

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 20/03/2022.

KÉSSIA DE FÁTIMA DA CUNHA PANTOJA

**IDENTIFICAÇÃO DE VIRUS EM AMENDOIM FORRAGEIRO E PIMENTA POR
SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO**

Botucatu

2020

KÉSSIA DE FÁTIMA DA CUNHA PANTOJA

**IDENTIFICAÇÃO DE VIRUS EM AMENDOIM FORRAGEIRO E PIMENTA POR
SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título Doutor em Agronomia (Proteção de Plantas).

Orientadora: Prof^a.Dra. Renate Krause-Sakate

Coorientadora: Dra. Alessandra de Jesus Boari

Coorientador: Dr. Bruno Rossitto De Marchi

Botucatu

2020

P198i	<p>Pantoja, Késsia de Fátima da Cunha Identificação de vírus em amendoim forrageiro e pimenta por sequenciamento de nova geração / Késsia de Fátima da Cunha Pantoja. -- Botucatu, 2020 62 p. : il., tabs., fotos</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu Orientadora: Renate Krause-Sakate Coorientadora: Alessandra de Jesus Boari</p> <p>1. Amendoim forrageiro. 2. Pimenta. 3. NGS. 4. Vírus. 5. Fitopatologia. I. Título.</p>
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: IDENTIFICAÇÃO DE VÍRUS EM AMENDOIM FORRAGEIRO E PIMENTA POR SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO

AUTORA: KÉSSIA DE FÁTIMA DA CUNHA PANTOJA
ORIENTADORA: RENATE KRAUSE SAKATE
COORIENTADORA: ALESSANDRA DE JESUS BOARI
COORIENTADOR: BRUNO ROSSITTO DE MARCHI

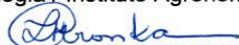
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:



Prof.^a Dr.^a RENATE KRAUSE SAKATE
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP



Dr. VALDIR ATSUSHI YUKI
Fitopatologia / Instituto Agronômico de Campinas



Prof.^a Dr.^a ADRIANA ZANIN KRONKA
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP



Prof. Dr. MARCELO AGENOR PAVAN
(Docente Aposentado) / Faculdade de Ciências Agrônômicas



Dr. JULIO MASSAHARU MARUBAYASHI
Virologia Vegetal / Instituto Agronômico de Campinas

Botucatu, 20 de março de 2020

*Aos meus pais Maria de Fátima e Isac Pantoja, pelo amor, carinho, apoio, ensinamentos, pela orientação neste caminho de lutas, mas também cheio de esperanças. Ao meu irmão Jorge Luiz e sobrinhos Bianca e Pedro, por todo amor e companheirismo
A Deus, por sua infinita bondade e misericórdia*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por minha vida, por estar sempre presente me ensinando a ter fé, sabedoria e esperança. Pelas superações e desafios. Por me acolher nos momentos difíceis e me tornar mais forte e perseverante. Por todas as graças concedidas.

Aos meus Pais Maria de Fátima e Isac Pantoja, ao meu irmão Jorge Luiz por todo amor, dedicação, apoio e incentivo, na realização de mais uma etapa dos meus estudos e da minha vida profissional, por tudo que sou e conquistei até o momento.

A Faculdade de Ciências Agrônomicas-FCA/UNESP, Câmpus de Botucatu, assim como ao Departamento de Proteção Vegetal, pela oportunidade da realização do curso de Doutorado, pelo suporte e por todos os ensinamentos adquiridos ao longo do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa de estudos concedida- CNPQ (Processo nº 1468980/2016-8).

A Embrapa Amazônia Oriental e o Laboratório de Fitopatologia, pelo auxílio na execução deste trabalho.

A Embrapa Acre e a UNIPASTO, pela contribuição prestada.

A Prof.^a Dra Renate Krause-Sakate pela orientação, apoio, ensinamentos, paciência e compreensão ao longo deste doutorado.

