of recombination may result in a wider viral host range or even in overcoming plant defenses. In this context, the present study provides relevant information to guide the genetic breeding of potyvirus host plants.

Keywords: Evolution, Breakpoints, Bioinformatics, Viral genome, RNA

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
2.1. Evolução de vírus que infectam plantas.....	9
2.1.1. Mutação	9
2.1.2. Recombinação	9
2.2. Família <i>Potyviridae</i>	10
2.3. Gênero <i>Potyvirus</i>	11
2.4. Espécies de potyvírus que causam doenças de importância econômica.....	11
2.4.1 <i>Bean common mosaic virus</i> (BCMV)	11
2.4.2. <i>Lettuce mosaic virus</i> (LMV)	12
2.4.3. <i>Plum pox virus</i> (PPV).....	12
2.4.4. <i>Sugarcane mosaic virus</i> (SCMV)	13
2.4.5. <i>Watermelon mosaic virus</i> (WMV)	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1. Obtenção das sequências genômicas virais.....	14
3.2. Alinhamentos múltiplos de sequências	14
3.3. Detecção de recombinação	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4.1. Detecção de recombinação em genomas completos do BCMV	15
4.2. Detecção de recombinação em genomas completos do LMV	16
4.3. Detecção de recombinação em genomas completos do PPV.....	16
4.4. Detecção de recombinação em genomas completos do SCMV.....	17
4.5. Detecção de recombinação em genomas completos do WMV.....	18
5. CONCLUSÃO.....	19
REFERÊNCIAS	20
ANEXOS.....	22

1. INTRODUÇÃO

Segundo Adams et al. (2011), a família *Potyviridae* é a segunda maior família de vírus que infectam plantas. Ela contém cerca de 16% de todas espécies virais descritas (Fauquet et al. 2005) e infecta uma ampla gama de plantas hospedeiras (mono- e dicotiledôneas) em diversas regiões do mundo. A família é composta por oito gêneros: *Brambyvirus*, *Bymovirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus*, *Poacevirus*, *Potyvirus*, *Rymovirus* e *Tritimovirus* (Adams et al. 2011). A formação de inclusões cilíndricas em forma de “cata-vento” no citoplasma de células infectadas é uma característica relevante para a identificação de membros pertencentes à família (Fauquet et al. 2005; Adams et al. 2011).

O gênero *Potyvirus* inclui espécies de grande importância econômica e estão presentes em todo o mundo. Os genomas dos potyvírus são constituídos por uma única molécula de RNA, fita simples, sentido positivo, com aproximadamente 10.000 pares de bases (pb) encapsidada em partículas com morfologia do tipo alongada flexuosa (750 nm x 12 nm). Os potyvírus são transmitidos naturalmente por afídeos de forma não-persistente. São também transmitidos experimentalmente de plantas infectadas para plantas sadias por meio da inoculação via extrato vegetal tamponado (inoculação mecânica) ou utilizando-se preparações virais purificadas ou concentradas (Fauquet et al. 2005; Adams et al. 2011).

A geração de variabilidade genética em populações virais é dirigida pela ação de dois mecanismos evolutivos principais: mutação e recombinação. Em conjunto, 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 é uma importante fonte de variação, pois pode resultar em mudanças genéticas dramáticas nas propriedades biológicas dos vírus. A recombinação refere-se à troca de segmentos de genomas 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 and Lecoq 2008). Trabalhos recentes também indicam

que a recombinação pode estar diretamente envolvida na suplantação da resistência genética de plantas (Feng et al. 2014).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Evolução de vírus que infectam plantas

A geração de variação genética é essencial para todas as entidades biológicas existentes, incluindo-se os vírus. Quanto maior a variabilidade existente em uma dada população, maior é a sua capacidade adaptativa. 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). Nesse contexto, vários estudos têm sido conduzidos recentemente no sentido de se estimar a frequência com que tais mecanismos ocorrem em populações de vírus que infectam diferentes hospedeiros, incluindo-se as plantas (Revers et al. 1996; Desbiez and Lecoq 2008).

2.1.1. Mutação

Segundo García-Arenal et al. (2003), a mutação é o mecanismo no qual nucleotídeos são incorporados incorretamente aos genomas virais durante o processo de replicação. É considerada a principal fonte inicial de variações genéticas nas populações. A maioria das mutações que ocorrem em genomas virais não são de natureza adaptativa, ou seja, na maioria das vezes, resultam em efeitos deletérios aos vírus. Porém, algumas mutações podem resultar em novas propriedades biológicas como, por exemplo, a capacidade de infectar novos hospedeiros ou suplantar a resistência genética de plantas (Roossinck 2003). Uma possível explicação para as altas taxas de mutação em vírus de RNA seria a falta de atividade de correção de erros das replicases virais e também a rápida cinética replicativa de genomas compostos por moléculas de RNA quimicamente instáveis.

2.1.2. Recombinação

No decorrer do processo de replicação, segmentos de ácidos nucleicos (DNA ou RNA) podem ser trocados entre genomas de diferentes variantes genéticas de uma mesma espécie viral ou mesmo entre espécies distintas em infecções mistas (García-Arenal et al. 2003). Estudos indicam que populações de potyvírus são altamente propensas à ocorrência de recombinação (Krause-Sakate et al. 2004; Desbiez and Lecoq 2008; Desbiez et al. 2011; Feng et al. 2014). 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).

2.2. Família *Potyviridae*

A família *Potyviridae* é composta por oito gêneros *Brambyvirus*, *Bymovirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus*, *Poacevirus*, *Potyvirus*, *Rymovirus* e *Tritimovirus*. Esses gêneros são definidos de acordo com o tipo de inseto vetor e o relacionamento filogenético. Membros dessa família causam perdas econômicas significativas em várias espécies de plantas cultivadas e não-cultivadas (mono e dicotiledôneas) (Fauquet et al. 2005).

Os vírus classificados na família *Potyviridae* possuem, em sua maioria, genomas monopartidos (gêneros: *Potyvirus*, *Poacevirus*, *Ipomovirus*, *Macluravirus*, *Rymovirus*, *Tritimovirus*, *Brambyvirus*) enquanto os vírus pertencentes ao gênero *Bymovirus* são bipartidos. Os genomas são compostos por RNA de fita simples, sentido positivo, encapsidado em partículas com morfologia do tipo alongada flexuosa. Os vírions não são envelopados e seus comprimentos variam de acordo com o gênero. Na extremidade 5' do RNA genômico encontra-se uma proteína de origem viral ligada covalentemente chamada VPg (do inglês “Viral protein genome-linked”) enquanto na extremidade 3' observa-se a presença de uma cauda PoliA (Adams et al. 2011).

Os genomas desses vírus codificam uma grande poliproteína que sofre autoproteólise por três proteínas virais dando origem a aproximadamente 10 proteínas maduras (P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, VPg, NIa-Pro, NIb, CP e PIPO). 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).

Algumas espécies dessa família apresentam gama de hospedeiros restritas enquanto algumas poucas são capazes de infectar plantas pertencentes a cerca de 30 famílias distintas. A transmissão é realizada por vários tipos distintos de organismos. Por exemplo, espécies pertencentes aos gêneros *Potyvirus* e *Macluravirus* são transmitidos por afídeos de forma não persistente. Já os membros dos gêneros *Rymovirus*, *Poacevirus* e *Tritimovirus* são transmitidos por ácaros de forma semi-persistente. Membros do gênero *Bymovirus* são transmitidos por protozoários que infectam raízes de plantas e pertencem

à ordem *Plasmodiophorales*. Membros do gênero *Ipomovirus* são transmitidos por moscas brancas (Fauquet et al. 2005; Adams et al. 2011).

2.3. Gênero *Potyvirus*

O gênero *Potyvirus* é o mais numeroso da família *Potyviridae*, com mais de 170 espécies descritas. Em conjunto, essas espécies infectam uma ampla gama de plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas em diferentes regiões climáticas, causando grandes danos econômicos em várias culturas (Fuji et al. 2003; Fauquet et al. 2005; Mahmoud et al. 2008; Zheng et al. 2008; Ciuffo et al. 2016). Suas partículas apresentam morfologia do tipo alongada e flexuosa com comprimento de 680 - 900 nm e diâmetro variando de 11 - 15 nm. A transmissão dos potyvírus ocorre por meio de afídeos e, em alguns casos, via sementes infectadas. Além disso, também são transmissíveis de forma experimental por inoculação via extrato vegetal tamponado (Fauquet et al. 2005).

