

# Identificação e Caracterização de um Potyvírus Isolado de *Zinnia elegans*\*

Ana C. Maritan<sup>1\*\*</sup>, José O. Gaspar<sup>1\*\*\*</sup> & Luis E. A. Camargo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Zoologia e Botânica, IBILCE/UNESP, CEP 15054-000 São José do Rio Preto, SP, e-mail: gaspar@dzib.ibilce.unesp.br; <sup>2</sup>Lab. de Biologia Molecular, ESALQ/USP, Cx. Postal 9, CEP 13418-900, Piracicaba, SP

(Aceito para publicação em 06/11/2003)

Autor para correspondência: José Osmar Gaspar

MARITAN, A.C., GASPAR, J.O. & CAMARGO, L.E.A. Identificação e caracterização de um potyvírus isolado de *Zinnia elegans*. Fitopatologia Brasileira 29:028-033. 2004.

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo a identificação e caracterização de um potyvírus isolado de *Zinnia elegans*, na Região Noroeste do Estado de São Paulo. O potyvírus foi transmitido por inoculação mecânica e apresentou uma gama restrita de hospedeiras sendo que as espécies mais afetadas pertencem à família Asteraceae. Em SDS-PAGE, a massa molecular da proteína capsidial (CP) foi estimada em 33 kDa e, em "Western-blot", reagiu com anti-soro para o *Bidens mosaic virus* (BiMV). Um fragmento de aproximadamente 820 pb foi amplificado por RT/PCR, clonado e seqüenciado. O fragmento, que inclui o gene da proteína capsidial, mostrou similaridade de aminoácidos do "core" da CP variando de 55% (*Tobacco vein mottling virus*, TVMV) a 95% (*Sunflower chlorotic mottle virus*, SuCMoV) e da CP completa de 55% (TVMV)

a 91% (SuCMoV). Na região N-terminal, o potyvírus de *Zinnia* tem uma deleção de quatro aminoácidos (posições 9 a 12 após o sítio de clivagem entre a proteína N1b e a CP) quando comparada com a seqüência do SuCMoV. A análise filogenética agrupou o potyvírus de *Zinnia* e o SuCMoV em um mesmo ramo em 100% das réplicas, mostrando uma relação de parentesco muito próxima entre esses dois vírus. Os resultados obtidos no presente trabalho demonstraram que o potyvírus de *Zinnia* e o SuCMoV são estirpes do mesmo vírus. Sugere-se o nome *Sunflower chlorotic mottle virus*, isolado *Zinnia* (SuCMoV-Zi), ao potyvírus encontrado em *Z. elegans* no Brasil.

**Palavras-chave adicionais:** *Sunflower chlorotic mottle virus*, girassol, Asteraceae, *Bidens*, filogenia.

## ABSTRACT

### Identification and characterization of a potyvirus isolated from *Zinnia elegans*

The present work describes the identification and characterization of a potyvirus isolated from *Zinnia elegans* in the northwest region of the State of São Paulo, Brazil. The *Zinnia* potyvirus was transmitted by mechanical inoculation. Its host range was restricted mainly to members of the Asteraceae family. By SDS-PAGE, the molecular mass of the coat protein (CP) was estimated to be 33 kDa and, in Western-blot, it reacted with antiserum to *Bidens mosaic virus* (BiMV). A fragment of about 820 bp was amplified by RT/PCR, cloned and sequenced. The fragment, which included the CP gene, displayed amino acids similarity in the CP core ranging from 55% (*Tobacco vein mottling*

*virus*, TVMV) to 95% (*Sunflower chlorotic mottle virus*, SuCMoV). For the whole CP, it ranged from 55% (TVMV) to 91% (SuCMoV). In the N-terminal region the *Zinnia* potyvirus has a deletion of four amino acids (positions 9 to 12 downstream of the cleavage site between the protein N1b and the CP) when compared with the SuCMoV sequence. Filogenetic analysis grouped the *Zinnia* potyvirus and SuCMoV in the same branch in 100% of the replicates, showing a very close relationship between these two viruses. The results obtained in the present work demonstrate that the *Zinnia* potyvirus and SuCMoV are strains of the same virus. The name *Sunflower chlorotic mottle virus*, *Zinnia* isolate (SuCMoV-Zi), is suggested for the potyvirus found in *Z. elegans* in Brazil.

