

RESSALVA

Atendendo solicitação da
autora, o texto completo desta
tese será disponibilizado
somente a partir de 31/03/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

VIROMA EM FEZES DE AVES SILVESTRES DA MATA ATLÂNTICA:
IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS GENOMAS VIRAIS DAS FAMÍLIAS
Spinareoviridae E *Astroviridae*

AMANDA HAISI

Botucatu
2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

VIROMA EM FEZES DE AVES SILVESTRES DA MATA ATLÂNTICA:
IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS GENOMAS VIRAIS DAS FAMÍLIAS
Spinareoviridae E *Astroviridae*

AMANDA HAISI

Tese apresentada junto ao Programa de Pós-
Graduação em Medicina Veterinária para a
obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. João Pessoa Araújo
Junior

Coorientadora: Dra. Adriana Luchs

Botucatu

2025

H153v Haisi, Amanda
Viroma em fezes de aves silvestres da Mata Atlântica :
identificação de novos genomas virais das famílias Spinareoviridae e
Astroviridae / Amanda Haisi. -- Botucatu, 2025
170 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientador: João Pessoa Araujo Junior
Coorientadora: Adriana Luchs

1. metagenômica. 2. passeriformes. 3. vírus. 4. reovírus. 5.
astrovírus. I. Título.

Nome do Autor: Amanda Haisi

Título: VIROMA EM FEZES DE AVES SILVESTRES DA MATA ATLÂNTICA:
IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS GENOMAS VIRAIS DAS FAMÍLIAS
Spinareoviridae E *Astroviridae*

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. João Pessoa Araújo Junior

Presidente e Orientador

Departamento de Ciências Químicas e Biológicas – Instituto de Biociências - UNESP
Botucatu.

Prof. Dra. Helena Lage Ferreira

Membro Titular

Departamento de Medicina Veterinária – Universidade de São Paulo.

Prof. Dr. Fernando Rosado Spilki

Membro Titular

Instituto de Ciências da Saúde – Universidade Feevale.

Prof. Dr. Francisco Murilo Zerbini

Membro Titular

Departamento de Fitopatologia- Universidade Federal de Viçosa

Prof. Dr. Eduardo Furtado Flores

Membro Titular

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva – Universidade Federal de Santa
Maria (UFMS)

Prof. Dr. Fábio Sossai Possebon

Membro Suplente

Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva – Universidade Estadual Paulista
Júlio de Mesquita Filho

Dra. Camila Dantas Malossi

Membro Suplente

Unipex – Faculdade de Medicina de Botucatu - Universidade Estadual Paulista Júlio de
Mesquita Filho

Prof. Dra. Leila Sabrina Ullmann

Membro Suplente

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) – Universidade Federal de
Mato Grosso do Sul (UFMS)

Data da Defesa: 31/03/2025

AGRADECIMENTOS

“Todas as pessoas que passam em nossas vidas, deixam um pouco de si e levam um pouco de nós...”

Portanto, eu agradeço a todas essas pessoas que de alguma forma deixaram a minha vida um pouco mais alegre, um pouco mais desafiadora, e um pouco mais família...

Espero ter contribuído com um pouco da minha essência na vida de vocês!

Neste momento gostaria de agradecer...

Aos meus pais, Rogério e Matilde, e ao meu irmão Vitor, por todo o amor e confiança. O apoio de vocês sempre foi e está sendo fundamental para meu crescimento profissional. Obrigado por apoiarem minhas decisões desde a graduação e por incentivarem meus sonhos. Amo vocês!

Ao meu esposo, Samir Moura Kadri por todo o amor, carinho e incentivo. Obrigada por estar sempre ao meu lado. Te amo!

Aos meus amigos de laboratório, que me ajudaram e continuam me auxiliando em todos os momentos! Obrigada pelo tempo dedicado à nossa amizade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária e aos coordenadores do curso; Ao financiamento concedido pela bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Ao Dr. Fabio Schunck e toda a equipe envolvida nas coletas das aves silvestres. Sem a dedicação de vocês esse trabalho não seria possível!

A minha coorientadora Dra. Adriana Luchs por toda a dedicação em me coorientar. Obrigada pelos áudios longos, pelas correções e sugestões! Te admiro muito!

A toda equipe do Instituto Adolfo Lutz que em algum momento esteve envolvido no processamento das amostras. Vocês foram muito importantes para o desenvolvimento dessa pesquisa.

Ao meu orientador Prof. Dr. João Pessoa Araújo Junior, por acreditar no meu potencial, por me apoiar no desenvolvimento desta pesquisa e nas próximas que ainda virão! Sou grata por fazer parte do seu grupo de pesquisa, esses quase seis anos foram de muito aprendizado! Meus sinceros agradecimentos.

O sonho

Sonhe com aquilo que você quiser.

Seja o que você quer ser,
porque você possui apenas uma vida e nela só se
tem uma chance
de fazer aquilo que quer.

Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.
Dificuldades para fazê-la forte.
Tristeza para fazê-la humana.
E esperança suficiente para fazê-la feliz.

As pessoas mais felizes não têm as melhores coisas.
Elas sabem fazer o melhor das oportunidades que aparecem em seus caminhos.

A felicidade aparece para aqueles que choram.
Para aqueles que se machucam.
Para aqueles que buscam e tentam sempre.
E para aqueles que reconhecem a importância das pessoas que passam por suas vidas.

Clarice Lispector

Amanda, H. Viroma em fezes de aves silvestres da Mata Atlântica: identificação de novos genomas virais das famílias *Spinareoviridae* e *Astroviridae*. 2025. 170p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, São Paulo.

RESUMO

A pesquisa de vírus em aves silvestres tem focado principalmente em abordagens orientadas a vigilância de agentes virais zoonóticos ou associadas com alta taxa de mortalidade. No entanto, a diversidade viral presente em amostras fecais de aves silvestres, especialmente em indivíduos clinicamente saudáveis, ainda é pouco explorada. Este estudo teve como objetivo investigar a presença de vírus das famílias *Spinareoviridae* e *Astroviridae* em amostras fecais de aves silvestres (n=417) coletadas de 376 aves, pertencentes as ordens Passeriformes (n=361), Apodiformes (n=12), Psittaciformes (n=2) e Columbiformes (n=1), abrangendo 91 espécies coletadas entre 2022 e 2023 no Parque Estadual Serra do Mar, núcleo Curucutu, São Paulo. A investigação foi motivada pela análise do viroma de uma amostra de *Troglodytes musculus*, que apresentou um padrão incomum de migração em gel de poliacrilamida para pesquisa de vírus de dsRNA. O sequenciamento massivo da amostra de *T. musculus* (M1580) foi realizado nas plataformas Illumina (MiSeq e NextSeq) seguido da análise por meio de classificadores taxonômicos e curadoria manual, resultando na identificação de quatro segmentos virais apresentando similaridade com a ordem *Reovirales* (dsRNA) e um *contig* com similaridade à família *Astroviridae* (ssRNA+). Os quatro segmentos do genoma do reovírus (S1-S4) foram caracterizados molecularmente, e análises filogenéticas da região codificante da RNA polimerase RNA-dependente (RpRd) indicaram que o vírus pertence a um novo gênero da família *Spinareoviridae*, apresentando relação filogenética com vírus que infectam insetos e plantas, como os gêneros *Cypovirus* e *Oryzavirus*. O genoma viral identificado foi provisoriamente nomeado como Curucutu reovírus. Foi desenvolvido um ensaio SYBR® Green RT-qPCR tendo como alvo a RpRd do reovírus para investigar a presença do Curucutu reovírus nas amostras coletadas durante o estudo. Ao total, 5,31% das amostras fecais de aves silvestres foram positivas para o reovírus. Embora os hábitos alimentares das aves da região não tenham sido avaliados, é provável que os achados estejam associados aos hábitos alimentares dos indivíduos positivos. Além disso, foi caracterizado o genoma viral pertencente ao gênero *Avastrovirus* (AAstV), filogeneticamente próximo a cepas descritas em passeriformes neotropicais. A RT-PCR convencional, direcionada ao gene conservado da RpRd dos astrovírus, confirmou a presença do AAstV em 7,7% das amostras, representando diversas famílias de aves, incluindo Parulidae, Cardinalidae e Thraupidae. Os achados desta pesquisa evidenciam uma diversidade viral ainda inexplorada em aves silvestres clinicamente saudáveis da Floresta Atlântica, reforçando a importância de estudos voltados à identificação, caracterização e compreensão ecológica desses vírus. Ademais, os resultados demonstram que padrões de migração em gel de poliacrilamida não são

necessariamente indicativos de reovírus infectando o hospedeiro, reforçando a complexidade na identificação e caracterização de novos vírus identificados em amostras fecais de aves silvestres.