O genoma dos potyvírus é constituído por uma única molécula de RNA de fita simples, com comprimento de aproximadamente 10.000 nucleotídeos, sentido positivo, apresentando uma única ORF (fase aberta de leitura, 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 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).

2.4. Espécies de potyvírus que causam doenças de importância econômica

2.4.1 *Bean common mosaic virus* (BCMV)

O mosaico comum do feijoeiro foi uma das primeiras viroses descritas na literatura, e antes do surgimento de cultivares resistentes, era a doença viral que mais causava dano para a cultura do feijão. A incidência tem variado de 50 a aproximadamente 100% devido ao uso de cultivares suscetíveis e sementes infectadas. De acordo com o estágio da planta na época de infecção, as perdas na produção podem ser severas, chegando à 90% quando a infecção ocorre no início do desenvolvimento das plantas ou quando a doença é causada por vírus vindo da semente. De forma geral, o sintoma é o mosaico foliar acompanhando as nervuras. Também ocorre diminuição do tamanho do folíolo, retorcimento,

enrolamento e formação de bolhas nas áreas verde escuras quando os sintomas são mais severos (Kimati, H.; Amorim, Bergamin Filho, A.; Rezende 1997).

Partículas do BCMV apresentam morfologia do tipo alongada flexuosa, medindo 720 - 770 nm de comprimento e 12 - 15 nm de diâmetro. O vírus é transmitido via semente que é um importante meio de introdução do vírus na lavoura. Dependendo do cultivar, estirpe do vírus e estágio da planta no momento da infecção a porcentagem de transmissão pelas sementes pode variar de 3 a 95% (Kimati, H.; Amorim, Bergamin Filho, A.; Rezende 1997).

2.4.2. *Lettuce mosaic virus* (LMV)

No Brasil, dentre os vírus que causam mosaico e mosqueado na alface o agente causal de maior importância é o *Lettuce mosaic virus*. Devido ao intercâmbio internacional de sementes, este vírus encontra-se disseminado por todo o mundo. De forma geral, os sintomas mais frequentes são mosqueado, mosaico e clareamento de nervuras. O LMV apresenta partículas com morfologia alongada flexuosa, medindo aproximadamente 730 nm de comprimento por 13 nm de diâmetro. A disseminação do LMV à longa distância ocorre por meio de sementes infectadas com uma taxa de transmissão relativamente baixa e há variação entre cultivares e dentro de cultivares. O LMV pode ser transmitido por pólen e pelo óvulo ou por afídeos de maneira não persistente (Kimati, H.; Amorim, Bergamin Filho, A.; Rezende 1997).

2.4.3. *Plum pox virus* (PPV)

O PPV apresenta partículas alongadas flexuosas, medindo cerca de 750 nm de comprimento por 12 nm de diâmetro. Seu genoma é constituído por uma molécula de RNA com aproximadamente 9740 nucleotídeos incluindo-se as regiões 3'UTR e 5'UTR. Os sintomas mais frequentes causados pelo PPV em hospedeiros suscetíveis são manchas verde claras nas folhas, anéis ou linhas cloróticas que se tornam necróticas com o tempo. Também ocorre clareamento das nervuras e distorção foliar. Os frutos apresentam manchas ou anéis que tendem a desaparecer quando o fruto está maduro, além disso apresentam baixo teor de açúcar, queda prematura e má formação (García et al. 2014). A transmissão ocorre por meio de enxertia, sementes infectadas e afídeos (Kimati, H.; Amorim, Bergamin Filho, A.; Rezende 1997). Embora não haja relatos desse vírus no campo, pois ele não ocorre naturalmente em fruteiras no Brasil, há relatos em materiais infectados importados do Chile, com isso é de grande importância que os cuidados

devidos sejam tomados para que não haja introdução deste patógeno em território nacional.

2.4.4. *Sugarcane mosaic virus* (SCMV)

Uma das doenças mais comuns nos países canavieiros é o mosaico da cana de açúcar. No Brasil, na década de 1920, graves epidemias de mosaico ocorreram o que levou à substituição das variedades suscetíveis por materiais resistentes. A resistência varietal, fertilidade do solo, incidência, presença de outras doenças e proximidade da fonte de inóculo são algumas características que vão interferir nas perdas causadas por SCMV. Já houve relatos de perdas na produção variando de 46 até 86%. Os sintomas mais comuns são mosaico e subdesenvolvimento das touceiras. Variedades extremamente suscetíveis podem apresentar colmos com sintomas de riscas e estrias deprimidas que podem progredir até a necrose do tecido subepidérmico, com isso o encurtamento dos entrenós é acentuado. O vírus também ataca o milho, sorgo e capim massambará, pois apresentam estirpes que atacam numerosas gramíneas. O SCMV é transmitido por um grande número espécies de pulgões (Kimati, H.; Amorim, Bergamin Filho, A.; Rezende 1997).

2.4.5. *Watermelon mosaic virus* (WMV)

O WMV é encontrado em todas as regiões produtoras de cucurbitáceas. WMV pode infectar espécies de 27 famílias de plantas, dentre elas leguminosas, malváceas, quenopodiáceas e ornamentais, além de cucurbitáceas (Fauquet et al. 2005). Os sintomas induzidos pelo WMV são, mosqueado, mosaico, rugosidade e deformação foliar, além disso as plantas afetadas apresentam redução na produtividade e na qualidade dos frutos.

A transmissão desse vírus ocorre por afídeos e a transmissão via semente ainda não foi relatada. O SMV pode sobreviver no campo em plantas hospedeiras infectadas do plantio anterior ou espécies alternativas suscetíveis (Kimati, H.; Amorim, Bergamin Filho, A.; Rezende 1997).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção das sequências genômicas virais

Conjuntos de dados compostos por genomas completos de cinco espécies de potyvírus (*Bean common mosaic virus*, BCMV; *Lettuce mosaic virus*, LMV; *Plum pox virus*, PPV; *Sugarcane mosaic virus*, SCMV e *Watermelon mosaic virus*, WMV) foram analisados neste estudo. Os genomas foram obtidos do GenBank por meio do Taxonomy Browser (NCBI).

3.2. Alinhamentos múltiplos de sequências

Os genomas completos referentes a cada uma das espécies virais foram alinhados separadamente utilizando-se o módulo Muscle (Edgar 2004) implementado no programa Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) (Kumar et al. 2016).

3.3. Detecção de recombinação

Os conjuntos de dados alinhados foram analisados para a presença de segmentos recombinantes por meio do programa Recombination Detection Program versão 4 (RDP4) (Martin et al. 2015) no qual estão incluídos sete métodos distintos para detecção de recombinação: RDP (Martin and Rybicki 2000), GENECONV (Padidam et al. 1999), Chimaera (Posada and Crandall 2001), MaxChi (Smith 1992), BootScan (Martin et al. 2005), SiScan (Gibbs et al. 2000), 3Seq (Boni et al. 2007). Gráficos nos quais foram plotados os sítios de recombinação detectados em cada um dos conjuntos de dados também foram construídos utilizando-se o RDP4. O número de sítios de recombinação foi contabilizado em janelas móveis de 200 nucleotídeos ao longo de todos os genomas virais. Somente eventos detectados por mais de três métodos de análise foram contabilizados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Detecção de recombinação em genomas completos do BCMV

Nos 64 genomas completos do BCMV analisados neste estudo foram detectados 63 eventos de recombinação (Tabela A1). Todos os sítios de recombinação detectados nesse conjunto de dados foram plotados em um gráfico (Figura 1) por meio do uso do RDP4. É possível observar que houve uma distribuição uniforme dos sítios de recombinação; em outras palavras, não foram observados sítios frequentes de recombinação ao longo dos genomas do BCMV, indicando que não há regiões de maior propensão à ocorrência de recombinação.

Em um estudo conduzido na Oregon State University (EUA) foi realizada a caracterização biológica e molecular de dois novos isolados de campo do BCMV coletados no ano de 2011 em plantas de feijoeiro apresentando mosaico e subdesenvolvimento (Feng et al. 2014). Após o sequenciamento completo dos genomas virais, e posterior análise em softwares para detecção de recombinação, foi observado que ambos os isolados apresentavam uma origem recombinante. Interessantemente, esses dois novos isolados foram capazes de suplantar a resistência genética conferida pelo gene *bc-2*². Os resultados apresentados no estudo não somente indicaram que a recombinação atua sobre genomas do BCMV, mas também que sua ocorrência é capaz de ampliar a capacidade adaptativa viral por meio da suplantação de genes de resistência (Feng et al. 2014).