## INTRODUÇÃO

As estatísticas sobre o setor de flores e plantas ornamentais no Brasil são muitas vezes desorganizadas e contraditórias. Apesar da inexistência de levantamento sistemático sobre o assunto, estima-se que o comércio de flores movimente, no varejo, entre R\$ 1,36 e 1,53 bilhões anualmente. O Estado de

São Paulo destaca-se entre os estados produtores de flores no panorama nacional, participando com 71,3% da área cultivada e 74,5% do valor da produção no País (Aki, 2001).

*Zinnia elegans* Jacq, popularmente conhecida como capitão, moça-e-velha, canela-de-velho ou zínia, é uma angiosperma da família Asteraceae, originária do México. É uma planta herbácea anual de caule ereto, folhagem áspera, flores pequenas reunidas em capítulos grandes de várias cores e formas (Gemtchújnicov, 1976). É uma ornamental cultivada para a produção de flor de corte devido a sua longa durabilidade, sendo adequada também para a utilização em bordaduras e maciços a pleno sol, tanto para regiões de

\*Parte da Dissertação de Mestrado da primeira autora. Universidade Estadual Paulista (2002). Apoio financeiro da FAPESP e CAPES. Sequência depositada no GenBank com o número de acesso AY344048.

\*\*Bolsista da CAPES

\*\*\*Bolsista do CNPq

temperatura amena como para áreas tropicais. Multiplica-se por sementes que podem ser semeadas durante o ano todo, principalmente na primavera e verão (Lorenzi & Souza, 1999).

Em várias partes do mundo, *Z. elegans* foi descrita como hospedeira natural ou experimental de espécies virais pertencentes a diversos gêneros, citando-se *Alfavirus*, *Nepovirus*, *Potexvirus*, *Carlavirus*, *Potyvirus*, *Ilarvirus*, *Luteovirus*, *Tospovirus*, *Tobamovirus*, *Closterovirus*, *Tombusvirus* e *Nucleorhabdovirus* (Brunt *et al.*, 1996). Em relação ao gênero *Potyvirus*, *Z. elegans* foi infetada, entre outras, pelas espécies *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), *Bidens mosaic virus* (BiMV), *Bidens mottle virus* (BiMoV), *Lettuce mosaic virus* (LMV), *Papaya ringspot virus* “W” (PRSV), *Pea seed-borne mosaic virus* (PSbMV), *Pepper vein mottle virus* (PVMV), *Plum pox virus* (PPV), *Tobacco etch virus* (TEV) e *Turnip mosaic virus* (TuMV) (Brunt *et al.*, 1996).

No Brasil, *Z. elegans* foi descrita como naturalmente infetada pelo BiMV (Kitajima & Lima, 1991), um potyvírus que, nos anos 60, foi responsável por grandes prejuízos para a cultura do girassol (*Helianthus annuus* L.) (Costa & Kitajima, 1966). Recentemente, foram encontradas, em um canteiro experimental da UNESP de São José do Rio Preto, plantas de *Z. elegans* exibindo mosaico, mosaico, deformação foliar (Figura 1A) e flores com alterações no padrão de coloração (Figura 1B). Observações ao microscópio eletrônico de extratos de folhas dessas plantas evidenciaram a presença de partículas com aproximadamente 750 nm de comprimento e com morfologia típica de espécies do gênero *Potyvirus*.

O objetivo principal do presente trabalho foi identificar e caracterizar o potyvírus encontrado em *Z. elegans* na Região Noroeste do Estado de São Paulo.