Palavras-chave: metagenômica; passeriformes; vírus; reovírus; astrovírus.

Amanda, H. Virome in feces of wild birds from the Atlantic Forest: identification of novel viral genomes from the families *Spinareoviridae* and *Astroviridae*. 2025. 170p. Thesis (Doctorate) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, São Paulo.

ABSTRACT

Virus research in wild birds has primarily focused on surveillance-driven approaches targeting zoonotic viral agents or those associated with high mortality rates. However, the viral diversity present in fecal samples from wild birds, especially in clinically healthy individuals, remains largely unexplored. This study aimed to investigate the presence of viruses from the families *Spinareoviridae* and *Astroviridae* in fecal samples from wild birds (n=417) collected from 376 individuals belonging to the orders Passeriformes (n=361), Apodiformes (n=12), Psittaciformes (n=2), and Columbiformes (n=1), covering 91 species collected between 2022 and 2023 in the Parque Estadual Serra do Mar, Núcleo Curucutu subregion, São Paulo. The investigation was motivated by the virome analysis of a *Troglodytes musculus* sample, which showed an unusual migration pattern in polyacrylamide gel used for dsRNA virus screening. High-throughput sequencing of the *T. musculus* sample (M1580) was carried out on Illumina platforms (MiSeq and NextSeq), followed by analysis using taxonomic classifiers and manual curation. This resulted in the identification of four viral segments showing similarity to the order *Reovirales* (dsRNA) and one contig with similarity to the family *Astroviridae* (ssRNA+). The four segments of the reovirus genome (S1–S4) were molecularly characterized, and phylogenetic analyses of the RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) coding region indicated that the virus belongs to a novel genus within the family *Spinareoviridae*. It showed phylogenetic relationships with viruses infecting insects and plants, such as the genera *Cypovirus* and *Oryzavirus*. The identified viral genome was provisionally named Curucutu reovirus. A SYBR® Green RT-qPCR assay targeting the reovirus RdRp was developed to investigate the presence of Curucutu reovirus in the samples collected during the study. In total, 5.31% of the wild bird fecal samples tested positive for the reovirus. Although the feeding habits of the birds in the region were not assessed, it is likely that the findings are associated with the dietary behavior of the positive individuals. Additionally, a viral genome belonging to the genus *Avastrovirus* (AAstV) was characterized, showing phylogenetic proximity to strains described in neotropical passerines. Conventional RT-PCR targeting the conserved RdRp gene of astroviruses confirmed the presence of AAstV in 7.7% of the samples, representing various bird families, including Parulidae, Cardinalidae, and Thraupidae. The findings of this research highlight an as-yet unexplored viral diversity in clinically healthy wild birds from the Atlantic Forest, reinforcing the importance of studies aimed at identifying, characterizing, and ecologically understanding these viruses.

Furthermore, the results demonstrate that polyacrylamide gel migration patterns are not necessarily indicative of reoviruses infecting the host, emphasizing the complexity involved in the identification and characterization of novel viruses found in wild bird fecal samples.

Key words: metagenomic; passerine birds; viruses; reovirus; astrovirus.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Morfologias das partículas virais da ordem *Reovirales*. As representações esquemáticas seguem um padrão de coloração, e as proteínas que compõem cada estrutura estão indicadas na legenda. As proteínas do núcleo são mostradas em verde, a camada intermediária (rotavírus e orbivírus) em magenta, e a camada externa em azul. A RNA polimerase RNA dependente é representada em vermelho. Em laranja a proteína com função de *capping* quando não faz parte da estrutura de torre (rotavírus e orbivírus), e a Helicase/NTPase está representada em amarelo. São apresentadas reconstruções por crio-me ou estruturas cristalinas por raio-x das partículas virais (vírion) e núcleo viral (*core*)......22
- Figura 2.** Micrografias eletrônicas comparativas das partículas virais pertencentes ao gênero *Cypovirus* e *Dinovernavirus*. A) Vírion pertencente ao gênero *Cypovirus* B) Vírion pertencente ao gênero *Dinovernavirus*. Ambas as partículas virais apresentam apenas uma camada capsídeo com a presença de projeções na superfície.27
- Figura 3.** Gel de poliacrilamida a 5% demonstrando o perfil de migração 3-3-6 do *Rosellinia necatrix mycoreovirus 3*.30
- Figura 4 .** Representação esquemática do vírion do reovirus aviário. O vírion é composto por 10 segmentos de dsRNA, divididos em três classes de tamanho, três segmentos grandes (L), três segmentos médios (M) e quatro segmentos pequenos (S) envoltos em 2 camadas de proteínas concêntricas. A proteína λA e σA são componentes da camada interna do núcleo. A RNA polimerase viral λB e seu cofator μA formam o complexo transcriptase. As torres formadas pela λC se estendem do núcleo interno até o capsídeo externo. Os trímeros da proteína σC são responsáveis pela adesão celular, projetando-se do topo das torres. O capsídeo externo é formado pelas proteínas μB e σB34
- Figura 5.** Morfologia dos astrovirus. A) Micrografia eletrônica dos vírions pertencentes a família *Astroviridae* demonstrando a aparência de “estrela” devido a presença de projeções na superfície viral B) Representação esquemática da estrutura dos astrovírus com simetria $T=3$37
- Figura 6.** Representação esquemática da organização genômica do Astrovírus Humano (HAstV). O genoma é composto por três ORFs e duas regiões não traduzidas (UTRs). Na região 3' UTR destaca-se a presença do *stem-loop 2-like motif* (s2m), seguido da cauda poli-A. As ORFs 1a e 1b, localizadas na extremidade 5' codificam as proteínas não estruturais, sendo a tradução da RNA polimerase RNA dependente mediada por um mecanismo de frameshift ribossomal entre as ORFs 1a e 1b. A ORF2, responsável pela codificação das proteínas estruturais, contém os motivos conservados e hipervariáveis. A síntese das proteínas do capsídeo ocorre a partir da tradução do RNA subgenômico (sgRNA). Os principais motivos conservados na ORF1a são: em laranja, os domínios *coiled-coil* (CC); em vermelho, o domínio transmembrana (TH); em amarelo, o motivo protease (PRO); em roxo, uma provável região codificadora para a proteína VPg (VPg); e em verde, as inserções e deleções (In/del). Na ORF1b, a RNA polimerase RNA dependente (POL) está indicada em azul. Na ORF2, as regiões hipervariáveis e conservadas são representadas pelas letras A e B.41

Figura 7. Estruturas secundárias de RNA previstas para a região 5' UTR de astrovírus humanos e aviários utilizando o mFold A) Estruturas secundárias de RNA dos astrovírus humano 1-8 (HAstV 1-8) B) Estruturas secundárias de RNA dos reovírus aviários utilizando as sequências do Avian nephritis virus - ANV (NC003790), Chicken astrovirus - CAstV (JF414802), Turkey astrovirus 1 - TAstV-1 (NC002470), Duck astrovírus - DAstV (NC012437) e Turkey astrovirus 2 -TAstV-2 (NC005790). O códon de iniciação da ORF1a está sublinhado.....43