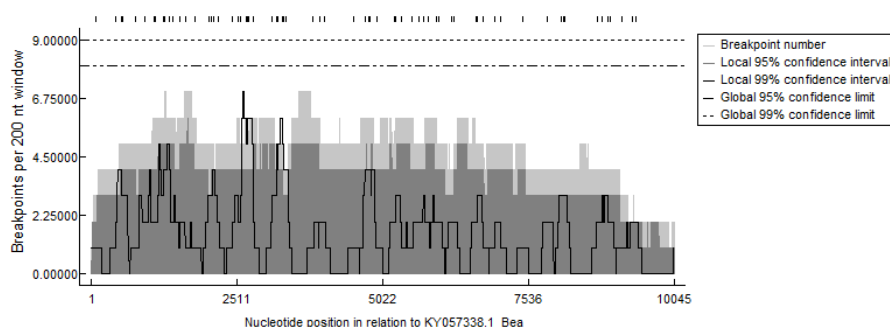


Figura 1. Mapa de densidade de sítios de recombinação (“breakpoints”) detectados em genomas alinhados do BCMV.

4.2. Detecção de recombinação em genomas completos do LMV

Um total de 11 eventos de recombinação foram detectados ao longo de 32 genomas completos do LMV (Tabela A2). Similar aos resultados obtidos nas análises realizadas para o BCMV, não foi detectada nenhuma região nos genomas do LMV com maior propensão à ocorrência de sítios de recombinação (Figura 2).

Isolados recombinantes do LMV têm sido relatados ocorrendo naturalmente em condições de campo (Krause-Sakate et al. 2004). Foi identificado um isolado que, posteriormente, foi denominado LMV-Tn2, produto da recombinação entre duas estirpes do LMV (LMV-Common e LMV-Most) transmitidas via sementes.

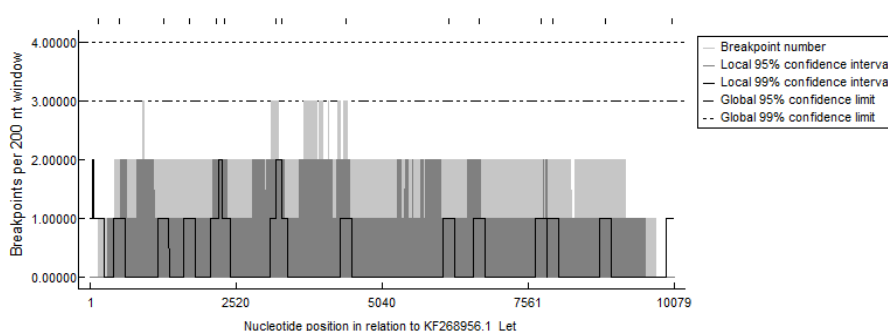


Figura 2. Mapa de densidade de sítios de recombinação (“breakpoints”) detectados em genomas alinhados do LMV.

4.3. Detecção de recombinação em genomas completos do PPV

Um total de 51 eventos recombinação foram detectados ao longo de 133 genomas completos do PPV (Tabela A3). Neste caso, também não foram observadas regiões genômicas com maior propensão à ocorrência de sítios de recombinação, estando estes distribuídos uniformemente ao longo dos genomas virais (Figura 3).

Um total de quatro isolados do PPV coletados na República da Latvia foram molecularmente caracterizados (Glasa et al. 2011). Dos quatro isolados, dois apresentaram evidências de recombinação em duas regiões distintas do genoma. Análises mais detalhadas indicaram a presença de dois eventos independentes, já que apresentavam como parentais isolados de diferentes estirpes do PPV. No mesmo trabalho, a variabilidade genética dos quatro isolados foi determinada. Os autores atribuíram os altos níveis de variabilidade genética encontrados, pelo menos em parte, à ocorrência frequente de recombinação (Glasa et al. 2011).

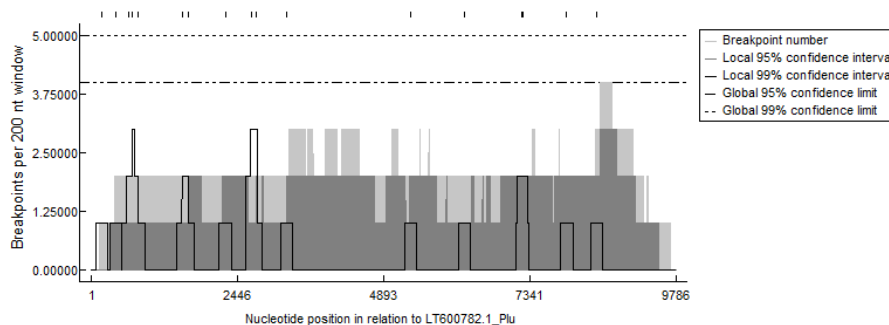


Figura 3. Mapa de densidade de sítios de recombinação (“breakpoints”) detectados em genomas alinhados do PPV.

4.4. Detecção de recombinação em genomas completos do SCMV

O conjunto de dados referente ao SCMV, composto por 92 genomas completos do vírus, apresentou 13 eventos de recombinação (Tabela A4). Similar aos resultados obtidos para outros potyvírus analisados neste estudo, nenhuma região genômica com maior propensão à ocorrência de sítios de recombinação foi detectada (Figura 4).

Trabalhos anteriores sugerem que a recombinação é o principal mecanismo evolutivo envolvido na emergência de estirpes do SCMV (Zhong et al. 2005; Padhi and Ramu 2011). Esses trabalhos indicam que vários eventos de recombinação detectados em genomas do SCMV têm como vírus parentais indivíduos de outras espécies (recombinação interespecífica). Além disso, os eventos de recombinação detectados apresentaram pelo menos um dos breakpoints localizado na região que compreende a sequência codificadora das proteínas 6K1-VPg-NIaPro-NIb (Padhi and Ramu 2011). Esses resultados contrastam com aqueles apresentados no presente estudo, já que não foi detectado nenhum “hotspot” de recombinação ao longo dos genomas analisados. Uma provável explicação é que o conjunto de dados analisado aqui envolve um número de sequências muito maior do que aquele analisado nos trabalhos anteriores. Além disso, no presente trabalho foi aplicada uma metodologia estatística para determinação dos sítios de recombinação. Por outro lado, as conclusões dos trabalhos nos quais foram observados sítios frequentes de recombinação em genomas do SCMV são baseados em observações visuais sem uma abordagem estatística sistemática.

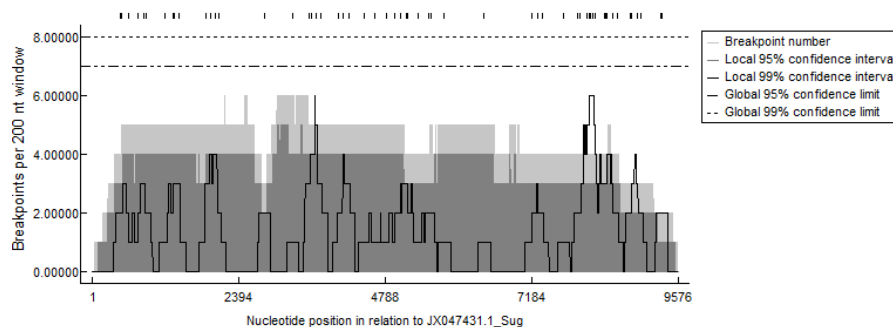


Figura 4. Mapa de densidade de sítios de recombinação (“breakpoints”) detectados em genomas alinhados do SCMV.

4.5. Detecção de recombinação em genomas completos do WMV

Nos 85 genomas do WMV analisados neste estudo foram identificados 56 eventos de recombinação (Tabela A5). Mais uma vez, não houve maior predisposição de uma região específica do genoma à ocorrência de sítios de recombinação (Figura 5).

Em um trabalho abrangente foram caracterizados mais de mil isolados de WMV coletados entre os anos de 2004 e 2010 na França (Desbiez et al. 2011). Apesar do grande número de genomas analisados, somente sete recombinantes foram detectados. Neste mesmo estudo, os isolados recombinantes foram comparados a isolados não recombinantes. Contrário às evidências obtidas em outros trabalhos que estudaram a recombinação em potyvírus, nenhum dos isolados recombinantes foi mais adaptado do que os isolados não recombinantes. Nesses experimentos, a gama de hospedeiros e a capacidade de transmissão por afídeos vetores de isolados recombinantes foi similar à de isolados não recombinantes (Desbiez et al. 2011).