A Dra Alessandra de Jesus Boari pelos ensinamentos, apoio e disponibilizar para que este trabalho fosse executado.

Ao Dr Bruno Rossitto De Marchi, pela parceria, apoio e contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, pela formação e ensinamentos.

Aos professores Elliot Kitajima e Jorge A.M. Rezende pela contribuição neste trabalho.

Aos colegas de laboratório, de departamento e pesquisa: Daniele do Nascimento, Paula Leite, Gleize Leviski, Lidiane Colombari, Vinicius Bello, Leticia Aparecida, Luis Watanabe, Felipe Barreto, Monika Fecury, João César, Mirian Rabelo, Thais Mota e Tatiana Mituti, pela parceria e todos os momentos vividos.

Em especial aos colegas de pós-graduação, Giovana Cruciol e Marcos Roberto Ribeiro, por todo companheirismo, amizade e apoio.

Ao Dr^o Ronaldo Felitti pelos ensinamentos.

Aos meus amigos de Belém Kleber Sousa e Luana Oliveira, pela amizade, companheirismo e apoio de sempre.

Aos funcionários e estagiários do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia pelo apoio, pelos momentos vividos de trabalho e descontração.

Ao funcionário de campo Nivaldo Sena pelo auxílio.

“Nunca foi sorte, sempre foi Deus!”

A todos que contribuíram para realização deste trabalho, muito obrigada!

“As mais belas flores nascem após os rigorosos invernos. Não tenha medo das dificuldades da vida, pois podem lhe trazer grandes jardins.”

Augusto Cury

RESUMO

A espécie *Arachis pintoi*, conhecida como amendoim forrageiro, é uma leguminosa nativa do Brasil. Muitas são as utilidades atribuídas ao amendoim forrageiro, sendo seu uso mais comum como espécie forrageira, fornecendo alimento em grande quantidade e qualidade aos animais, em plantios puros ou consórcio com gramíneas. A ocorrência de sintomas de viroses em genótipos e cultivos de amendoim forrageiro tem sido observada por pesquisadores em diferentes estados brasileiros. No Brasil, apenas duas espécies virais já foram relatadas: o *Peanut mottle virus* - PeMoV e o *Cowpea mild mottle virus* - CpMMV. O objetivo deste trabalho foi estudar os vírus de plantas de amendoim forrageiro do Banco de Germoplasma da Embrapa Acre e detectar viroses em plantas de pimenta Cumari-do-Pará. Para detectar possíveis vírus nesses genótipos, uma análise de sequenciamento de nova geração foi realizada. A extração total de RNA dos 22 acessos foi realizada com o kit RNA Viral PureLink (Invitrogen) seguida de preparação da biblioteca e sequenciamento do transcriptoma utilizando a plataforma Illumina HiSeq2500. A montagem *de novo* das leituras de 24.659.442 foi realizada usando o software CLC Genomics Workbench v7.0.3. Os 9.709 contigs obtidos foram submetidos a uma pesquisa BLASTn usando o software Geneious v.9.1.5. A análise metagenômica permitiu a identificação de sete espécies de vírus: *Peanut mottle virus* - PeMoV (Potyvirus), *Cucumber mosaic virus* sub-grupo IB (Cucumovirus), *Cowpea chlorotic mottle virus* - CCMV (Bromovirus) e um provável novo membro da família *Potyviridae*, e também novas espécies dos gêneros Emaravirus, Polerovirus e Ampelovirus em amendoim forrageiro. A análise de NGS permitiu obter a sequência completa do genoma do *Peanut mottle virus* (PeMoV) com 9.680pb (GenBank MK396065), que foi confirmada em dois genótipos de *A. pintoi* (BRA cv. BRS Mandobi, BRA042269) por RT-PCR, seguido de sequenciamento de Sanger, usando os primers específicos desenhados para PeMoV. O CCMV foi identificado baseado na sequência dos três componentes do genoma viral, tratando-se da primeira identificação deste vírus em amendoim forrageiro. A sequência nucleotídica completa de um novo membro da família *Potyviridae* foi relatada em plantas de amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*) no Brasil exibindo sintomas típicos de vírus, que propomos nomear como *Arachis pintoi mottle virus* (ArPMV). O genoma do RNA de sentido positivo ArPMV possui 9.213