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

3' UTR	- região não traduzida 3', do inglês <i>3' Untranslated Regions</i>
5' UTR	- região não traduzida 5', do inglês <i>5' Untranslated Regions</i>
AAstV	- Avian Avastrovirus
AAstV-3	- <i>Avastrovirus 3</i>
ANV-1	- Avian nephritis virus 1
ANV-2	- Avian nephritis virus 2
APRV	- <i>Aedes pseudoscutellaris reovirus</i>
ARV	- Avian orthoreovirus
BmCPV1	- <i>Bombyx mori cytoplasmic polyhedrosis virus 1</i>
CAstV	- Chicken astroviruses
CDS	- Região codificante, do inglês CoDing Sequence.
CG	- conteúdo de Citosina e Guanidina
CpMYRV1	- <i>Cryphonectria parasitica mycoreovirus 1</i>
CpMYRV2	- <i>Cryphonectria parasitica mycoreovirus 2</i>
CPV	- <i>Vírus da poliedrose citoplasmática</i>
DAstV	- Duck Astrovirus
DAstV CPH	- Avastrovírus do pato CPH, do inglês <i>Duck Astrovirus isolate CPH</i>
DHV-3	- Vírus da hepatite do pato tipo 3, do inglês Duck Hepatitis Virus type 3
DHV-like T	- Avastrovírus semelhante ao DHV-3, do inglês <i>Duck Hepatitis Virus Type 3 (DHV-3)-like astrovirus</i>
DNA	- Ácido Desoxirribonucleico
DpCPV1	- <i>Diadromus pulchellus idnoreovirus 1</i>
DpIRV1	- <i>Diadromus pulchellus idnoreovirus 1</i>
dsRNA	- RNA de fita dupla, do inglês <i>Double-Stranded RNA virus</i>
ERSV	- <i>Echinochloa ragged stunt virus</i>
FAST	- proteína de fusão associada a transmembrana (do inglês, Fusion-Associated Small Transmembrane)
GFAstV	- Astrovirus da galinha d'angola, do inglês Guineafowl Astrovirus
Gly	- Glicina

GoAstV	- Astrovírus do Ganso, do inglês <i>Goose astrovirus</i>
ICTV	- Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus
IRES	- Sítio interno de ligação ao ribossomo, do inglês <i>Internal Ribosome Entry Sites</i>
λ	- Lambda
Kbp	- do inglês, <i>Kilobase pairs</i>
MastV	- <i>Mamastrovirus</i>
MRV1	- <i>Mammalian orthoreovirus 1</i>
MRV2	- <i>Mammalian orthoreovirus 2</i>
MRV3	- <i>Mammalian orthoreovirus 3</i>
MRV4	- <i>Mammalian orthoreovirus 4</i>
mM	- Milimolar
μ	- mu (símbolo para micro)
NLS	- Sinal de localização nuclear, do inglês <i>Nuclear Localization Signal</i>
NLRV	- <i>Nilaparvata lugens reovirus</i>
nm	- nanômetro
ORF1a	- Open Reading Frame 1a
ORF1b	- Open Reading Frame 1b
ORF2	- Open Reading Frame 2
PAGE	- Eletroforese em gel de poliacrilamida, do inglês <i>Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>
pH	- Potencial Hidrogeniônico
RNA	- Ácido Ribonucleico
RRSV	- <i>Rice ragged stunt virus</i>
RVA	- <i>Rotavírus A</i>
RSB	- <i>Rice ragged stunt virus</i>
SDS	- Dodecil Sulfato de Sódio, do inglês <i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>
sgRNA	- RNA subgenômico
s2m	- Stem-loop 2-like motif
σ	- Sigma
SRBSDV	- <i>Rice black-streaked dwarf virus</i>

TAstV-1	- Astrovírus do peru 1, do inglês <i>Turkey astrovirus 1</i>
TAstV-2	- Astrovírus do peru 2, do inglês <i>Turkey astrovirus 2</i>
TAstV-3	- Astrovírus do peru 3, do inglês <i>Turkey astrovirus 3</i>
Thr	- Treonina
TM	- Domínio Transmembrana, do inglês <i>Transmembrane domain</i>
Tris/HCL	- Tris/Ácido Clorídrico
vp25	- Proteína viral de 25 kDa, do inglês <i>viral protein 25 kDa</i>
vp27	- Proteína viral de 27 kDa, do inglês <i>viral protein 27 kDa</i>
vp34	- Proteína viral de 34 kDa, do inglês <i>viral protein 34 kDa</i>
vp70	- Proteína viral de 70 kDa, do inglês <i>viral protein 70 kDa</i>
vp90	- Proteína viral de 90 kDa, do inglês <i>viral protein 90 kDa</i>
%	- Porcentagem

Sumário

1.	PREÂMBULO	17
2.	INTRODUÇÃO	18
1.	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
1.1.	Ordem <i>Reovirales</i>	20
2.2.	Família <i>Spinareoviridae</i>	24
2.2.1.	Gênero <i>Aquareovirus</i>	24
2.2.2.	Gênero <i>Coltivirus</i>	24
2.2.3.	Gênero <i>Cypovirus</i>	26
2.2.4.	Gênero <i>Dinovernavirus</i>	27
2.2.5.	Gênero <i>Fijivirus</i>	28
2.2.6.	Gênero <i>Idnoreovirus</i>	29
2.2.7.	Gênero <i>Mycoreovirus</i>	29
2.2.8.	Gênero <i>Orthoreovirus</i>	31
2.2.9.	Gênero <i>Oryzavirus</i>	34
2.2.10.	Classificação taxonômica para a família <i>Spinareoviridae</i>	35
2.3.	Família <i>Astroviridae</i>	36
2.2.	Classificação Taxonômica do gênero <i>Avastrovirus</i>	39
2.2.1.	Genoma do astrovírus.....	40
2.3.	Astrovírus aviários	45
2.3.1.	Astrovírus de peru (Turkey astrovirus -TAstV).....	45
2.3.2.	Astrovírus de galinha (Chicken astrovirus – CastV)	46
2.3.3.	Vírus da nefrite aviária (Avian nephritis virus – ANV)	46
2.3.4.	Astrovírus de pato (Duck astrovírus – DAstV)	47
2.3.5.	Astrovírus em aves silvestres.....	47
3.	OBJETIVOS	50
4.	ARTIGO CIENTÍFICO 1.....	52
5.	ARTIGO CIENTÍFICO 2.....	113
10.	ANEXO A - Informações das aves coletadas no Parque Estadual Serra do Mar, núcleo Curucutu, São Paulo, Brasil.....	159

Capítulo 1

1. PREÂMBULO

Esta tese foi elaborada no formato de publicação, conforme as normas do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da FMVZ, UNESP, Botucatu, São Paulo. O Capítulo 1 contém o preâmbulo, a introdução, e a revisão bibliográfica, com ênfase na ordem *Reovirales*, na família *Spinareoviridae*, e na família *Astroviridae*, destacando o gênero *Avastrovirus*. Os Capítulos 2 e 3 correspondem, respectivamente, ao primeiro e segundo artigos científicos resultantes desta tese. O Capítulo 4 apresenta as conclusões gerais e as referências bibliográficas.

A estrutura da tese foi organizada dessa maneira para facilitar a compreensão dos resultados obtidos. O Artigo 1 descreve os resultados de uma vigilância viral realizada em amostras fecais de aves silvestres do Parque Estadual Serra do Mar, em São Paulo, com o objetivo de identificar vírus com genoma constituído de dsRNA. Nessa análise, foi identificado um padrão migratório não usual em gel de poliacrilamida (PAGE). Uma das amostras com esse padrão foi submetida ao sequenciamento de nova geração, resultando na identificação de quatro segmentos prováveis de um novo reovírus, nomeado provisoriamente como Curucutu reovirus. A análise desses segmentos, particularmente da RNA polimerase, sugere a classificação do Curucutu reovirus em um novo gênero pertencente à família *Spinareoviridae*.