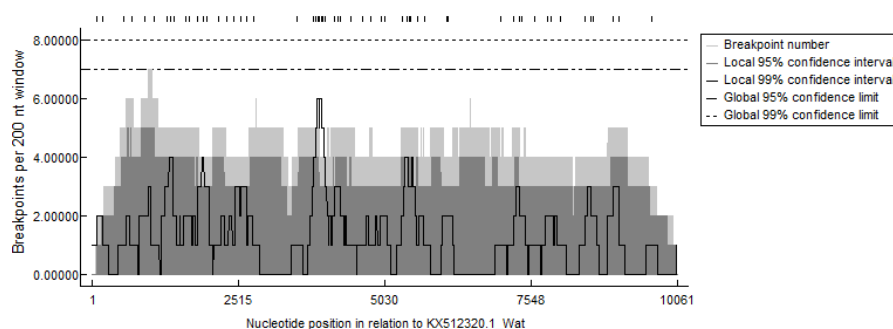


Figura 5. Mapa de densidade de sítios de recombinação (“breakpoints”) detectados em genomas alinhados do WMV.

5. CONCLUSÃO

A partir dos resultados apresentados neste estudo, conclui-se que a recombinação ocorre frequentemente nos genomas das espécies de potyvírus analisadas. Entretanto, não houve evidência do acúmulo de sítios de recombinação em regiões específicas, sugerindo uma distribuição uniforme ao longo do genoma.

Devido ao grande número de eventos de recombinação encontrados em alguns conjuntos de dados de espécies, espera-se que a capacidade adaptativa desses vírus seja alta. De fato, trabalhos publicados ao longo dos últimos 15 anos indicam que alguns eventos de recombinação são capazes de modificar profundamente as características biológicas de alguns vírus, ampliando sua gama de hospedeiros e/ou suplantando as respostas de defesa das plantas.

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
- Boni MF, Posada D, Feldman MW (2007) An exact nonparametric method for inferring mosaic structure in sequence triplets. *Genetics* 176:1035–1047. doi: 10.1534/genetics.106.068874
- Ciuffo M, Mammella M, Vallino M, et al (2016) Molecular identification and biological characterization of a new potyvirus in lettuce. *Arch Virol* 161:2549–2554. doi: 10.1007/s00705-016-2920-x
- 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
- Desbiez C, Lecoq H (2008) Evidence for multiple intraspecific recombinants in natural populations of Watermelon mosaic virus (WMV, Potyvirus). *Arch Virol* 153:1749–1754. doi: 10.1007/s00705-008-0170-2
- 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
- Fuji S, Yamamoto H, Furuya H, Naito H (2003) Characterization of a new potyvirus isolated from Chinese artichoke in Japan. *Arch Virol* 148:2249–2255. doi: 10.1007/s00705-003-0169-7
- García-Arenal F, Fraile A, Malpica JM (2003) Variation and evolution of plant virus populations. *Int. Microbiol.* 6:225–232
- García JA, Glasa M, Cambra M, Candresse T (2014) Plum pox virus and sharka: A model potyvirus and a major disease. *Mol Plant Pathol* 15:226–241. doi: 10.1111/mpp.12083
- Gibbs MJ, Armstrong JS, Gibbs AJ (2000) Sister-Scanning: a Monte Carlo procedure for assessing signals in recombinant sequences. *Bioinformatics* 16:573–582. doi: 10.1093/bioinformatics/16.7.573
- Glasa M, Malinowski T, Predajňa L, et al (2011) Sequence variability, recombination analysis, and specific detection of the W strain of Plum pox virus. *Phytopathology* 101:980–5. doi: 10.1094/PHYTO-12-10-0334
- Kimati, H.; Amorim, Bergamin Filho, A.; Rezende 1997 (1997) Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas

- 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
- Mahmoud SYM, Abo-El Maaty SA, El-Borollosy AM, Abdel-Ghaffar MH (2008) Identification of Onion yellow dwarf potyvirus as one of the major viruses infecting garlic in Egypt. *Int J Virol* 4:1–13. doi: 10.3923/ijv.2008.1.13
- Martin D, Rybicki E (2000) RDP: Detection of recombination amongst aligned sequences. *Bioinformatics* 16:562–563. doi: 10.1093/bioinformatics/16.6.562
- 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
- Martin DP, Posada D, Crandall KA, Williamson C (2005) A Modified Bootscan Algorithm for Automated Identification of Recombinant Sequences and Recombination Breakpoints. *AIDS Res Hum Retroviruses* 21:98–102. doi: 10.1089/aid.2005.21.98
- Padhi A, Ramu K (2011) Genomic evidence of intraspecific recombination in sugarcane mosaic virus. *Virus Genes* 42:282–285. doi: 10.1007/s11262-010-0564-6
- Padidam M, Sawyer S, Fauquet CM (1999) Possible emergence of new geminiviruses by frequent recombination. *Virology* 265:218–225. doi: 10.1006/viro.1999.0056
- Posada D, Crandall KA (2001) Evaluation of methods for detecting recombination from DNA sequences: computer simulations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:13757–62. doi: 10.1073/pnas.241370698
- 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
- Smith JM (1992) Analyzing the mosaic structure of genes. *J Mol Evol* 34:126–129. doi: 10.1007/BF00182389
- Urcuqui-Inchima S, Haenni AL, Bernardi F (2001) Potyvirus proteins: A wealth of functions. *Virus Res.* 74:157–175
- Zheng YX, Chen CC, Chen YK, Jan FJ (2008) Identification and characterization of a potyvirus causing chlorotic spots on Phalaenopsis orchids. *Eur J Plant Pathol* 121:87–95. doi: 10.1007/s10658-008-9281-6
- Zhong Y, Guo A, Li C, et al (2005) Identification of a naturally occurring recombinant isolate of Sugarcane mosaic virus causing maize dwarf mosaic disease. *Virus Genes* 30:75–83. doi: 10.1007/s11262-004-4584-y

ANEXOS

Tabela A1. Eventos de recombinação detectados no conjunto de dados referente ao BCMV.

<i>Bean common mosaic virus</i>							
Event	Recombination Breakpoints		Recombinant	Parental		Methods	P- value
	Begin	End		Minor	Major		
1	1*	1838	DQ666332	KT175569	Unknown	RGBMCS3	5.39 X 10 ⁻¹⁹⁴
2	0*	2772	KF919299	KF919300	KT175569	RGBMCS3	7.61 X 10 ⁻¹⁹¹
3	434	1290	KJ645793	Unknown	KF919297	RGBMCS3	1.16 X 10 ⁻¹²⁴
4	21*	2241	^AJ312438	KC832502	AJ312437	RGBMCS3	7.47 X 10 ⁻⁹⁴
5	0*	2141	^KT175569	KM023744	Unknown	RGBMCS3	3.33 X 10 ⁻⁷¹
6	968	1662	HG792064	KF919300	KT175569	GBMCS3	4.18 X 10 ⁻⁵⁷
7	2561	3397	HG792064	KF919298	KU896809	RGBMCS3	7.95 X 10 ⁻⁶⁸
8	4965	5758	HG792064	KF919300	KU896809	RGBMCS3	1.13 X 10 ⁻⁷⁸
9	8197	9007*	HG792064	KF919300	KU896809	RGBMCS3	7.08 X 10 ⁻⁶⁷
10	1297	6359*	^KJ807802 KM051426 KJ807800	KJ807804 KM051431 KJ807803	KJ807801 KM051430 KM051429	RGBMCS3	1.04 X 10 ⁻⁵⁷
11	9301	10003*	^KF919300 KJ645793 KF919298 KF919297 GQ219793 AY863025	KT175568	Unknown Unknown Unknown Unknown Unknown Unknown	RGBMCS3	3.10 X 10 ⁻⁵⁷
12	125*	6021	^KJ807806	KJ807803	KJ807810	RGBMCS3	1.65 X 10 ⁻⁵¹
13	6731	9370	^KF919299 KY057338 AH015028 KU896809 KT175570 KT175569 KM023744 KF114860 HG792064 EU761198 AY112735	KT175568	Unknown	RGBMCS3	1.53 X 10 ⁻⁹⁰
14	9429*	10053*	^KT175568	Unknown	KU896809	RGBMCS3	2.90 X 10 ⁻⁴²
15	3153	5273	^AJ312438	AJ312437	Unknown	RGMCS3	3.90 X 10 ⁻³⁶
16	5*	6260*	^KJ807803 KM051431	KJ807804	KJ807805 KM051430	RGBMCS3	4.15 X 10 ⁻³⁸
17	2053	2707	AY863025	DQ666332	KF919300	RGMCS3	8.00 X 10 ⁻³⁶
18	5*	1139*	^KJ807800	Unknown	KJ807802	GBMCS3	1.02 X 10 ⁻³²