nucleotídeos. A ORF única completa do ArPMV compartilha 47% e 34% de identidade de nucleotídeo e aminoácido, respectivamente, com o isolado mais próximo relacionado, o soybean yellow shoot virus. As análises de sequenciamento de nova geração plataforma Illumina HiSeq2500 também foram realizadas para uma amostra de pimenta cv. Cumari-do-Pará (*Capsicum chinense*) coletada em 2017 em uma fazenda próxima ao município de Altamira, no estado do Pará, mostrando sintomas de amarelecimento internerval, redução de lâmina foliar e encurtamento dos entrenós. Embora seja cultivada em todos os estados brasileiros, a produção é fortemente focada nos estados do norte do país. Os contigs foram submetidos à análise por BLASTX com o software Geneious v9.1.5. no banco de dados viral do NCBI, que revelou identidades de nucleotídeos superiores a 90% com a espécie *Pepper vein yellows virus*- PeVYV (gênero *Polerovirus*, família *Luteoviridae*) e também sequências relacionadas aos gêneros *Ampelovirus* e *Cucumovirus*. Posteriormente, através de montagem “*de novo*”, foi possível obter o genoma completo de uma possível nova espécie pertencente ao complexo de *Polerovirus* da pimenta, cujo nome proposto foi *Pepper vein yellows virus 8* (PeVYV-8). Este é o primeiro relato de um polerovírus infectando a pimenta Cumari-do-Pará no Brasil e a distribuição do vírus em outras regiões do país precisa ser melhor avaliada.

Palavras-chave: *Arachis pintoi*. *Capsicum*. NGS. *Polerovirus*. *Virus*

ABSTRACT

The species *Arachis pintoii*, known as forage peanuts is a native legume from Brazil. There are many uses attributed to forage peanut, being its most common use as a forage species, providing food in large quantity and quality to the animals, in single crops or consortium with grasses. The occurrence of virus symptoms in forage peanut genotypes and crops has been observed by researchers in different Brazilian states. In Brazil, only two viral species have been reported: *Peanut mottle virus*-PeMoV and *Cowpea mild mottle virus*-CpMMV. The objective of this work was to study the forage peanut plant viruses of the Embrapa Acre Germplasm Bank and to detect viruses in Cumari-do-Pará pepper plants. To detect possible viruses in these genotypes, a new generation sequencing analysis was performed. Total RNA extraction from the twenty-two accessions was performed with the PureLink Viral RNA Kit (Invitrogen) followed by library preparation and transcriptome sequencing using the Illumina HiSeq2500 platform. Re-assembly of the 24,659,442 readings was performed using the CLC Genomics Workbench v7.0.3 software. The 9,709 contigs obtained were subjected to a BLASTn search using the Geneious v.9.1.5 software. Metagenomic analysis allowed the identification of seven virus species: *Peanut mottle virus* - PeMoV (Potyvirus), *Cucumber mosaic virus* subgroup IB (Cucumovirus), *Cowpea chlorotic mottle virus* - CCMV (Bromovirus) and a probable new member of the *Potyviridae* family, and also new species of the genera Emaravirus, Polerovirus and Ampelovirus in forage peanuts. NGS analysis yielded the complete 9,680 bp *Peanut mottle virus* (PeMoV) genome sequence (GenBank MK396065), which was confirmed in two *A. pintoii* (BRA cv. BRS Mandobi, BRA042269) genotypes by RT-PCR, followed by Sanger, sequencing using PeMoV-specific primers. The CCMV was identified based on the sequence of the three components of the viral genome, being the first identification of this virus in forage peanut. The complete nucleotide sequence of a new member of the family Potyviridae was reported in forage peanut plants (*Arachis pintoii*) in Brazil exhibiting typical virus symptoms, which we propose to name as *Arachis pintoii* mottle virus (ArPMV). The ArPMV positive-sense RNA genome is 9,213 nucleotides. The complete ArPMV single ORF shares 47% and 34% nucleotide and amino acid identity, respectively, with the closest related isolate, soybean yellow shot virus.