Além disso, um dos achados da análise do viroma dessa mesma amostra foi o genoma completo de um avastrovírus, o que deu origem ao Artigo 2. O Artigo 2 descreve a caracterização do genoma completo obtido por sequenciamento de nova geração de uma potencial nova espécie associada a passeriformes da Mata Atlântica. A partir do genoma recuperado, foi desenvolvido o delineamento experimental para a vigilância laboratorial de astrovírus nas amostras de aves silvestres previamente coletadas no parque estadual.

2. INTRODUÇÃO

A diversidade das aves é subestimada. De acordo com Barrowclough et al. (2016), existem mais de 10.000 espécies de aves em todo o mundo, com estimativas sugerindo que esse número pode dobrar de tamanho. A classe Aves faz parte do clado Tetrapoda, que inclui os vertebrados terrestres, um grupo altamente diversificado que habita todos os continentes do planeta. A Mata Atlântica é um dos principais centros de biodiversidade de aves, e além de apresentar altos níveis de endemismo (MYERS et al., 2000), abriga inúmeras espécies em risco de extinção (MURRAY-SMITH et al., 2009). Uma importante região da Mata Atlântica é a Serra do Mar, localizada nas regiões Sudeste e Sul do Brasil, atualmente reconhecida como a região que apresenta a maior riqueza de espécies de aves no estado de São Paulo com 422 espécies descritas até o presente momento (SCHUNCK; SILVEIRA; NASCIMENTO, 2019).

As aves, com sua distribuição mundial e capacidade de se adaptar a diversos ambientes, são boas candidatas para atuar na dispersão de microrganismos, incluindo agentes virais (TRUCHADO et al., 2020). Entretanto, a pesquisa de vírus em aves silvestres tem focado principalmente em abordagens orientadas na vigilância de vírus específicos e que produzem infecções zoonóticas e/ou com alta taxa de mortalidade, como o vírus da influenza aviária, vírus da doença de Newcastle, vírus do Nilo Ocidental e vírus Usutu (LI et al., 2017; BROWN et al., 2017; MICHEL et al., 2018). Portanto, existe uma importância intrínseca em expandir o conhecimento sobre os vírus aviários, principalmente em populações de passeriformes, pois além de compreenderem cerca de 60% da diversidade aviária (CRACRAFT; BRAKER., 2009), os estudos de caracterização da diversidade viral em aves silvestres dessa ordem são escassos (TRUCHADO et al., 2020).

Segundo Wille et al. (2021), aves aparentemente saudáveis são capazes de sustentar alta diversidade e abundância viral, e agentes etiológicos previamente associadas a enfermidades gastroentéricas virais podem não ser patogênicos para as aves de vida livre. Além disso, os autores destacam a natureza transitória do viroma, principalmente dos vírus constituídos de genoma

de RNA, ao longo de faixas etárias e entre períodos de amostragem distintos, demonstrando a necessidade de estudos a longo prazo.

Os vírus entéricos são excretados em alta concentração em fezes de indivíduos infectados, em humanos entre 10^5 e 10^{11} partículas virais por grama de fezes, inclusive em assintomáticos. Portanto, a principal rota de transmissão desses agentes é a fecal-oral. Os vírus transmitidos por essa rota geralmente são não-envelopados, resistentes a condições de pH baixo, como o encontrado no trato digestivo, além de permanecerem viáveis e infectantes por longos períodos no ambiente (FARTHING, 1989).

Alguns estudos foram desenvolvidos para avaliar a diversidade do viroma cloacal de passeriformes silvestres, especificamente na Guiana Francesa e Espanha (TRUCHADO et al., 2020), China (SHAN et al., 2022, DAI et al., 2022), Austrália e Nova Zelândia (CHANG et al., 2020, FRENCH et al., 2022, CUSTER et al., 2022), demonstrando a presença de uma diversidade viral composta por vírus de RNA e DNA, incluindo vírus da família *Astroviridae* (ordem *Stellavirales*) e das famílias *Sedoreoviridae* e *Spinareoviridae* (ordem *Reovirales*).

Dentre os vírus constituídos de RNA fita simples sentido positivo (ssRNA+) inclui-se a família *Astroviridae*. Nessa família o gênero *Avastrovirus* inclui três vírus capazes de infectar aves, provocando ou não doença clínica: avastrovírus 1, 2 e 3 (*Avastrovirus meleagridis*, *Avastrovirus galli* e *Avastrovirus intestini*, respectivamente (BOSCH et al., 2012; ICTV, 2025). Os vírus pertencentes a este gênero possuem considerável diversidade genética, evidenciada pela análise da sequência de aminoácidos das ORFs 1b e 2 de quatro genomas completos recuperados de aves neotropicais da Guiana Francesa (FERNÁNDEZ-CORREA et al., 2019). A descoberta de novas espécies destaca o potencial desse gênero viral circular silenciosamente dentro de populações silvestres e aves domésticas através de um ciclo de transmissão fecal-oral (COOK, 2020, KOCI; SCHULTZ, 2002).

Outro grupo de vírus encontrados em aves são os vírus classificados na ordem *Reovirales*, que compreende as famílias *Sedoreoviridae* e *Spinareoviridae*. A primeira abriga o gênero *Rotavirus*, que atualmente inclui onze espécies, das quais três contém vírus que foram isolados exclusivamente

4. Referências Bibliográficas

AL-MUTAIRY, B. *et al.* Genome prediction of putative genome-linked viral protein (VPg) of astroviruses. **Virus Genes**, Boston, v. 31, n. 1, p. 21-30, 2005.

APPLETON, H.; HIGGINS, P. G. G. Viruses and gastroenteritis in infants. **Lancet**, London, v. 305, n. 7919, p. 1297, 1975.

ARRUDA, Bailey *et al.* Porcine astrovirus type 3 in central nervous system of swine with polioencephalomyelitis. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 12, p. 2097, 2017.

ATTOUI, Houssam *et al.* Sequence characterization of Ndelle virus genome segments 1, 5, 7, 8, and 10: evidence for reassignment to the genus Orthoreovirus, family Reoviridae. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 287, n. 2, p. 583-588, 2001.

ATTOUI, H. *et al.* Common evolutionary origin of aquareoviruses and orthoreoviruses revealed by genome characterization of *Golden shiner reovirus*, *Grass carp reovirus*, *Striped bass reovirus* and *golden ide reovirus* (genus *Aquareovirus*, family *Reoviridae*). **The Journal of General Virology**, London, v. 83, p.1941-1951, 2002a.

ATTOUI, H. *et al.* Genus *Coltivirus* (family *Reoviridae*): genomic and morphologic characterization of old world and new world viruses. **Archives of Virology**, New York, v. 147, n. 3, p. 533-561, 2002b.

ATTOUI, H. *et al.* Expansion of family *Reoviridae* to include nine-segmented dsRNA viruses: isolation and characterization of a new virus designated *Aedes pseudoscutellaris* reovirus assigned to a proposed genus (*Dinovernavirus*). **Virology**, New York, v. 343, n. 2, p. 212-223, 2005.

BÁNYAI, K. *et al.* The genomic constellation of a novel avian orthoreovirus strain associated with runting-stunting syndrome in broilers. **Virus Genes**, Boston, v. 42, n. 1, p. 82-89, 2011.

BÁNYAI, K. *et al.* Whole-genome sequencing of a green bush viper reovirus reveals a shared evolutionary history between reptilian and unusual mammalian orthoreoviruses. **Archives of Virology**, New York, v. 159, n. 1, p. 153-158, 2014.

BASS, D. M.; QIU, S. Proteolytic processing of the astrovirus capsid. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 74, n. 4, p. 1810-1814, 2000.

BARROWCLOUGH G.F *et al.* How Many Kinds of Birds Are There and Why Does It Matter? **PLoS ONE**, v. 11 n.11, p.1-15, 2016

BAXENDALE, W.; MEBATSION, T. The isolation and characterisation of astroviruses from chickens. **Avian Pathology**, Houghton, v. 33, n. 3, p. 364-370, 2004.