			KM051426	Unknown			
19	99	493	^KC832501 NC_003397 AY575773 AJ312437	Unknown	KC832502	RGBMCS3	2.54 X 10 ⁻³⁰
20	7090	8974	^KJ807821	KJ807820	KJ807819	RGBMCS3	1.14 X 10 ⁻²⁹
21	117*	4825	^KJ807821	Unknown	KJ807819	RGBMCS3	1.29 X 10 ⁻³⁶
22	959	4825	^KJ807815	Unknown	KJ807818	RGBMCS3	6.16 X 10 ⁻³⁸
23	494*	1073	^KC832501	KP903372	AY575773	RMCS3	2.92 X 10 ⁻²⁸
24	3348	5293	KC832502	AJ312437	KT175568	RGBMCS3	3.33 X 10 ⁻²⁸
25	4553	5680	KJ807816	KJ807810	KJ807818	RGMCS3	1.14 X 10 ⁻²²
26	2145*	7922*	KJ807805	KJ807801	KJ807807	RGMS3	1.11 X 10 ⁻³⁰
27	3354	5557	KJ807814	KC478389	KJ807809	RGMCS3	5.54 X 10 ⁻²¹
28	7468	10053*	KJ807801	KJ807802	KM051429	GMCS3	6.77 X 10 ⁻²¹
29	6683	10053*	^KJ807809	KJ807810	KJ807812	RGBMCS3	4.93 X 10 ⁻²⁰
30	1555	3854	^KJ807810	KJ807801	Unknown	RGMCS3	1.54 X 10 ⁻¹⁹
31	559	4761	^KJ807812 KJ807809	KJ807801 KM051430	Unknown	RGBMCS3	1.00 X 10 ⁻¹⁷
32	1314	2070	^KC832502 AJ312438	KC832501 AY575773	KT175568 KY057338	RGMCS3	1.37 X 10 ⁻¹⁷
33	5292*	6795*	^KT175570	KT175568	KC832502	RGBMCS3	2.47 X 10 ⁻¹⁹
34	3252	3984	KJ807809	KJ807804	KJ807812	RGBMCS3	6.47 X 10 ⁻¹⁵
35	15*	524	^KF919298 KF919300 KF919297 GQ219793	Unknown	KJ807805 KM051430 KM051429 KM051428	RGBMCS3	3.70 X 10 ⁻¹⁴
36	5853	7235*	KJ807808	KM051429	KJ807804	RGBMCS3	1.26 X 10 ⁻¹³
37	1277	2865	^AJ312437 NC_003397 KC832501 AY575773	KM051429 KM051430 KM051428 KM051427	Unknown Unknown Unknown Unknown	RGBMCS3	5.70 X 10 ⁻¹³
38	4849	7204*	^KJ807819	Unknown	KJ807817	RMCS3	5.40 X 10 ⁻¹⁵
39	425*	2720	^KU896809 KY057338 AH015028 KT175570 KT175569 KT175568 KM076650 KM023744 KF114860 EU761198	Unknown	KJ807818 KM051430 KM051429 KM051428 KM051427 KM051425 KJ807819 KJ807817 KJ807816 KJ807801	RBMCS3	3.08 X 10 ⁻¹²

			AY112735 DQ666332		KJ807799 KC478389		
40	8166	9181	^KT175568 AH015028 KT175570 KT175569 KM023744 KF114860 KF919299 HG792064 EU761198 AY112735	KC832501 AY575773	KP903372	RGMC3	3.08 X 10 ⁻¹²
41	5379	8142	^KJ807812	KJ807811	Unknown	RGMC3	1.23 X 10 ⁻¹¹
42	6022*	6992	^KJ807806 KJ807810 KJ807809	Unknown Unknown	KM051429 KM051430 KM051428	RMC3	1.54 X 10 ⁻¹¹
43	813*	5852*	^KJ807815	KJ807808	KJ807817	RGMC3	2.00 X 10 ⁻¹⁰
44	7096*	8754	^KJ807802 KM051426 KJ807801 KJ807800	Unknown	KM051429 KM051430 KM051428 KM051427	RMC3	2.06 X 10 ⁻¹⁰
45	1291	2074*	^KP903372 KU896809 KT175568 KF114860	Unknown Unknown Unknown Unknown	KJ807801 KM051430 KM051429 KM051428	RMCS3	1.54 X 10 ⁻⁰⁹
46	685*	1129	^KJ807818 KJ807819 KJ807817 KJ807816	KJ807814	KJ807821	RGBMCS3	8.40 X 10 ⁻⁰⁸
47	50*	684*	^KJ807814	KJ807816	KJ807820	RGBMCS3	3.90 X 10 ⁻⁰⁹
48	2471	5853	^KJ807804 KJ807815 KJ807812 KJ807811 KJ807809 KJ807808 KJ807807 KJ807806 KJ807803 KJ807802 KJ807800	KJ807820	KM051429 KM051430 KM051428 KM051427 KM051425 KJ807801 KJ807799	RMC3	7.71 X 10 ⁻⁰⁹
49	5977	6643*	^KJ807809 KM051430 KM051429	Unknown Unknown	HG792064 KU896809 KT175568	RMC3	9.96 X 10 ⁻¹⁰

			KM051428		KF114860		
			KM051427				
			KM051425				
			KJ807821				
			KJ807820				
			KJ807818				
			KJ807817				
			KJ807816				
			KJ807815				
			KJ807814				
			KJ807812				
			KJ807811				
			KJ807805				
			KJ807804				
			KJ807802				
			KJ807801				
			KJ807800				
			KJ807799				
50	2248*	2727	^AJ312438	KF439722	KC832502	RMCS3	2.65 X 10 ⁻⁰⁸
51	8844	9454*	^KJ807819	KJ807820	KJ807818	RBMC3	4.26 X 10 ⁻⁰⁷
52	2242	2736	^KP903372	Unknown	KM980459	RBMCS3	1.50 X 10 ⁻⁰⁷
			HG792064	Unknown	KJ508092		
53	3233	4064	KJ807820	KJ807821	KJ807811	RBMS	1.31 X 10 ⁻⁰⁷
54	1*	180*	^KC832502	KT175570	KY057338	RGMCS3	9.36 X 10 ⁻⁰⁸
55	314*	811	^KJ807808	KC478389	KJ807802	RMCS3	1.13 X 10 ⁻⁰⁵
			KJ807811		KM051430		
			KJ807807		KM051429		
			KJ807805		KM051428		
			KJ807804		KM051427		
			KJ807803		KM051425		
56	7902	8814	^KJ807814	KJ807820	Unknown	RGMCS3	1.50 X 10 ⁻⁰⁹
57	7918	10083*	KC832502	AY575773	KP903372	RMCS3	8.80 X 10 ⁻⁰⁷
58	6257	6687	^KC832502	Unknown	KM023744	RMCS3	4.07 X 10 ⁻⁰⁴
59	2203*	2722	KT175569	Unknown	KM980459	RCS3	4.14 X 10 ⁻⁰⁴
60	895	1120	^KJ807821	Unknown	AJ312438	RMCS3	6.16 X 10 ⁻¹²
			KM051430		KC832502		
			KM051429				
			KM051428				
			KM051427				
			KM051425				
			KJ807820				
			KJ807812				
			KJ807811				
			KJ807810				

			KJ807808 KJ807807 KJ807806 KJ807805 KJ807804 KJ807803 KJ807802 KJ807801 KJ807799 KC478389				
61	2497*	3334	KJ807811 KJ807807	KJ807800	KJ807801 KM051430	RGMCS	9.42 X 10 ⁻⁰⁹
62	1664*	2104*	^HG792064 KY057338 AH015028 KM023744 EU761198 AY112735	Unknown	KJ807804	MCS3	3.05 X 10 ⁻¹¹
63	1381*	5976*	^KJ807820	KJ807810	Unknown	RMCS3	1.56 X 10 ⁻¹⁵

Tabela A2. Eventos de recombinação detectados no conjunto de dados referente ao LMV.