Sequencing analysis of the new generation Illumina HiSeq2500 platform were also performed for a cv pepper sample. Cumari-do-Pará (*Capsicum chinense*) collected in 2017 on a farm near the municipality of Altamira, state of Pará, showing symptoms of internerval yellowing, leaf blade reduction and internode shortening. The contigs were subjected to BLASTX analysis with Geneious v9.1.5 software. In the NCBI viral database, which revealed nucleotide identities greater than 90% with the Pepper vein yellows virus-PeVYV species (genus Polerovirus, family Luteoviridae) and also sequences related to the genera *Ampelovirus* and *Cucumovirus*. Subsequently, by "de novo" assembly it was possible to obtain the complete genome of a possible new species belonging to the pepper polerovirus complex, whose proposed name was *Pepper vein yellows virus 8* (PeVYV-8). This is the first report of a polerovirus infecting Cumari-do-Pará pepper in Brazil and the distribution of the virus in other regions of the country needs to be better evaluated.

Keywords: *Arachis pintoii*. *Capsicum*. NGS. Polerovirus. Virus

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
CAPÍTULO 1 - DETECTION AND CHARACTERIZATION OF THE <i>Cowpea chlorotic mottle virus</i> IN FORAGE PEANUT (<i>Arachis pinto</i>) IN BRAZIL	20
REFERENCES.....	27
CAPÍTULO 2- CHARACTERIZATION AND COMPLETE GENOME SEQUENCE OF THE <i>Peanut mottle virus</i> AND <i>Cucumber mosaic virus</i> IN FORAGE PEANUT (<i>Arachis pinto</i>) IN BRAZIL.	29
REFERENCES.....	39
CAPÍTULO 3- IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF A NEW MEMBER OF THE POTYVIRIDAE INFECTING <i>Arachis pinto</i>.	41
REFERÊNCIAS.....	51
CAPÍTULO 4- FIRST REPORT OF A PUTATIVE NEW Pepper vein yellows virus SPECIES ASSOCIATED WITH A VEIN YELLOWS DISEASE OF BONNET PEPPER PLANTS IN BRAZIL	53
REFERENCES.....	55
CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
REFERÊNCIAS	59
APÊNDICE A	62

INTRODUÇÃO GERAL

A espécie *Arachis pintoi* (Krap. & Greg), conhecida como amendoim forrageiro é uma leguminosa nativa do Brasil (PURCINO et al., 2004). O gênero *Arachis* pertence à família Fabaceae, subfamília Papilionoideae, tribo Stylosanthinae e subtribo Aeschynomeneae (GREGORY et al., 1980; KRAPOVICKAS E GREGORY, 1994). O primeiro acesso da espécie *A. pintoi* foi obtido pela coleta realizada por Geraldo Pinto, em 1954, junto à foz do Rio Jequitinhonha, em Belmonte, no Estado da Bahia (VALLS, 1992; BARCELOS et al., 2000). A distribuição geográfica desta espécie se expande por uma área que abrange parte dos estados de Goiás, Bahia e Minas Gerais, estendendo-se por toda a costa Atlântica do Brasil (CARVALHO, 2004). No Brasil, as atividades desenvolvidas pelo Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia - EMBRAPA têm contribuído consideravelmente para ampliação das coleções de genótipos de amendoim forrageiro. De acordo com VALLS (2001), mais de 150 acessos de *A. pintoi* encontram-se catalogados.