BENAVENTE, J.; MARTÍNEZ-COSTAS, J. Avian reovirus: structure and biology. **Virus Research**, Amsterdam, v. 123, n. 2, p. 105-119, 2007.

BENEDICTIS, P. *et al.* Astrovirus infections in humans and animals-molecular biology, genetic diversity, and interspecies transmissions. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 11, n. 7, p. 1529-1544, 2011.

BIDIN, M. *et al.* Detection and characterization of avian nephritis virus in ducklings. **Avian Pathology**, London, v. 40, n. 2, p. 173-177, 2011.

BIGOT, Y. *et al.* The genome segments of DpRV, a commensal reovirus of the wasp *Diadromus pulchellus* (Hymenoptera). **Virology**, New York, v. 210, n. 1, p. 109-119, 1995.

BODELÓN, G. *et al.* The avian reovirus genome segment S1 is a functionally tricistronic gene that expresses one structural and two nonstructural proteins in infected cells. **Virology**, New York, v. 290, n. 2, p. 181-191, 2001.

BOROS, Ákos *et al.* Outbreaks of neuroinvasive astrovirus associated with encephalomyelitis, weakness, and paralysis among weaned pigs, Hungary. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 12, p. 1982, 2017.

BOSCH, A. *et al.* Family Astroviridae. In: KING, A. M. Q. *et al.* (ed.). **Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. San Diego: Elsevier, 2012. p. 953-959.

BOUZALAS, I. G. *et al.* Neurotropic astrovirus in cattle with nonsuppurative encephalitis in Europe. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 52, n. 9, p. 3318-3324, 2014.

BROWN, V. R.; BEVINS, S. N. A review of virulent Newcastle disease viruses in the United States and the role of wild birds in viral persistence and spread. **Veterinary Research**, London, v. 48, n. 1, p. 68, 2017.

CALVO, P. G. *et al.* Structure of the carboxy-terminal receptor-binding domain of avian reovirus fibre sigma C. **Journal of Molecular Biology**, Amsterdam, v. 354, n. 1, p. 137-149, 2005.

CATTOLI, G. *et al.* Co-circulation of distinct genetic lineages of astroviruses in turkeys and guinea fowl. **Archives of Virology**, v. 152, p. 595-602, 2007.

CHANG, W.-S. *et al.* Metatranscriptomic analysis of virus diversity in urban wild birds with parvovirus disease. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 94, n. 18, p. 1-22, 2020.

CHEN, C. *et al.* Comparison of proteins and nucleic acids of echinocloa ragged stunt and rice ragged stunt viruses. **Intervirology**, Basel, v. 30, n. 5, p. 278-284, 1989.

CHU, D. K. W. *et al.* A novel group of avian astroviruses in wild aquatic birds. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 86, n. 24, p. 13772-13778, 2012.

CHU, D.K.; POON, L.L.; GUAN, Y.; PEIRIS, J.S. Novel astroviruses in insectivorous bats. **Journal of Virology**, v. 82, n. 18, p. 9107-9114, set. 2008. doi: 10.1128/JVI.00857-08.

CHUA, K. B. *et al.* Investigation of a potential zoonotic transmission of orthoreovirus associated with acute influenza-like illness in an adult patient. **PloS One**, San Francisco, v. 6, n. 10, p. e25434, 2011.

COOK, J. K. Avian astroviruses. In: SWAYNE, D. *et al.* (ed.). **Diseases of poultry**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2020. p.

CORDEY, S. *et al.* Astrovirus MLB2, a new gastroenteric virus associated with meningitis and disseminated infection. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 22, n. 5, p. 846-853, 2016.

COULIBALY, F. *et al.* The molecular organization of *Cypovirus* polyhedra. **Nature**, Basingstoke, v. 446, n. 7131, p. 97-101, 2007.

CRACRAFT, J.; BARKER, F. K. Passerine birds (Passeriformes). *In*: HEDGES, S. B.; KUMAR, S. (ed.). **The timetree of life**. New York: Oxford University Press, 2009. p. 423-431.

CUSTER, J. M. *et al.* Diverse single-stranded DNA viruses identified in New Zealand (Aotearoa) South Island Robin (*Petroica australis*) fecal samples. **Virology**, New York, v. 565, p. 38-51, 2022.

DAI, Z. *et al.* Parvovirus dark matter in the cloaca of wild birds. **GigaScience**, New York, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2022.

DANDÁR, E. *et al.* The complete genome sequence of a European goose reovirus strain. **Archives of Virology**, New York, v. 159, n. 8, p. 2165-2169, 2014a.

DANDÁR, E. *et al.* Complete genome analysis identifies Tvärminne avian virus as a candidate new species within the genus *Orthoreovirus*. **Journal of General Virology**, London, v. 95, n. 4, p. 898-904, 2014b.

DE SOUZA, William Marciel *et al.* Discovery of novel astrovirus and calicivirus identified in ruddy turnstones in Brazil. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 5556, 2019.

DE NOVA-OCAMPO, Mónica *et al.* Human astroviruses: in silico analysis of the untranslated region and putative binding sites of cellular proteins. **Molecular biology reports**, v. 46, n. 1, p. 1413-1424, 2019.

DONATO, C.; VIJAYKRISHNA, D. The broad host range and genetic diversity of mammalian and avian astroviruses. **Viruses**, Basel, v. 9, n. 5, p. 102, 2017.

DONG, J. *et al.* Crystal structure of the human astrovirus capsid spike. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 108, n. 31, p. 12681-12686, 2011.

DRYDEN, Kelly A. *et al.* Early steps in reovirus infection are associated with dramatic changes in supramolecular structure and protein conformation: analysis of virions and subviral particles by cryoelectron microscopy and image reconstruction. **The Journal of Cell Biology**, v. 122, n. 5, p. 1023-1041, 1993.

EMMONS, R. W. Ecology of Colorado tick fever. **Annual Reviews in Microbiology**, Palo Alto, v. 42, n. 1, p. 49-64, 1988.

FARTHING, M. J. G. **Viruses and the gut**. Garden City: Smith Kline & French, 1989.

FERNÁNDEZ-CORREA I. *et al.* A Novel Group of Avian Astroviruses from Neotropical Passerine Birds Broaden the Diversity and Host Range of Astroviridae. **Scientific Reports**, v. 9, n.9513, p.1-9, 2019.

FINKBEINER, S.R.; LI, Y.; RUONE, S.; CONRARDY, C.; GREGORICUS, N.; TONEY, D.; VIRGIN, H.W.; ANDERSON, L.J.; VINJÉ, J.; WANG, D.; TONG, S. Identification of a novel astrovirus (astrovirus VA1) associated with an outbreak of acute gastroenteritis. **Journal of Virology**, v. 83, n. 20, p. 10836-10839, out. 2009. doi: 10.1128/JVI.00998-09.

FLORIO, L.; STEWART, M. O.; MUGRAGE, E. R. The etiology of Colorado tick fever. **The Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 83, n. 1, p. 1-10, 1946.

FRENCH, R. K. *et al.* Metatranscriptomic comparison of viromes in endemic and introduced passerines in New Zealand. **Viruses**, Basel, v. 14, n. 7, p. 1364, 2022.

FU, Y. *et al.* Complete sequence of a duck astrovirus associated with fatal hepatitis in ducklings. **Journal of General Virology**, London, v. 90, n. 5, p. 1104-1108, 2009.

FUENTES, C. *et al.* Identification of human astrovirus genome-linked protein (VPg) essential for virus infectivity. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 86, n. 18, p. 10070-10078, 2012.

FUJITA, R. *et al.* Isolation and characterization of Tarumizu tick virus: a new coltivirus from *Haemaphysalis flava* ticks in Japan. **Virus Research**, Amsterdam, v. 242, p. 131-140, 2017.

FULBRIGHT, D. W.; PAUL, C. P.; GARROLD, S. W. Hypovirulence: a natural control of chestnut blight. In: MUKERJI, K. G.; GARG, K. L. (Eds.). **Biocontrol of Plant Disease**, Vol II. Boca Raton: CRC Press, 1988. p. 122-139.