<i>Lettuce mosaic virus</i>							
Event	Recombinant Sequence		Recombinant	Parental		Methods	P- value
	Begin	End		Minor	Major		
1	3054*	9994*	KJ161179	X97704	KJ161182	RBMCS <u>3</u>	2.32X 10 ⁻³²
2 2	504	2323	^KJ161183 KJ161184	KJ161175	KJ161177	<u>R</u> BGMCS3	2.50X 10 ⁻²⁹
3	3426*	10039	KJ161176	Unknown	KF268955	RGMCS <u>3</u>	1.15X 10 ⁻²¹
4 4	6718	9372*	^KJ161181 KJ161180	Unknown Unknown	KJ161177	RBMCS <u>3</u>	6.08X 10 ⁻¹⁴
5 5 5 5	1260*	3301	^KJ161182 KJ161181 KJ161180 KJ161179	Unknown Unknown Unknown Unknown	AJ278854 KF268955 KF268954 KJ161173	RMCS <u>3</u>	1.08X 10 ⁻¹⁰
6 6 6 6 6	3210	6191	^KJ161173 KF268955 KF268954 KJ161182 AJ278854	KJ161193 KJ161192 KJ161191 KJ161187	KJ161177 KJ161184 KJ161183	RBM <u>C</u> S3	1.12X 10 ⁻⁰⁷
7	4406	7781	KJ161172	Unknown	KJ161187	RMCS <u>3</u>	2.72X 10 ⁻⁰⁸

8	7986	8882	^KF268956	Unknown	KJ161188	RMC <u>3</u>	5.44X 10 ⁻⁰⁶
9	1*	2180	^X97705tu	X97704	KJ161193	RGBMCS <u>3</u>	8.26X 10 ⁻¹⁴
9			NC_003605	KF955619	KJ161192		
10	136	1706	^KF955619	Unknown	X97704	RMCS <u>3</u>	6.01X 10 ⁻⁰⁹
11	1260	3120*	^KJ161177	Unknown	KJ161173	RMC <u>3</u>	1.42X 10 ⁻⁰⁴

Tabela A3. Eventos de recombinação detectados no conjunto de dados referente ao PPV.

<i>Plum pox mosaic virus</i>							
Event	Recombination Breakpoints		Recombinant	Parental		Methods	P- value
	Begin	End		Minor	Major		
1	690	1429*	AY912055	FM955843	HG916862	<u>R</u> GBMCS3	4.00 X 10 ⁻¹²⁴
2	1*	2686	^HF674399	Unknown	HF585101	R <u>B</u> GMCS3	1.21 X 10 ⁻¹¹⁹
3	3261	4005*	HF585099	JQ794501	AJ243957	<u>R</u> GBMCS3	1.82 X 10 ⁻⁷⁹
4	1263*	8448	^KM273015	AY953264	EU734794	R <u>B</u> GMCS <u>3</u>	7.93 X 10 ⁻¹⁰⁰
			LN614587	LT600782			
			KF472134	LT600781			
			HG964686	LT600780			
			HG964685	LT600779			
			JX013532	KU508427			
			JQ794501	KP998124			
			GU474956	KU948432			
			GU461889	LT158756			
			AY028309	KR028387			
			EU117116	KR028386			
5	1526	2686	^EU734794	Unknown	AJ243957	<u>R</u> GMCS3	2.23 X 10 ⁻⁷⁰
6	2242	5348	HG916860	HG916861	LN852400	<u>R</u> GBMCS3	3.49 X 10 ⁻³⁷
7	617	1616	HG916860	HG916861	LN852400	<u>R</u> GBMCS3	2.22 X 10 ⁻²⁷
8	7196	7955	HG916860	HG916861	LN852400	<u>G</u> BMCS3	6.81 X 10 ⁻²⁶
9	6237	7223	^HG916859	HG916857	HG916861	<u>R</u> GMCS3	2.70 X 10 ⁻²²
10	12*	179	HG916863	HG916859	HG916862	R <u>G</u> BS3	1.54 X 10 ⁻¹⁸
11	413	792	^LT158756	LN614587	KR028386	R <u>B</u> M3	2.55 X 10 ⁻⁰⁷
12	1263*	2754	^KF472134	AJ243957	LT600779	R <u>M</u> C3	5.25 X 10 ⁻⁰⁶
			LN614587	M92280	LT600782		

			KM273015		LT600781		
			HG964686		LT600780		
			HG964685		KR028387		
			JX013532		KR028386		
			JQ794501		GU461890		
			GU474956				
			GU461889				
			AY028309				
			EU117116				
13	555*	1086*	HF585101	M92280	HF585100	<u>R</u> GBMCS3	9.20×10^{-06}

Tabela A4. Eventos de recombinação detectados no conjunto de dados referente ao SCMV

<i>Sugarcane mosaic virus</i>							
Event	Recombination Breakpoints		Recombinant	Parental		Methods	P-value
	Begin	End		Minor	Major		
1	0*	2806	JX047423	JX047394	JX047425	<u>R</u> GBMCS3	1.18×10^{-249}
2	7280	9574*	JX047427	JX047410	JX047394	<u>R</u> GBMCS3	4.06×10^{-229}
			JX047428	KY006657	JX047428		
			JX047422		JX047421		
			JX047421		JX047404		
			JX047420		JX047399		
			JX047419		JX047397		
			JX047418		JX047395		
			JX047417		JX047393		
3	4452	7279*	JX047417	JX047410	JX047394	<u>R</u> GBMCS3	1.51×10^{-195}
4	5529	9640*	KP860936	KF744391	AM110759	<u>R</u> GBMCS3	8.40×10^{-141}
			KP772216	KF744390	JX185303		
			KP860935		EU091075		
5	5047	9487*	^AY149118	JX047393	KR611107	<u>R</u> GBMCS3	7.54×10^{-121}
			KR611114	JX047384	KR611110		
			KR611106	KR611113	KR611108		
			AF494510	KR611105	AM110759		
6	25*	1425	^KT895080	JX188385	AJ278405	<u>R</u> GBMCS3	7.05×10^{-92}
			KT895081	KF744392	KR108212		
7	30*	3279	AY569692	AJ297628	JX047421	<u>R</u> GBMCS3	3.70×10^{-90}
8	4939	9596*	^JX047399	AJ297628	GU474635	<u>R</u> GBMCS3	8.27×10^{-79}
			JX047404	JX047393	EU091075		
			JX047397	JX047384			
9	8409	9344	GU474635	JX188385	EU091075	<u>R</u> GBMCS3	1.81×10^{-72}
10	1850	5137	^JX047395	AJ310105	JX047393	<u>R</u> GBMCS3	9.20×10^{-63}
			JX047428		JX047384		

			JX047427		KR611113		
			JX047423		KR611112		
			JX047422		KR611111		
			JX047421		KR611107		
			JX047420		KR611105		
			JX047419		NC_003398		
			JX047418		AY042184		
			JX047417		AJ297628		
			JX047394				
			AY569692				
11	8130	9584*	JX047421	JX047427	JX047394	RGMS <u>3</u>	1.19X 10 ⁻⁸⁵
			JX047428	JX047410	JX047395		
			JX047420	KY006657	JX047393		
			JX047418		JX047384		
12	365*	1940	AY042184	Unknown	KR611105	<u>R</u> GBMCS <u>3</u>	5.68X 10 ⁻⁴⁵
13	4665*	8507	^AM110759	EU091075	Unknown	RGBMCS <u>3</u>	1.85X 10 ⁻⁵³
			KR611114	KR611109	Unknown		
			KR611107		Unknown		
			KR611106		Unknown		
			KP772216		Unknown		
			KP860936		Unknown		
			KP860935		Unknown		
			AY149118		Unknown		
			AF494510				
14	0*	3517	^JX185303	Unknown	KR611109	<u>R</u> GBMCS <u>3</u>	5.60X 10 ⁻³⁸
			KR611110	Unknown	EU091075		
			KR611108	Unknown			
15	7939	8215	KT895081	KF744392	AJ278405	<u>R</u> GBMCS <u>3</u>	2.01X 10 ⁻³¹
			KT895080	KF744391	KR108213		
16	3740	4189	AY042184	AF494510	AJ297628	<u>R</u> G <u>M</u> CS <u>3</u>	1.34X 10 ⁻²⁸
17	340	1701*	KR611109	KR611105	Unknown	<u>R</u> GBMCS <u>3</u>	1.38X 10 ⁻³⁰
			EU091075	JX047393			
			GU474635	JX047384			
18	3122*	7942	^KR611112	Unknown	KR611105	R <u>G</u> B <u>C</u> S <u>3</u>	1.08X 10 ⁻²⁷
19	6403	8814	^KR108213	KR108212	Unknown	RGBMCS <u>3</u>	8.53X 10 ⁻²⁵
20	1791	3592	KR611111	AJ297628	KR611106	RGBMCS <u>3</u>	9.77X 10 ⁻³⁰
21	0*	460*	^JX047421	Unknown	JX047428	<u>R</u> GBMCS <u>3</u>	2.99X 10 ⁻²⁰
22	5155	8133	^JX047409	Unknown	JX047426	RGBMCS <u>3</u>	1.07X 10 ⁻²⁷
			JX047408		JX047430		
23	2814	4105	KR108212	KR108213	AJ278405	R <u>G</u> <u>B</u> MCS <u>3</u>	1.07X 10 ⁻²⁰
24	8214*	9576*	JX237863	Unknown	JX237862	<u>R</u> G <u>M</u> CS <u>3</u>	1.84X 10 ⁻¹⁸
25	1324	4631*	^KP860936	AY149118	JX047399	R <u>B</u> MCS <u>3</u>	4.17X 10 ⁻²⁹
26	1962*	3572*	^GU474635	JX047399	KP860936	R <u>B</u> MCS <u>3</u>	4.92X 10 ⁻¹⁷