## MATERIALE MÉTODOS

### Isolado do vírus

O potyvírus utilizado neste estudo foi obtido de planta de *Z. elegans*, com sintoma de mosaico, encontrada no Campus da Universidade Estadual Paulista (UNESP) de São José do Rio Preto. Uma folha de *Z. elegans* foi macerada em tampão fosfato de potássio 0,02 M, pH 7,4 (contendo sulfito de sódio 0,02 M) e manualmente inoculada em folhas de *Chenopodium quinoa* Willd, utilizando-se Celite (Sigma) como abrasivo. Uma única lesão local clorótica foi isolada, macerada no mesmo tampão e inoculada em *Nicotiana occidentalis* Wheeler. Esta planta foi, então, utilizada como fonte de inóculo para os demais experimentos.

### Determinação de gama de hospedeiras

O vírus foi mecanicamente inoculado nas seguintes plantas indicadoras: Asteraceae [*Z. elegans*, *H. annuus*, *Bidens pilosa* L., *Emilia sonchifolia* (L.) DC., *Lactuca sativa* L., *Cichorium intybus* L.], Chenopodiaceae (*C. quinoa*), Cruciferae (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), Cucurbitaceae (*Cucumis sativus* L.), Solanaceae (*Lycopersicon esculentum* Mill., *Petunia hybrida* Vilm., *N. tabacum* L. ‘TNN’, *N. rustica* L., *N. benthamiana* Domin., *N. glutinosa* L., *N. occidentalis*),

Leguminosae (*Phaseolus vulgaris* L., *Arachis hypogea* L.), Amarantaceae (*Gomphrena globosa* L.) e Malvaceae (*Gossypium hirsutum* L.).

### Purificação do vírus, eletroforese (SDS-PAGE) e reação sorológica

Preparações purificadas do potyvírus de *Z. elegans* foram obtidas conforme descrito por Della Vecchia (2001), a partir de 100 g de folhas de *N. occidentalis*, 15 dias após a inoculação. A proteína capsidial (CP) e extratos de folhas sadias e infetadas foram analisadas por SDS-PAGE e “Western-blot” com anti-soro para o BiMV (doação do Dr. E. W. Kitajima).

### Amplificação por RT/PCR, clonagem e seqüenciamento

O RNA viral foi extraído do vírus purificado usando-se o kit “RNeasy Plant Mini” de acordo com instruções do fabricante (Qiagen). O cDNA foi sintetizado usando-se a enzima “Superscript II Reverse Transcriptase” (Gibco-BRL) e o oligonucleotídeo anti-senso 5'-GCTGGTTCGTAACATGTGA-3'. O cDNA foi amplificado por PCR utilizando-se “Taq polimerase” (Gibco-BRL), o oligonucleotídeo anti-senso descrito acima e o oligonucleotídeo senso 5'-GGAACGTATGAGTGCACCA-3'. Esses oligonucleotídeos foram desenhados a partir da seqüência do *Sunflower chlorotic mottle virus* (SuCMMoV) (GenBank AF255677). A reação de PCR consistiu