GOODFELLOW, I. The genome-linked protein VPg of vertebrate viruses: a multifaceted protein. **Current Opinion in Virology**, Amsterdam, v. 1, n. 5, p. 355-362, 2011.

GOUGH, R. E. *et al.* Astrovirus-like particles associated with hepatitis in ducklings. **The Veterinary Record**, Oxford, v. 114, p. 279, 1984.

GUIX, S.; BOSCH, A.; PINTÓ, R. M. Astrovirus taxonomy. In: GUIX, S.; BOSCH, A.; PINTÓ, R. M. **Astrovirus research: essential ideas, everyday impacts, future directions**. Oklahoma: Springer, 2013. p. 97-118.

GUZMÁN, F. A. *et al.* Sequencing of the bicistronic genome segments S7 and S9 of Mal de Río Cuarto virus (*Fijivirus*, *Reoviridae*) completes the genome of this virus. **Archives of Virology**, Wien, v. 152, n. 3, p. 565-573, 2007.

HAGIWARA, K. *et al.* Nucleotide sequences of segments 1, 3 and 4 of the genome of *Bombyx mori cypovirus 1* encoding putative capsid proteins VP1, VP3 and VP4, respectively. **Journal of General Virology**, London, v. 83, n. 6, p. 1477-1482, 2002.

HILL, Claire L. *et al.* The structure of a cypovirus and the functional organization of dsRNA viruses. **Nature Structural Biology**, v. 6, n. 6, p. 565-568, 1999.

HILLMAN, B. I. *et al.* A reovirus of the fungus *Cryphonectria parasitica* that is infectious as particles and related to the coltivirus genus of animal pathogens. **Journal of Virology**, Washington, v. 78, n. 2, p. 892-898, 2004.

HILLMAN, B. I.; SUZUKI, N. Viruses of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. **Advances in Virus Research**, New York, v. 63, p. 423-472, 2004.

HOANG, A. T. *et al.* Identification, characterization, and distribution of *Southern rice black-streaked dwarf virus* in Vietnam. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 95, n. 9, p.1063-1069, 2011.

HONKAVUORI, K. S. *et al.* Novel coronavirus and astrovirus in Delaware Bay shorebirds. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, n. 4, p. e93395, 2014.

IMADA, T. *et al.* Antibody survey against avian nephritis virus among chickens in Japan. **National Institute of Animal Health Quarterly**, Tokyo, v. 20, n. 2, p. 79-80, 1981.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. **Genus:** Avastrovirus. Disponível em: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202202621&taxon_name=Avastravirus. Acesso em: 14 jan. 2024.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. **Taxonomy.** Disponível em: <https://ictv.global/taxonomy>. Acesso em: 21 jan. 2025.

JANSEN VAN VUREN, Petrus *et al.* Isolation of a novel fusogenic orthoreovirus from *Eucampsipoda africana* bat flies in South Africa. **Viruses**, v. 8, n. 3, p. 65, 2016.

JIANG, Baoming *et al.* RNA sequence of astrovirus: distinctive genomic organization and a putative retrovirus-like ribosomal frameshifting signal that directs the viral replicase synthesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, n. 22, p. 10539-10543, 1993

JIANG, J.; LALIBERTÉ, J.-F. The genome-linked protein VPg of plant viruses: a protein with many partners. **Current Opinion in Virology**, Amsterdam, v. 1, n. 5, p. 347-354, 2011.

JONASSEN, C. M. *et al.* Complete genomic sequences of astroviruses from sheep and turkey: comparison with related viruses. **Virus Research**, Amsterdam, v. 91, n. 2, p. 195-201, 2003.

JONES, R. C. Reovirus infections. In: SWAYNE, D.E. **Diseases of poultry**. Willey, 2013. p. 351-373.

KANEMATSU, S. *et al.* A reovirus causes hypovirulence of *Rosellinia necatrix*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 94, n. 6, p. 561-568, 2004.

KANG, K.-I. *et al.* Determination of the full length sequence of a chicken astrovirus suggests a different replication mechanism. **Virus Genes**, Boston, v. 44, n. 1, p. 45-50, 2012.

KATTOOR, J. J. *et al.* Molecular evidence of group D Rotavirus in commercial broiler chicks in India. **Avian Biology Research**, London, v. 6, n. 4, p. 313-316, 2013.

KAPOOR, A.; LI, L.; VICTORIA, J.; ODERINDE, B.; MASON, C.; PANDEY, P.; ZAIDI, S.Z.; DELWART, E. Multiple novel astrovirus species in human stool. **Journal of General Virology**, v. 90, pt. 12, p. 2965-2972, dez. 2009. doi: 10.1099/vir.0.014449-0

KIBENGE, M. J. T. *et al.* Whole-genome analysis of piscine reovirus (PRV) shows PRV represents a new genus in family Reoviridae and its genome segment S1 sequences group it into two separate sub-genotypes. **Virology Journal**, London, v. 10, p. 1-20, 2013.

KITAMURA, N. *et al.* The genome-linked protein of picornaviruses. VII. Genetic mapping of poliovirus VPg by protein and RNA sequence studies. **Cell**, Cambridge, v. 21, n. 1, p. 295-302, 1980.

KLOET, S. R. Sequence analysis of four double-stranded RNA genomic segments reveals an orthoreovirus with a unique genotype infecting psittaciformes. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 52, n. 3, p. 480-486, 2008.

KNOWLES, N. J. *et al.* Astroviridae. In: KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. (org.). **Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of**

Viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Elsevier, 2012. p. 953–959.

KOCI, M. D.; SEAL, B. S.; SCHULTZ-CHERRY, S. Molecular characterization of an avian astrovirus. **Journal of Virology**, Washington, v. 74, n. 13, p. 6173-6177, 2000.

KOFSTAD, T.; JONASSEN, C. M. Screening of feral and wood pigeons for viruses harbouring a conserved mobile viral element: characterization of novel astroviruses and picornaviruses. **PloS One**, San Francisco, v. 6, n. 10, p. e25964, 2011.

KOUR, Rajpreet et al. Molecular detection and characterization reveals circulation of multiple genotypes of porcine astrovirus in Haryana, India. **Archives of Virology**, v. 166, n. 10, p. 2847-2852, 2021.

KUGLER, Renáta et al. Whole genome characterization of a chelonian orthoreovirus strain identifies significant genetic diversity and may classify reptile orthoreoviruses into distinct species. **Virus Research**, v. 215, p. 94-98, 2016.

LI, M. et al. Highly pathogenic avian influenza A (H5N8) virus in wild migratory birds, Qinghai Lake, China. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 23, n. 4, p. 637-641, 2017.

LI, P. et al. Asymmetric spread of SRBSDV between rice and corn plants by the vector *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae). **PLoS One**, San Francisco, v. 11, n. 10, p. 1-14, 2016.

LI, X.; FANG, Q. High-resolution 3D structures reveal the biological functions of reoviruses. **Virologica Sinica**, Amsterdam, v. 28, n. 6, p. 318-325, 2013.

LING, K. C.; TIONGCO, E. R.; AGUIERO, V. M. Rice ragged stunt, a new virus disease. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 62, n. 7, p. 701-705, 1978.

LIU, N.; WANG, F.; ZHANG, D. Complete sequence of a novel duck astrovirus. **Archives of Virology**, Wien, v. 159, n. 10, p. 2823-2827, 2014.

MACLACHLAN, N. J.; DUBOVI, E. J. Reoviridae. In: MACLACHLAN, N. J.; DUBOVI, E. J. (ed.). **Fenner's veterinary virology**. 5th ed. Cambridge: Academic Press, 2016. p. 299-317.

MADELEY, C. R.; COSGROVE, B. P. Letter: 28 nm particles in faeces in infantile gastroenteritis. **Lancet**, London, v. 6, n. 2, p. 451-452, 1975.

MAEDA, M. et al. Pathological changes in chicks inoculated with the picornavirus "avian nephritis virus". **Avian Diseases**, Kennett Square, p. 589-596, 1979.