			EU091075	JX047404	AY149118		
27	3661	4189	^AF494510	JX047397	Unknown	<u>R</u> GMCS3	3.26X 10 ⁻¹⁵
28	7530*	9576*	JX047407	JX047406	JX047385	R <u>G</u> BMCS <u>3</u>	1.25X 10 ⁻¹⁴
29	4190*	4616	AY042184	JX047399	AJ297628	<u>R</u> GMCS3	5.39X 10 ⁻¹⁴
30	8787	9596*	^AJ310105	AM110759	Unknown	<u>R</u> GMCS3	6.54X 10 ⁻¹⁴
31	8819*	9424*	^KR108213	Unknown	KR108212	<u>R</u> MC3	2.05X 10 ⁻¹²
32	753	1343	KR108213	KR108212	JX237863	<u>R</u> GBMCS	4.97X 10 ⁻¹²
33	5754	8906	^JX047431	Unknown	JX047425	RGMCS <u>3</u>	1.02X 10 ⁻¹¹
34	5337	8208	^KY006657	JX047423	JX047410	RMCS <u>3</u>	1.02X 10 ⁻¹¹
35	1928	4515*	^KR611107	AM110759	KR611105	MCS <u>3</u>	1.02X 10 ⁻¹¹
36	4807	5489	^KR108213	KR108212	Unknown	R <u>G</u> <u>B</u> MC <u>S</u> 3	2.60X 10 ⁻¹³
37	9309	9577*	^JX047410	AJ310103	JX047430	R <u>G</u> BMCS <u>3</u>	1.02X 10 ⁻¹¹
			JX047428	AJ310104	JX047431		
			JX047427	AJ310102	JX047429		
			JX047422		JX047426		
			JX047421		JX047425		
			JX047420		JX047424		
			JX047419		JX047416		
			JX047418		JX047415		
			JX047417		JX047414		
			KY006657		JX047413		
38	452	1849*	^JX047395	HM133588	JX047393	MCS <u>3</u>	4.69X 10 ⁻¹⁰
			JX047428		JX047384		
			JX047427		KR611113		
			JX047422		KR611111		
			JX047421		KR611105		
			JX047420		NC_003398		
			JX047419		AJ297628		
			JX047418				
			JX047394				
39	7360	8369	AY569692	AY149118	JX047394	<u>R</u> GMCS	3.12X 10 ⁻⁰⁹
40	3425	1953*	^KR611106	JX047399	KR611109	RM <u>C</u> S	5.74X 10 ⁻⁰⁶
41	596	853	AF494510	AJ297628	AY149118	RGM <u>C</u> <u>3</u>	7.54X 10 ⁻⁰⁹
42	7704	8147	JX047395	KR611111	JX047394	<u>R</u> GMCS3	3.22X 10 ⁻⁰⁸
43	7961	8164*	^JX237863	Unknown	JX237862	<u>R</u> GMS	4.17X 10 ⁻⁰⁸
44	1857*	2006	^JX047428	KP860936	KF744390	R <u>G</u> BMCS	5.93X 10 ⁻⁰⁸
			JX047427	AY149118	KF744392		
			JX047423	AF494510	KF744391		
			JX047422	AM110759	JX188385		
45	8957	9140*	JX047417	AJ310103	JX047400	<u>R</u> GM3	4.65X 10 ⁻⁰⁶
			JX047428	AJ310104	JX047430		
			JX047427	AJ310102	JX047429		
			JX047422		JX047426		

			JX047421		JX047425		
			JX047420		JX047424		
			JX047419		JX047423		
			JX047418		JX047416		
			JX047410		JX047415		
			KY006657		JX047414		
46	5888*	7175	^JX047431	JX047423	JX047410	RGBCS ₃	8.68X 10 ⁻¹¹
47	1198	1844*	JX047421	JX047394	EU091075	RGCS ₃	2.21X 10 ⁻¹⁴
48	4024	5681*	JX047431	Unknown	JX047400	MCS ₃	1.97X 10 ⁻⁰⁵
49	51*	886	^JX047417	JX047393	AY149118	MCS ₃	1.66X 10 ⁻¹⁰
			JX047428	JX047384			
			JX047427	NC_003398			
			JX047422	AJ297628			
			JX047420				
			JX047419				
			JX047418				
50	3577	4541*	^JX047399	Unknown	KR611109	MCS ₃	2.95X 10 ⁻⁰⁵
			JX047404		EU091075		
			JX047397		GU474635		
51	8385	8584	^AJ310104	KR611111	KY006657	RGS ₃	2.42X 10 ⁻⁰⁵
			AJ310103	JX047393	JX047430		
			AJ310102	JX047384	JX047429		

Tabela A5. Eventos de recombinação detectados no conjunto de dados referente ao WMV.

<i>Watermelon mosaic virus</i>							
Event	Recombinant		Recombinant	Parental		Methods	P- value
	Begin	End		Minor	Major		
1	6105	10047*	JF273469	EU660581	JF273461	RGBMCS ₃	5.99X 10 ⁻¹²⁰
2	0*	1619	KU240095	KU240110	KU240107	RGBMCS ₃	7.98X 10 ⁻¹¹⁷
			KT992084	KT992093	KT992085		
			KT992078	KT992091	KT992081		
			KT992072	KT992087	KT992070		
3	5322	10032*	^JF273467	EU660586	JF273464	RGBMCS ₃	8.33X 10 ⁻¹⁰⁰
4	184	5436	^JF273468	EU660581	EU660583	RGBMS ₃	1.89X 10 ⁻⁹⁷
			JF273466		JF273466		
			JF273465		JF273465		
5	0*	2772	^EU660579	EU660580	AY437609	RGMCS ₃	3.00X 10 ⁻⁹⁵
6	1702*	4424	KT992072	KU240106	KT992083	RGBMCS ₃	1.40X 10 ⁻⁸⁸
7	0*	3958	^EU660582	EU660580	AY437609	RGBMCS ₃	4.72X 10 ⁻⁸⁸
			JF273459		NC_006262		
			JF273458		EU660588		
			EU660589				
8	16*	3794	^EU660587	EU660578	EU660588	RGMS ₃	1.97X 10 ⁻⁸³

9	0*	2182	EU660584	EU660580	AY437609	RGMCS3	1.54X 10 ⁻⁸⁰
10	4170	9997*	^EU660578 JF273462 EU660590	AY437609 NC_006262 EU660588	EU660580	<u>R</u> GBMCS3	3.79X 10 ⁻⁷⁸
11	22*	3844	JF273461 JF273469 EU660590	EU660580	EU660588 NC_006262 AY437609	<u>R</u> GBMCS3	2.06X 10 ⁻⁷⁵
12	0*	1340	^KT992080 KT992090 KT992088 KT992086 KT992075 KU240103 KU240098 KP164988	KT992069	KT992089	<u>R</u> GBMCS3	2.23X 10 ⁻⁷⁴
13	0*	2442	AB218280	EU660580	AY437609	<u>R</u> GMCS3	4.42X 10 ⁻⁷¹
14	88	7878	^JF273464	EU660581	EU660583	RGBMS <u>3</u>	7.16X 10 ⁻⁶⁹
15	3497	9725*	KT992080	KT992089	KU240110	RGBMCS <u>3</u>	8.70X 10 ⁻⁶⁰
16	0*	1291	^HQ384216 KX512320	Unknown	KU240109 KU240108	<u>R</u> GBMCS3	1.49X 10 ⁻⁵²
17	6022*	7373	JX079685	Unknown	DQ399708	<u>R</u> GBMCS3	3.15X 10 ⁻⁴⁷
18	0*	1402	^KT992069	KU240108	Unknown	<u>R</u> GBMCS3	1.29X 10 ⁻⁴⁶
19	5314	9892*	^KU240108 KT992090 KT992088 KT992086 KT992075 KU240109 KU240103 KU240098	EU660586 JF273463	KT992082 KT992093 KT992091 KT992087 KT992079 KT992076 KT992074 KU240110	<u>R</u> GBMCS3	4.59X 10 ⁻⁴³
20	8950	10041*	JF273458	JF273460	JF273459	<u>R</u> GMCS3	9.94X 10 ⁻⁴²
21	8962	10040*	JF273461	EU660586	EU660579	<u>R</u> GBMCS3	3.68X 10 ⁻⁴¹
22	5470	6117	EU660587	EU660580	EU660588	<u>R</u> GBMCS3	5.97X 10 ⁻⁴⁰
23	4631	7583	^KT992069	KU240110	Unknown	RGBMCS3	2.42X 10 ⁻³⁸
24	8328	9803*	^KU240102 KT992093 KT992091 KT992087 KT992084 KT992082 KT992079 KT992078 KT992076 KT992074 KU240110	KT992081 KT992092 KT992085 KT992083 KT992077 KT992072 KT992070 KT992068 KU240107 KU240100 KU240097	Unknown Unknown Unknown Unknown Unknown Unknown	<u>R</u> GMCS3	4.01X 10 ⁻³⁵