O amendoim forrageiro é uma leguminosa herbácea perene, de crescimento rasteiro, hábito estolonífero e prostrado que lança estolões horizontalmente em todas as direções, em quantidade significativa, cujos pontos de crescimento são bem protegidos do pastejo realizado pelos animais. Possui o ponto de crescimento protegido, florescimento indeterminado, hábito de crescimento prostrado, habilidade de enraizar nos estolhos e reserva de sementes no solo (JONES, 1993).

É uma forrageira de porte baixo, dificilmente ultrapassando 30-40 cm de altura, possui raiz pivotante, podendo alcançar 1,60 m de profundidade (CALEGARI et al., 1995). O *A. pintoi* é indicado tanto para formação de pastagens quanto para cobertura do solo em culturas perenes, podendo ainda ser utilizado como planta ornamental (PEREIRA; ANDRADE; KARIA, 1996). Pode ser utilizado em consórcios ou como fonte de proteína, visto que apresenta grande resistência ao pastejo e pisoteio expressado pela maior participação na composição botânica do relvado, independentemente da pressão de pastejo imposta (BARCELLOS et al., 1996).

No Brasil, há relato de apenas dois vírus nesta cultura, o potyvirus, Peanut mottle virus (PeMoV) que foi detectado em plantas de amendoim forrageiro do campo experimental da Embrapa Cerrados, no Distrito Federal (DF), que mostravam sintomas de manchas anelares cloróticas (ANJOS et al., 1998), e o carlavirus,

Cowpea mild mottle virus (CpMMV) em plantas de amendoim forrageiro de jardins localizados na área urbana de Londrina, PR e em áreas rurais, apresentavam folhas reduzidas e com sintomas de mosaico (MITUTI et al., 2005).

De acordo com levantamento realizado no Banco ativo de germoplasma de amendoim forrageiro da Embrapa Acre, alguns genótipos apresentam sintomas de viroses como mosqueado, mosaico, anéis cloróticos e necróticos, dentre outros. A ausência de informações a respeito dos vírus que ocorrem nesta cultura dificulta as ações de manejo da virose e programas de melhoramento visando à resistência.

Também foi objeto de estudo nesta tese, vírus infectando a pimenta (*Capsicum* spp.) que no estado do Pará é muito apreciada e cultivada pela agricultura familiar (CARVALHO; BOARI, 2013). As pimentas do gênero *Capsicum* (Solanaceae) são originárias do continente americano. Dentre as 25 espécies descritas, cinco são domesticadas e amplamente utilizadas (*Capsicum annum* var. *annum*, *C. baccatum* var. *pendulum*, *C. chinense*, *C. frutescens* e *C. pubescens*) e três são semi-domesticadas (*C. annum* var. *glabriusculum*, *C. baccatum* var. *praetermissum*, *C. baccatum* var. *baccatum*) (CARVALHO e BIANCHETTI, 2004; REIFSCHNEIDER, 2000).

Entretanto, uma das limitações para *Capsicum* spp. é o aparecimento de doenças de origem viral. Entre os principais vírus do gênero *Potyvirus* pode-se citar *Potato virus Y* (PVY), *Pepper mottle virus* (PepMoV), *Tobacco etch virus* (TEV), *Pepper veinal mottle virus* (PVMV) e *Chilli veinal mottle virus* (ChiVMV) e *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) (INOUE-NAGATA, 2002), sendo que até o momento seguinte o PVY e PepYMV são descritas no Brasil. O PVY no Brasil foi observado em pimentão pela primeira vez na década de 50 (COSTA e ALVES, 1950) e o PepYMV em 2002 (INOUE-NAGATA et al. 2002). Ambos os vírus são sorologicamente relacionados (CUNHA et al. 2004), e causam sintomas de mosaico indistinguíveis, tornando-os de difícil identificação visual. No Brasil, outros gêneros de vírus já foram relatados em *Capsicum* spp., como o Cucumovirus (*Cucumber mosaic virus* – CMV), Tobamovirus (*Pepper mild mottle virus* – PMMoV, *Tomato mosaic virus* – ToMV), Begomovirus (*Tomato severe rugose virus*) e Luteovirus, Tospovirus (*Tomato spotted wilt virus* -TSWV, *Tomato chlorotic spot virus* - TCSV e *Groundnut ringspot virus* – GRSV (BRIOSO, 1996).