MARTINEZ-SALAS, E. et al. Insights into structural and mechanistic features of viral IRES elements. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 8, p. 2629, 2018.

MATSUKURA, K. et al. Dynamics of southern rice black-streaked dwarf virus in rice and implication for virus acquisition. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 103, n. 5, p. 509-512, 2013.

MATTHIJNSSENS J. et al., *Sedoreoviridae*. **Journal of General Virology**, v. 103, n.10, p.1-2, 2022a.

MATTHIJNSSENS J. et al., *Spinareoviridae*. **Journal of General Virology**, v. 103, n.11, p.1-2, 2022b.

MCCRAE, M. A.; JOKLIK, W. K. The nature of the polypeptide encoded by each of the 10 double-stranded RNA segments of reovirus type 3. **Virology**, New York, v. 89, n. 2, p. 578-593, 1978.

MCNEILLY, F. *et al.* Studies on a new enterovirus-like virus isolated from chickens. **Avian Pathology**, London, v. 23, n. 2, p. 313-327, 1994.

MCNULTY, M. S. *et al.* Biological characterisation of avian enteroviruses and enterovirus-like viruses. **Avian Pathology**, London, v. 19, n. 1, p. 75-87, 1990.

MÉNDEZ, E. *et al.* "Proteolytic processing of a serotype 8 human astrovirus ORF2 polyprotein", **Journal of Virology**, Washington, v. 76, n. 16, p. 7996-8002, 2002.

MÉNDEZ, E.; SALAS-OCAMPO, E.; ARIAS, C. F. Caspases mediate processing of the capsid precursor and cell release of human astroviruses. **Journal of Virology**, v. 78, p. 8601-8608, 2004.

MÉNDEZ, E. *et al.* Replication cycle of astroviruses. **Astrovirus research: essential ideas, everyday impacts, future directions**, p. 19-45, 2013.

MICHEL, F. *et al.* West Nile Virus and Usutu Virus monitoring of wild birds in Germany. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Basel, v. 15, n. 2, p. 171, 2018.

MITTELHOLZER, C.; HEDLUND, K.O.; ENGLUND, L.; DIETZ, H.H.; SVENSSON, L. Molecular characterization of a novel astrovirus associated with disease in mink. **Journal of General Virology**, v. 84, pt. 11, p. 3087-3094, nov. 2003. doi: 10.1099/vir.0.19267-0.

MURRAY-SMITH, Charlotte *et al.* Plant diversity hotspots in the Atlantic coastal forests of Brazil. **Conservation Biology**, v. 23, n. 1, p. 151-163, 2009.

MURPHY, F. A. *et al.* Virus taxonomy, 6th report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Archives of Virology Supplementum**, Wien, v. 10, p. 313-314, 1995.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

OGASAWARA, Y. *et al.* Isolation and genomic characterization of a novel orthoreovirus from a brown-eared bulbul (*Hypsipetes amaurotis*) in Japan. **Journal of General Virology**, London, v. 96, pt. 7, p. 1777-1786, 2015.

OSAKI, H. *et al.* Nucleotide sequences of double-stranded RNA segments from a hypovirulent strain of the white root rot fungus *Rosellinia necatrix*: possibility of the first member of the Reoviridae from fungus. **Virus Genes**, Boston, v. 25, n. 1, p. 101-107, 2002.

PANTIN-JACKWOOD, M. J. *et al.* Molecular characterization of avian astroviruses. **Archives of Virology**, Wien, v. 156, n. 2, p. 235-244, 2011.

PANTIN-JACKWOOD, M.J.; SPACKMAN, E.; WOOLCOCK, P.R. Molecular characterization and typing of chicken and turkey astroviruses circulating in the United States: implications for diagnostics. **Avian Diseases**, v. 50, n. 3, p. 397-404, 2006.

PANTIN-JACKWOOD, M.; TODD, D.; KOCI, M. D. Avian astroviruses. *In*: SCHULTZ-CHERRY, S. (ed.) **Astrovirus research**: essential ideas, everyday impacts, future directions. Berlin: Springer, 2013. p. 151-180.

PAYNE, Susan. Family astroviridae. **Viruses**, p. 125, 2017.

QUAN, P.-L. *et al.* Astrovirus encephalitis in boy with X-linked agammaglobulinemia. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 16, n. 6, p. 918-925, 2010.

RABOUILLE, Alain *et al.* A member of the reoviridae (DpRV) has a ploidy-specific genomic segment in the wasp *Diadromus pulchellus* (Hymenoptera). **Virology**, v. 205, n. 1, p. 228-237, 1994.

REHSE-KÜPPER, B. *et al.* Eyach--an arthropod-borne virus related to Colorado tick fever virus in the Federal Republic of Germany. **Acta Virologica**, Prague, v. 20, n. 4, p. 339-342, 1976.

REYNOLDS, D. L.; SAIF, Y. M. Astrovirus: a cause of an enteric disease in turkey poults. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 30, n. 4, p. 728-735, 1986.

REYNOLDS, D. L.; SAIF, Y. M.; THEIL, K. W. A survey of enteric viruses of turkey poults. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 31, n. 1, p. 89-98, 1987.

RIVERA, R.; NOLLENS, H.H.; VENN-WATSON, S.; GULLAND, F.M.; WELLEHAN, J.F. Jr. Characterization of phylogenetically diverse astroviruses of marine mammals. **Journal of General Virology**, v. 91, pt. 1, p. 166-173, jan. 2010. doi: 10.1099/vir.0.015222-0.

RISCO, C. *et al.* Ultrastructure of human astrovirus serotype 2. **Journal of General Virology**, London, v. 76, n. 8, p. 2075-2080, 1995.

ROBIN, C.; HEINIGER, U. Chestnut blight in Europe: Diversity of *Cryphonectria parasitica*, hypovirulence and biocontrol. **Forest Snow and Landscape Research**, v. 76, n. 3, p. 361-367, 2001.

ROHRMANN, G. F. Polyhedrin structure. **Journal of General Virology**, London, v. 67, pt. 8, p. 1499-1513, 1986.

SABIN, A. B. Reoviruses: a new group of respiratory and enteric viruses formerly classified as ECHO type 10 is described. **Science**, Washington, v. 130, n. 3386, p. 1387-1389, 1959.

SAJEWICZ-KRUKOWSKA, J.; DOMANSKA-BLICHARZ, K. Nearly full-length genome sequence of a novel astrovirus isolated from chickens with 'white chicks' condition. **Archives of Virology**, Wien, v. 161, n. 9, p. 2581-2587, 2016.

SELLERS, H. S. *et al.* Phylogenetic analysis of the sigma 2 protein gene of turkey reoviruses. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 48, n. 3, p. 651-657, 2004.

SHAN, T. *et al.* Virome in the cloaca of wild and breeding birds revealed a diversity of significant viruses. **Microbiome**, London, v. 10, n. 1, p. 60, 2022.

SHMULEVITZ, M. *et al.* Sequential partially overlapping gene arrangement in the tricistronic S1 genome segments of avian reovirus and Nelson Bay reovirus: implications for translation initiation. **Journal of Virology**, Washington, v. 76, n. 2, p. 609-618, 2002.

SCHUNCK, Fabio; SILVEIRA, Luís Fábio; NASCIMENTO, Valder Soares. 118 years of ornithological knowledge of a forgotten region of the Atlantic Forest near the largest city in South America. **The Wilson Journal of Ornithology**, v. 131, n. 4, p. 758-773, 2019.

SWEVERS, Luc et al. Mechanisms of cell entry by dsRNA viruses: Insights for efficient delivery of dsRNA and tools for improved RNAi-based pest control. *Frontiers in Physiology*, v. 12, p. 749387, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.749387>.

STRAIN, E. et al. Genomic analysis of closely related astroviruses. **Journal of Virology**, Washington, v. 82, n. 10, p. 5099-5103, 2008.