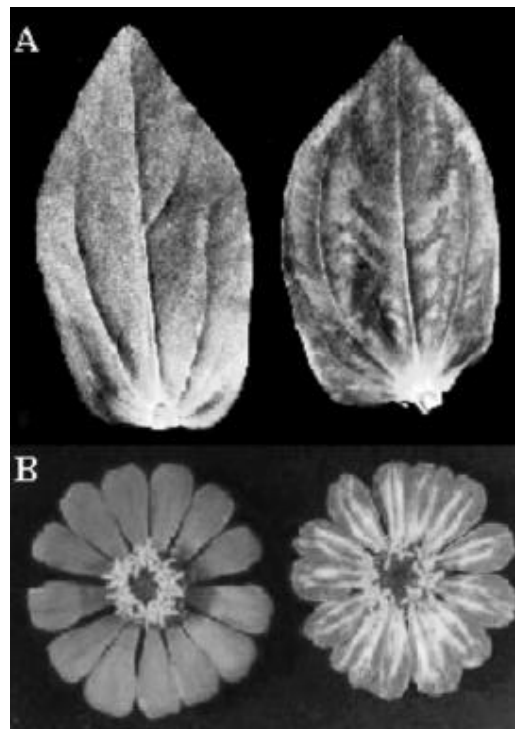


FIG. 1 - (A) Folha de *Zinnia elegans* mostrando sintoma de mosaico (direita) e folha de planta sadia (esquerda). (B) Descoloração apresentada por uma flor de *Z. elegans* infetada (direita) comparada com uma flor de planta sadia (esquerda).

de desnaturação inicial por 10 min e 30 ciclos de 1 min de desnaturação a 94 °C, 1 min de anelamento dos oligonucleotídeos a 47 °C e 2 min de extensão a 72 °C, em um Termociclador MJ Research. O produto de amplificação foi clonado utilizando-se o kit “SureClone Ligation”, de acordo com instruções do fabricante (Amersham Pharmacia). O seqüenciamento de três clones, em ambas as direções, foi feito utilizando-se os oligos universais M13 (senso e anti-senso) e o kit “DNA sequencing Big-Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction (Perkin Elmer) em um seqüenciador ABI Prism 377 (Applied Biosystems, Inc).

#### Análise do produto seqüenciado

A análise comparativa das seqüências foi feita através do algoritmo BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) e o alinhamento das seqüências consenso pelo programa Multalin (<http://prodes.toulouse.inra.fr/multalin/multalin.html>). A seqüência de aminoácidos deduzidos da proteína capsial foi determinada pelo programa Translate (<http://www.expasy.org/tolls/dna.html>). As relações filogenéticas foram determinadas pelo método “neighbor-joining” com auxílio do programa PAUP v.4.0b10 (Swofford, 1997) com análise de “bootstrap” de 500 réplicas. A construção gráfica da árvore foi feita pelo programa Tree View 1.6.1.

## RESULTADOS

### Hospedeiras e sintomatologia

O potyvírus de *Zinnia* induziu lesões locais clóroticas nas folhas inoculadas de *C. quinoa* e *N. tabacum* TNN. As plantas infetadas sistemicamente foram: *Z. elegans* (mosaico), *H. annuus* (mosaico, necrose e eventual morte da planta), *E. sonchifolia* (mosaico) e *N. occidentalis* (mosaico, enrugamento foliar e retardo do crescimento). As plantas não infetadas foram: *A. hypogea*, *B. pilosa*, *L. sativa*, *C. intybus*, *B. oleracea* var. *acephala*, *C. sativus*, *L. esculentum*, *P. hybrida*, *N. rustica*, *N. benthamiana*, *N. glutinosa*, *P. vulgaris*, *G. globosa* e *G. hirsutum*.

### Massa molecular da proteína capsial e relação sorológica com o BiMV

Quando uma alíquota do vírus purificado foi aplicada em gel desnatante de poliácridamida (SDS-PAGE) (Figura 2A, coluna 1) ficou evidenciada a presença da proteína capsial do potyvírus de *Zinnia* com massa molecular estimada de 33 kDa, conforme determinação comparativa com proteínas de massas moleculares conhecidas (coluna M).

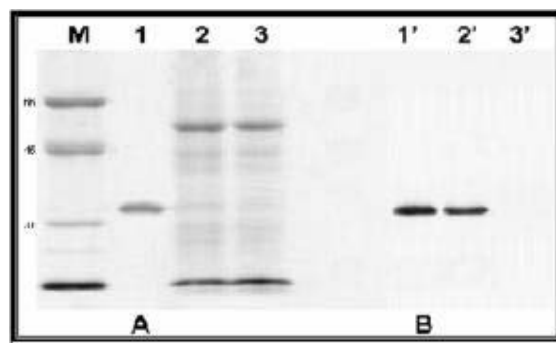
Por “Western-blot” seguido de reação com anti-soro específico para o BiMV, detectou-se reação com a proteína de 33 kDa, tanto na amostra do vírus purificado como na amostra de proteínas totais obtidas de planta infetada pelo potyvírus de *Zinnia* (Figura 2B). Não houve reação com as proteínas extraídas da planta sadia.