Em junho de 2017, cerca de 100% das plantas de pimenta das cultivares Cumari-do-Pará mostrando sintomas de amarelecimento internerval, grande redução

de lâmina foliar e encurtamento dos entrenós foram observadas em uma lavoura localizada no município de Altamira, no estado do Pará. O Sequenciamento de Nova Geração (*Next-generation sequencing* - NGS) é uma metodologia inovadora, que possibilita gerar milhões de leituras de uma única vez, de modo rápido e eficaz, sem requerer prévio conhecimento do patógeno, auxiliando na descoberta de novos vírus (ADAMS et al., 2009; MARDIS, 2008; RADFORD et al., 2012).

Com o objetivo de caracterizar e identificar os principais vírus, o sequenciamento de alto desempenho foi utilizado para detectar vírus em amendoim forrageiro do banco ativo da Embrapa Acre e em pimentas do plantio de Altamira-PA, apresentando sintomas característicos de viroses. O trabalho foi dividido em quatro capítulos em formato de artigos científicos. O primeiro capítulo foi intitulado: First report of a putative new pepper vein yellow virus species associated with a vein yellows disease of bonnet pepper plants in Brazil, segundo capítulo: Detection and characterization of the *Cowpea chlorotic mottle virus* in forage peanut (*Arachis pintoï*) in Brazil; terceiro capítulo: Characterization and complete genome sequence of the *Peanut mottle virus* and *Cucumber mosaic virus* in *Arachis pintoï* Krapov. & W.C. Greg. (Fabaceae) in Brazil e quarto capítulo: Identification and characterization of a new member of the *Potyviriidae* family infecting *Arachis pintoï* in Brazil

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O sequenciamento de alto desempenho é uma ferramenta de grande potencial para identificação de vírus infectando plantas. Através da análise metagenômica foi possível identificar sete espécies de vírus: *Peanut mottle virus* - PeMoV (Potyvirus), *Cucumber mosaic virus* sub-grupo IB (Cucumovirus), *Cowpea chlorotic mottle virus* - CCMV (Bromovirus), um provável novo membro da família *Potyviridae*, e também novas espécies dos gêneros Emaravirus, Polerovirus e Ampelovirus em amendoim forrageiro.