			KU240105 KU240104 KU240101 KU240099 KP100058	KU240096 KU240094			
25	4048*	10004*	^KT992089 KT992080	Unknown Unknown	KT992070 KT992085	R <u>GB</u> MCS <u>3</u>	2.85X 10 ⁻³⁸
26	540	1599	^KM597070 KM597071	EU660581 JF273467	Unknown Unknown	R <u>G</u> MCS <u>3</u>	1.66X 10 ⁻³³
27	5868*	7839	^KU246036 JF273468 JF273466 JF273465 EU660583	JF273463 EU660586	KT992074 KT992093 KT992091 KT992087 KT992082	R <u>GB</u> MCS <u>3</u>	3.88X 10 ⁻³¹
28	1981	5408*	^JF273460 KM597070 FJ823122 EU660585	KU240108 KU240109 KU240102 JF273467	JF273463 EU660586	R <u>G</u> MCS <u>3</u>	9.77X 10 ⁻³⁰
29	8050	10047*	KT992073 KT992071 AB369278	EU660586 JX079685 JF273463	KT992092 KT992085 KT992083	R <u>GB</u> MCS <u>3</u>	1.03X 10 ⁻²⁵
30	8612	10045*	^EU660588 EU660587	EU660580 KC292915	AY437609 NC_006262	R <u>B</u> MCS <u>3</u>	1.53X 10 ⁻²⁵
31	3893	4961	^JX079685	Unknown	DQ399708	R <u>GB</u> MCS <u>3</u>	1.39X 10 ⁻²⁴
32	1057	2562	^KT992092 KT992083 KT992077 KU240100 KU240096	DQ399708 JX079685	KT992070 KT992089 KT992085 KT992081 KT992068	R <u>M</u> C <u>S</u> 3	9.43X 10 ⁻²⁴
33	5784*	9044	^EU660581 KT992084 KT992078 KU240102 KP164988 KM597071 KM597070 FJ823122 JF273469 JF273464 JF273460 HQ384216 EU660585	EU660586 JF273463	KU240106	R <u>GB</u> MCS <u>3</u>	1.39X 10 ⁻²³
34	2536	5778*	KP164988	EU660581	KT992082	M <u>C</u> S <u>3</u>	3.65X 10 ⁻⁶⁴

35	5611	5950*	KF274031	DQ399708	Unknown	R <u>G</u> MCS3	6.65X 10 ⁻²³
36	2635	4032*	^KT992069	Unknown	KT992089	RGMCS <u>3</u>	2.48X 10 ⁻²¹
37	94*	3996	^DQ399708	EU660588	JF273463	R <u>M</u> C3	2.74X 10 ⁻¹⁷
38	1914	5717	^KX512320	KU240110	JF273463	RMCS <u>3</u>	1.09X 10 ⁻¹⁵
39	3918	5782*	^KM597071 KM597070 FJ823122 JF273460 EU660585 EU660581	AB218280 NC_006262 AY437609 EU660584 EU660579	Unknown Unknown	RMCS <u>3</u>	7.71X 10 ⁻¹⁵
40	539*	3892*	^JX079685 JF273463 DQ399708 EU660586	Unknown Unknown	KU240096 KT992092 KT992085 KT992083	MCS <u>3</u>	7.21X 10 ⁻³⁴
41	104*	904	KX512320 HQ384216	Unknown Unknown	EU660581 JF273467	RGBMS <u>3</u>	2.54X 10 ⁻²⁴
42	2486*	4143	^KU240096 KT992092 KT992083 KT992077 KU240100	KT992073 KT992071 AB369278	KT992070 KT992085 KT992081 KT992068 KU240107	RGMCS <u>3</u>	8.37X 10 ⁻¹⁴
43	814	1823	^KU240109 KT992093 KT992091 KT992090 KT992088 KT992087 KT992086 KT992084 KT992082 KT992080 KT992079 KT992078 KT992076 KT992075 KT992074 KT992069 KU240110 KU240108 KU240106 KU240105 KU240104 KU240103 KU240102 KU240101 KU240099	Unknown Unknown Unknown	EU660581 JF273467	R <u>M</u> C3	1.12X 10 ⁻¹³

			KU240098 KP164988 KP100058 EU660583				
44	3874	7338	^AB218280 NC_006262 JF273462 JF273461 JF273459 JF273458 AY437609 EU660590 EU660589 EU660588 EU660587 EU660584 EU660582 EU660579 EU660578	KU240105 KT992093 KT992091 KT992087 KT992082 KT992079 KT992076 KT992074 KU240110 KU240106 KU240104 KU240101 KU240099 KP100058	EU660580 KT992073 KT992071 KT992070 KT992068 KU240107 KU240097 KU240095 KU240094 KC292915	RMCS <u>3</u>	1.20X 10 ⁻²⁴
45	47*	1056*	^EU660580 KC292915	KT992073 KT992071	Unknown Unknown	RMCS <u>3</u>	9.12X 10 ⁻¹²
46	8529	9560	^KU240106	AY437609	EU660583	RMCS <u>3</u>	1.84X 10 ⁻¹²
47	7012	7262*	^KM597070 KM597071	AY437609	JF273468 JF273463 EU660586	RGBMCS <u>3</u>	3.34X 10 ⁻⁰⁷
48	4783	5024	KM597071	EU660580	EU660587	<u>G</u> MS3	2.88X 10 ⁻⁰⁶
49	21*	610	^KU240100 KT992092 KT992089 KT992085 KT992083 KT992081 KT992077 KT992070 KT992068 KU240107 KU240097 KU240096 KU240094	Unknown Unknown Unknown	JF273460 FJ823122 EU660585	RMCS <u>3</u>	5.21X 10 ⁻⁰⁹
50	1771	1843*	^KU240095 KT992085 KT992081 KT992070 KT992068 KU240107 KU240097	AY437609 NC_006262 HQ384216 EU660588	KT992073 KT992071 AB369278	<u>R</u> GCS3	3.83X 10 ⁻⁰⁶

KU240094							
51	1936*	2304	^KT992073 KT992071 AB369278	EU660586	Unknown Unknown Unknown	RGBMCS <u>3</u>	1.36X 10 ⁻¹⁰
52	1101*	1285	^KT992081 KT992089 KT992085 KT992070 KT992068 KU240107 KU240097 KU240094	EU660580 KC292915	KT992073 KT992071 AB369278	RGS <u>3</u>	1.04X 10 ⁻⁰⁹
53	7250	8468*	^KT992092 KT992085 KT992083 KT992081 KT992077 KT992073 KT992072 KT992071 KT992070 KT992068 KU240107 KU240100 KU240097 KU240096 KU240095 KU240094	Unknown Unknown Unknown Unknown Unknown Unknown Unknown Unknown Unknown Unknown Unknown Unknown Unknown	EU660580 KC292915	MCS <u>3</u>	1.85X 10 ⁻⁰⁸
54	92*	692*	^KU240102 KT992088 KT992086 KU240109 KU240108 JF273468 JF273467 JF273465 JF273464 EU660581	KT992076 KT992093 KT992091 KT992087 KT992082 KT992079 KT992074 KU240110 KU240106 KU240105	EU660583	RGBMCS <u>3</u>	1.01X 10 ⁻⁰⁸
55	4251	5436*	JF273465	EU660583	JF273464	<u>R</u> GMCS	2.42X 10 ⁻¹²
56	8466*	9598*	^JX079685	EU660586	KU240095	RGMCS <u>3</u>	3.40X 10 ⁻⁰⁹