### Amplificação por RT/PCR, clonagem e seqüenciamento

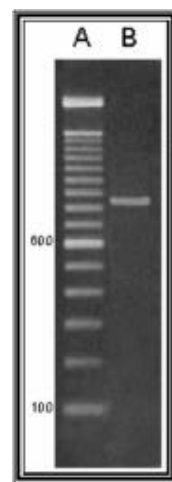
Um fragmento de tamanho esperado de aproxima-

damente 820 pb foi amplificado por RT/PCR (Figura 3). Após clonagem em vetor pUC18, bactérias *Escherichia coli* foram transformadas e cinco colônias contendo plasmídeos recombinantes foram selecionadas. Os plasmídeos extraídos foram duplamente digeridos com as enzimas *EcoRI* e *HindIII*, liberando um fragmento de aproximadamente 820 pb. A identidade viral do fragmento foi positivamente demonstrada por “Southern-blot” e hibridização com sonda específica para o potyvírus de *Zinnia* (Dados não apresentados).

O seqüenciamento do fragmento viral mostrou a existência de 822 pb, correspondendo aos 27 nt finais do gene da proteína NIb (9aa) e aos 795 nt da região codificadora da proteína capsial (264aa), incluindo-se o códon de terminação UGA. A seqüência de nucleotídeos e os aminoácidos deduzidos do gene da proteína capsial são mostrados na Figura 4. A



**FIG. 2** - A: Perfil eletroforético do potyvírus de *Zinnia* purificado (1), proteínas totais de planta infetada (2) e proteínas totais de planta sadia (3) em gel desnatante de poliácridamida (SDS-PAGE). B: “Western-blot” e reação imunológica com anti-soro para o BiMV, de um gel similar ao A. M: Marcador de peso molecular Low Range (BioRad).



**FIG. 3** - Análise do produto de amplificação por PCR em gel nativo de agarose. (A) marcador molecular DNA 100pb (Gibco). (B) fragmento amplificado de aproximadamente 820 pb do potyvirus isolado de *Zinnia elegans*.

similaridade entre a seqüência completa da proteína capsidial e também o “core” (região interna conservada da proteína capsidial) do potyvírus de *Zinnia* e alguns outros potyvírus está demonstrada na Tabela 1.

Os resultados da análise filogenética das seqüências dos potyvírus, usando-se o método de “neighbor-joining”, estão mostrados na Figura 5. A árvore obtida mostra o potyvírus de *Zinnia* e o SuCMoV juntos em um mesmo ramo em 100% das 500 réplicas.

### DISCUSSÃO

Os potyvírus possuem uma gama variável de hospedeiras, sendo que alguns infetam poucas espécies e outros chegam a infetar espécies de até 30 famílias diferentes. A maioria afeta plantas cultivadas causando grandes prejuízos econômicos. O potyvírus de *Zinnia* foi facilmente transmitido por inoculação mecânica e apresentou uma gama restrita de hospedeiras. Induziu, na maioria dos casos, mosaico ou mosqueado, sendo que as espécies mais afetadas pertencem à família Asteraceae. No girassol, onde a infecção mostrou sua forma mais severa, as plantas muito jovens chegaram à morte, indicando que o potyvírus de *Zinnia* pode vir a ser uma ameaça para esta cultura.