SUZUKI, N. et al. Complete genome sequence of Mycoreovirus-1/Cp9B21, a member of a novel genus within the family *Reoviridae*, isolated from the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica*. **The Journal of General Virology**, London, v. 85, pt. 11, p. 3437-3448, 2004.

TAKASE, K. et al. Susceptibility of embryos and chicks, derived from immunized breeding hens, to avian nephritis virus. **Avian Pathology**, London, v. 23, n. 1, p. 117-125, 1994.

THALMANN, C. M. et al. Broome virus, a new fusogenic Orthoreovirus species isolated from an Australian fruit bat. **Virology**, New York, v. 402, n. 1, p. 26-40, 2010.

TODD, D. et al. Identification of chicken enterovirus-like viruses, duck hepatitis virus type 2 and duck hepatitis virus type 3 as astroviruses. **Avian Pathology**, London, v. 38, n. 1, p. 21-29, 2009a

TODD, D. et al. A seroprevalence investigation of chicken astrovirus infections. **Avian Pathology**, London, v. 38, n. 4, p. 301-309, 2009b.

TOFFAN, A.; JONASSEN, C.M.; DE BATTISTI, C.; SCHIAVON, E.; KOFSTAD, T.; CAPUA, I.; CATTOLI, G. Genetic characterization of a new astrovirus detected in dogs suffering from diarrhoea. **Veterinary Microbiology**, v. 139, n. 1-2, p. 147-152, out. 2009. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.04.031.

TOURIS-OTERO, Fernando et al. Avian reovirus nonstructural protein μ NS forms viroplasm-like inclusions and recruits protein σ NS to these structures. **Virology**, v. 319, n. 1, p. 94-106, 2004.

TRUCHADO, D. A. et al. Comparative metagenomics of palearctic and neotropical avian cloacal viromes reveal geographic bias in virus discovery. **Microorganisms**, Basel, v. 8, n. 12, p. 1869, 2020.

UPADHYAYA, N. M. et al. Rice ragged stunt oryzavirus genome segment S4 could encode an RNA dependent RNA polymerase and a second protein of unknown function. **Archives of Virology**, Wien, v. 143, n. 9, p. 1815-1822, 1998.

VAISHALI et al. Coinfection of porcine astrovirus and other porcine viruses in diarrheic pigs in Haryana, India. **Archives of Virology**, v. 168, n. 10, p. 246, 2023.

VAN VUREN, P. J. et al. Isolation of a novel fusogenic orthoreovirus from Eucampsipoda africana bat flies in South Africa. **Viruses**, Basel, v. 8, n. 3, p. 65, 2016.

VARMA, M. G.; PUDNEY, M.; LEAKE, C. J. Cell lines from larvae of *Aedes* (*Stegomyia*) *malayensis* Colless and *Aedes* (*S*) *pseudoscutellaris* (Theobald) and their infection with

some arboviruses. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Oxford, v. 68, n. 5, p. 374-382, 1974.

VIBIN, J. *et al.* Metagenomic characterisation of additional and novel avian viruses from Australian wild ducks. **Scientific Reports**, London, v. 10, n. 1, p. 22284, 2020.

VOON, K. *et al.* Evolutionary relationship of the L-and M-class genome segments of bat-borne fusogenic orthoreoviruses in Malaysia and Australia. **The Journal of General Virology**, London, v. 92, pt. 12, p. 2930-2936, 2011.

WANG, D. *et al.* Complete genomic sequence of a new Muscovy duck-origin reovirus from China. **Journal of Virology**, Washington, v. 86, n. 22, p. 12445, 2012.

WEI, C. Z. *et al.* Complete nucleotide sequences of genome segments 1 and 3 of Rosellinia anti-rot virus in the family Reoviridae. **Archives of Virology**, Wien, v. 149, n. 4, p. 773-777, 2004.

WEI, C. Z. *et al.* Molecular characterization of dsRNA segments 2 and 5 and electron microscopy of a novel reovirus from a hypovirulent isolate, W370, of the plant pathogen *Rosellinia necatrix*. **The Journal of General Virology**, London, v. 84, pt. 9, p. 2431-2437, 2003.

WEISS, S. *et al.* A novel Coltivirus-related virus isolated from free-tailed bats from Côte d'Ivoire is able to infect human cells in vitro. **Virology Journal**, London, v. 14, n. 1, p. 181, 2017.

WILLE, M. *et al.* RNA virome abundance and diversity is associated with host age in a bird species. **Virology**, New York, v. 561, p. 98-106, 2021.

WILLIAMSON, B. N. *et al.* Prevalence and strains of Colorado tick fever virus in Rocky Mountain wood ticks in the Bitterroot Valley, Montana. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, v. 19, n. 9, p. 694-702, 2019.

WILLCOCKS, M.M.; BROWN, T.D.; MADELEY, C.R.; CARTER, M.J. The complete sequence of a human astrovirus. **Journal of General Virology**, v. 75, pt. 7, p. 1785-1788, jul. 1994. doi: 10.1099/0022-1317-75-7-1785.

XU, L. *et al.* Infection and innate immune mechanism of goose astrovirus. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 14, p. 1121763, 2023.

XU, W.; COOMBS, K. M. Avian reovirus L2 genome segment sequences and predicted structure/function of the encoded RNA-dependent RNA polymerase protein. **Virology Journal**, London, v. 5, p. 153, 2008.

YADAV, P. D. *et al.* Characterization of novel reoviruses wad medani virus (Orbivirus) and kundal virus (Coltivirus) collected from *Hyalomma anatolicum* ticks in India during surveillance for crimean congo hemorrhagic fever. **Journal of Virology**, Washington, v. 93, n. 13, p. e00106-19, 2019.

YAMAGUCHI, S.; IMADA, T.; KAWAMURA, H. Characterization of a picornavirus isolated from broiler chicks. **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 23, n. 3, p. 571-581, 1979.

YAN, Xiaodong *et al.* Virion structure of baboon reovirus, a fusogenic orthoreovirus that lacks an adhesion fiber. **Journal of virology**, v. 85, n. 15, p. 7483-7495, 2011.

YASUMITSU, Carolina Yuka et al. Porcine astrovirus 3 RNA in the central nervous system of weaned pigs with neurologic disease and polioencephalomyelitis in Brazil. **Microbial Pathogenesis**, v. 196, p. 106917, 2024.

ZAKHAM, F. et al. Viral RNA metagenomics of *Hyalomma* ticks collected from dromedary camels in Makkah province, Saudi Arabia. **Viruses**, Basel, v. 13, n. 7, p. 1396, 2021.

ZHANG, W.; LI, L.; DENG, X.; KAPUSINSZKY, B.; PESAVENTO, P.A.; DELWART, E. Faecal virome of cats in an animal shelter. **Journal of General Virology**, v. 95, pt. 11, p. 2553-2564, nov. 2014. doi: 10.1099/vir.0.069674-0.

ZHAO, S. L. et al. Genomic sequence analyses of segments 1 to 6 of *Dendrolimus punctatus* cytoplasmic polyhedrosis virus. **Archives of Virology**, Wien, v. 148, n. 7, p. 1357-1368, 2003.

ZHOU, G. H. et al. Southern rice black-streaked dwarf virus: a new proposed *Fijivirus* species in the family *Reoviridae*. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 53, n. 23, p. 3677-3685, 2008.

ZHOU, Y. et al. Genomic and biological characterization of a new cypovirus isolated from *Dendrolimus punctatus*. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 9, n.11, p. 1-19, 2014.

ZHU, H.C.; CHU, D.K.W.; LIU, W.; DONG, B.Q.; ZHANG, S.Y.; ZHANG, J.X.; LI, L.F.; VIJAYKRISHNA, D.; SMITH, G.J.D.; CHEN, H.L.; POON, L.L.M.; PEIRIS, J.S.M.; GUAN, Y. Detection of diverse astroviruses from bats in China. **Journal of General Virology**, v. 90, pt. 4, p. 883-887, abr. 2009. doi: 10.1099/vir.0.007732-0.