Em pimenta Cumari-do Pará, foi possível obter o genoma completo de uma possível nova espécie pertencente ao complexo de Polerovirus da pimenta, cujo nome proposto foi *Pepper vein yellows virus 8* (PeVYV-8) e também sequências relacionadas aos gêneros Ampelovirus e Cucumovirus. Foi possível identificar vírus até então não relatados em amendoim forrageiro, bem como em pimenta Cumari-do-Pará no Brasil.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, I. P. et al. Next-generation sequencing and metagenomic analysis: a universal diagnostic tool in plant virology. **Molecular Plant Pathology**, v 10, n 4, 537-545. 2009
- ANJOS, J.R.N.et al. Infecção natural de *Arachis pinto* por "*Peanut mottle virus*" no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, p.71-74. 1998.
- BARCELLOS, A. et al. Avaliação sob pastejo em pequenas parcelas de *Arachis pinto* consorciado com *Paspalum atratum* em solo de várzea. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33, Fortaleza, CE. Anais... Fortaleza, SBZ, p.218-220, 1996.
- BRIOSO, P. S. T. Doenças causadas por vírus em pimentão. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 18, n. 184, p.74-80, 1996.
- CALEGARI, A. et al. Leguminosas para adubação verde de verão no Paraná. Londrina: IAPAR, 118p. (IAPAR. Circular, 80), 1995.
- CARVALHO, M. A. Germplasm characterization of *Arachis pinto* Krap. e Greg. (leguminosae). 2004. 140 f. tese (Doutorado) – University of Florida, 2004.
- CARVALHO, S.I.C; BIANCHETTI, L.B. Botânica e recursos genéticos. In: RIBEIRO,C.S.C de Pimentas-Capsicum. Embrapa Hortaliças, Brasília, p. 39-54,2008.
- CARVALHO, T.P.; BOARI, A.J. Identificação de *Cucumber mosaic virus* em pimenta no estado do Pará. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 17.; SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 1., 2013, Belém, PA. Anais. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 1 CD-ROM, 2013.
- COSTA, A.S., ALVES, S. Mosaico do pimentão. Bragantia, Campinas, v.10, p.95-96, Campinas, 1950
- GREGORY, W. C.; KRAPOVICKAS, A.; GREGORY, M. P. Structure, variation, evolution and classification in *Arachis*. In: SUMMERFIELD, R.J.; BUNTING, A.H.

(eds.). **Advances in Legume Science**. Surrey, England: Royal Botanical Garden p. 468-481, 1980.

INOUE-NAGATA, A. K. et al. *Pepper yellow mosaic virus*, a new potyvirus in sweetpepper, *Capsicum annum*. Archives of Virology, Vienna, v.147, p.849-855, 2002.

JONES, R.M. Persistence of *Arachis pinto* cv. Amarillo on three soil types at Samford, south-eastern Queensland. **Tropical Grasslands**, v.27, p.11-15, 1993.

KRAPOVICKAS, A.; GREGORY, W. C. Taxonomía del género *Arachis* (Leguminosae). **Bonplandia**, v.8, n.1-4, p.1-186, 1994.

MARDIS, E. R. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. **Cell Press**, v. 24, n 3, p. 133-141, 2008.

MITUTI, T. et al. Identificação de um isolado de carlavírus em *Arachis pinto* Krap & Greg. Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE), In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, 2005, Londrina. Resumos expandidos. Londrina: Embrapa Soja, 2005.

NOZAKI, D. N. et al. First report of *Tomato severe rugose virus* infecting pepper plants in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 3, p. 321, 2006.

PEREIRA, L.V.; ANDRADE, R.P.; KARIA, C.T. "Efeitos do pericarpo e do tratamento de sementes no estabelecimento de *Arachis pinto*." Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia 33: 392-394, 1996.

PURCINO, H. M. A. et al. Adaptabilidade e características nutricionais de acesso de *Arachis pinto* às condições edafoclimáticas do cerrado de Minas Gerais. In:

REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, Campo Grande, MS. Anais...Campo Grande, SBZ, 2004a. CD-ROM.

RADFORD, A. D. et al. Application of next-generation sequencing technologies in virology. **Journal of General Virology**, Reading, v. 93, p. 1853-1868, 2012.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Org.) Capsicum: pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças, 2000.

VALLS, J. F. M.; Origem do germoplasma de *Arachis pinto* disponível no Brasil. In REUNIÓN DE LA RED INTERNACIONAL DE EVALUACIÓN DE PASTOS TROPICALES, SABANAS, 1, Brasília, DF. Anais...Brasília, Embrapa-CPAC; Cali, Colômbia, CIAT, p.81-96, 1992.

VALLS, J.F.M. Situação atual da coleta e utilização de germoplasma de espécies silvestres de *Arachis*. In: SIMPÓSIO DE RECURSO GENÉTICO PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3. 2001, Londrina, Anais... Londrina: IAPAR, p.105-108, 2001.