Algumas das hospedeiras (*H. annuus*, *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, *Z. elegans*) bem como os sintomas induzidos pelo potyvírus de *Zinnia* nessas plantas, são similares àqueles apresentados pelo BiMV (Kuhn *et al.*, 1980), BiMoV (Christie *et al.*, 1968) e SuCMoV (Dujovny *et al.*, 1998). Não obstante, o potyvírus de *Zinnia* e o SuCMoV não infetaram alface (*L. sativa*), ao contrário do BiMV e BiMoV. Além disso,

o potyvírus de *Zinnia* não infetou o picão (*B. pilosa* L.), que é hospedeira do BiMV, BiMoV e SuCMoV. Entretanto, essas variações na gama de hospedeiras podem ser causadas por diferenças nas cultivares utilizadas. No geral, o potyvírus de *Zinnia* se assemelhou mais ao SuCMoV do que ao BiMV e BiMoV.

A massa molecular da proteína capsidial (~33 kDa) está entre os valores obtidos para a maioria dos potyvírus (de 28 a 47 kDa) (Allison *et al.*, 1985; Hollings & Brunt, 1981) e foi similar aos valores encontrados para o SuCMoV (Dujovny *et al.*, 1998) e para o BiMV (Nagata *et al.*, 1995). Os resultados do “Western-blot” indicaram que o potyvírus de *Zinnia* possui relação sorológica com o BiMV. Levando-se em consideração que BiMV, BiMoV e SuCMoV são sorologicamente relacionados (Nagata *et al.*, 1995; Dujovny *et al.*, 1998), pode-se inferir que o potyvírus de *Zinnia* é também relacionado ao BiMoV e SuCMoV. Entretanto, a utilização da sorologia para determinação do grau de parentesco entre espécies de potyvírus não tem sido utilizada com sucesso, devido a ocorrência de reações cruzadas entre os vírus (Shukla *et al.*, 1991; Ward & Shukla, 1991). Isso tem levado à utilização do critério de similaridade de nucleotídeos para a determinação de parentesco entre os potyvírus (Ward *et al.*, 1992)

TABELA 1 - Porcentagem de identidade entre o potyvírus de *Zinnia* e outros potyvírus

Potyvirus	Nº acesso no GenBank	Homologia	
		"Core"	CP
SuCMoV 95	AF255677	95	91
PVY-T	D12570	85	81
PVY-H	M95491	86	81
PVY-Fr	D00441	84	80
PVY-Nus	U09508	86	81
PVY-Eur	X68223	85	81
PVY-N-Rus	X54636	84	80
PVY(Chil.)	X68221	86	81
PVY (0')	X68226	86	80
PVY (0 <sub>4</sub> )	D12539	85	80
PVY (0 <sub>1</sub> )	X14136	86	80
PVY-NsNr	X68224	86	82
PepMoV	M11598	86	81
LMV	Z78228	71	65
BCMV	L11890	63	60
TuMV	AJ000690	67	64
TEV	M15239	62	62
MDMV	AJ001691	63	60
SCMV	X98166	58	62
TVMV	X04083	55	55
PRSV	NC001785	64	61
ZYMV	AJ429071	64	61
WMV-2	L22907	62	60
PWV	U67149	60	57

SuCMoV, *Sunflower chlorotic mottle virus*; PVY, *Potato virus Y*; PepMoV, *Pepper mottle virus*; LMV, *Lettuce mosaic virus*; BCMV, *Bean common mosaic virus*; TuMV, *Turnip mosaic virus*; TEV, *Tobacco etch virus*; MDMV, *Maize dwarf mosaic virus*; SCMV, *Sugarcane mosaic virus*; TVMV, *Tobacco vein mottling virus*; PRSV, *Papaya ringspot virus*; ZYMV, *Zucchini yellow mosaic virus*; WMV-2, *Watermelon mosaic virus 2*; PWV, *Passionfruit woodiness virus*.

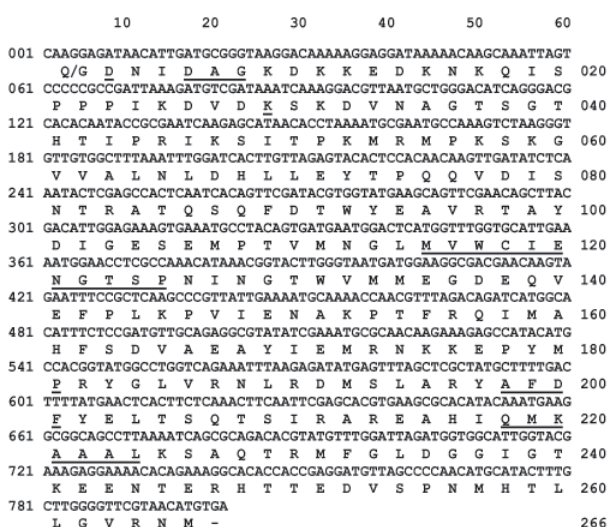
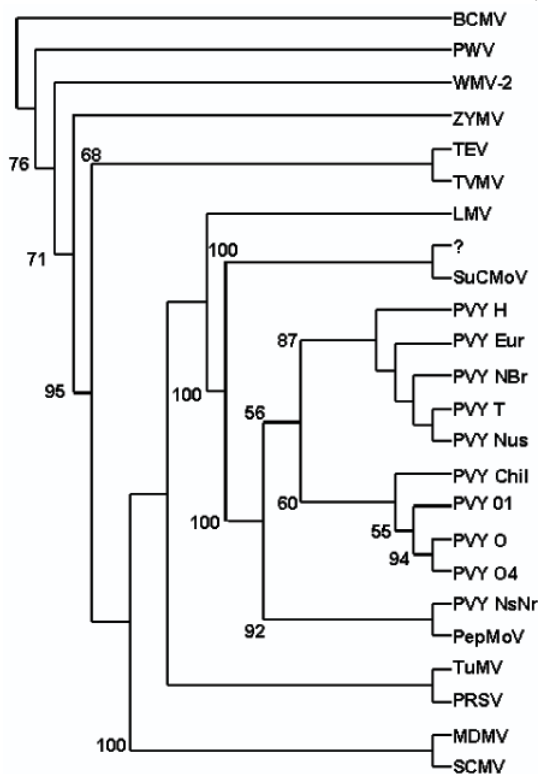


FIG. 4 - Seqüência de nucleotídeos (superior) e aminoácidos deduzidos (inferior) do gene da proteína capsidial do potyvírus de *Zinnia*. Q/G: Sítio de clivagem entre a NIb e a CP. D, início da CP. Seqüências sublinhadas: motivos conservados da CP dos potyvírus. K (posição 32) e P (posição 184): limites do “core” da CP.



**FIG. 5** - Dendrograma obtido a partir da análise filogenética por parcimônia com base na seqüência completa de aminoácidos da CP do potyvírus de *Zinnia* (identificado por sinal de interrogação) e outros potyvírus. As porcentagens de “bootstrap” são indicadas nos ramos da árvore (porcentagens menores que 50% não são mostradas). BCMV, *Bean common mosaic virus*; PWV, *Passionfruit woodiness virus*; WMV-2, *Watermelon mosaic virus 2*; ZYMV, *Zucchini yellow mosaic virus*; TEV, *Tobacco etch virus*; TVMV, *Tobacco vein motting virus*; LMV, *Lettuce mosaic virus*; SuCMoV, *Sunflower chlorotic mottle virus*; PVY, *Potato virus Y*; PepMoV, *Pepper mottle virus*; TuMV, *Turnip mosaic virus*; PRSV, *Papaya ringspot virus*; MDMV, *Maize dwarf mosaic virus*; SCMV, *Sugarcane mosaic virus*

Devido a grande semelhança das características biológicas entre o potyvírus de *Zinnia* e o SuCMoV isolado de girassol na Argentina, foi utilizada a seqüência deste vírus (Dujovny *et al.*, 2000) para o desenho de oligonucleotídeos que pudessem amplificar o gene da proteína capsidial do potyvírus de *Zinnia*. A seqüência do fragmento obtido, quando comparada com seqüências depositadas no GenBank, mostrou similaridade com a de outros potyvírus. Nela foram identificados: (1) o sítio de clivagem entre as proteínas N1b e CP [glutamina (Q)/glicina (G)] que é comum aos vírus pertencentes a família *Potyviridae* (Van der Vlugt *et al.*, 1993); (2) o motivo DAG (4aa a partir do sítio de clivagem) que está relacionado à transmissão por afídeos e presente na região N-terminal da CP dos potyvírus assim transmitidos (Atreya *et al.*, 1990; 1991; 1995; Gal-On *et al.*, 1992) e (3) as seqüências altamente conservadas na CP dos potyvírus: MVWCIENGTS, AFDF e QMKAAAL localizadas 117, 200 e 220 aminoácidos a

partir do sítio de clivagem, respectivamente.

A porcentagem de similaridade das seqüências da CP completa e do “core” tem sido utilizada para identificar espécies de potyvírus e traçar relações filogenéticas entre eles (Ward *et al.*, 1992; Shukla *et al.*, 1994). Comparações entre seqüências completas da CP de muitos membros do gênero *Potyvirus* revelaram que espécies distintas apresentam de 38 a 71% de similaridade e estirpes de um mesmo vírus têm de 90 a 99% (Ward *et al.*, 1992), mas há várias exceções a esta regra (McKern *et al.*, 1991; Tracy *et al.*, 1992; Uyeda, 1992). Alguns trabalhos demonstraram que comparações da seqüência do “core” da CP são mais representativas (Shukla *et al.*, 1991; Ward & Shukla, 1991). Quando a seqüência de aminoácidos do “core” da CP do potyvírus de *Zinnia* foi alinhada com a seqüência correspondente de outros potyvírus, as porcentagens de similaridade variaram de 55% a 95%, sendo que o valor máximo foi observado na comparação com o SuCMoV, enquanto que as porcentagens obtidas na comparação da CP inteira foram de 55% a 91%.

As maiores variações observadas foram localizadas no N-terminal, uma região altamente variável que se encontra exposta na superfície das partículas dos potyvírus. Nela estão presentes os epitópos vírus-específicos e vários pesquisadores atribuem a variação no tamanho da proteína capsidial dos potyvírus principalmente às diferenças no comprimento desta região, já que o “core” interno (cerca de 220 aminoácidos) permanece conservado dentro do gênero (Sherpherd *et al.*, 1974; Allison *et al.*, 1985; Dougherty *et al.*, 1985; Shukla *et al.*, 1986; Shukla *et al.*, 1988). O potyvírus de *Zinnia* apresentou quatro aminoácidos a menos (posições 9 a 12 após o sítio de clivagem entre a proteína N1b e a CP) quando comparado ao SuCMoV, sendo esta a maior diferença observada entre eles.

A análise filogenética, realizada para as seqüências de aminoácidos correspondentes às proteínas capsidiais de alguns potyvírus, agrupou o potyvírus de *Zinnia* e o SuCMoV em um mesmo ramo em 100% das réplicas, confirmando a proximidade entre eles. O agrupamento do potyvírus de *Zinnia* e o SuCMoV apresentou-se fortemente relacionado com os isolados necróticos e comuns do “*Potato virus Y*” (PVY). Os demais potyvírus (Tabela 1) foram agrupados mais distantemente. Devido a ausência de dados da seqüência de nucleotídeos do BiMV e BiMoV, não foi possível determinar o grau de parentesco entre estas espécies e o potyvírus de *Zinnia*.

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstraram que o potyvírus de *Zinnia* e o SuCMoV possuem uma grande similaridade no gene da proteína capsidial que, somadas às semelhanças biológicas em relação a gama de hospedeiras e sintomatologia, permitem considerá-los como estirpes do mesmo vírus. Assim, sugere-se o nome *Sunflower chlorotic mottle virus*, isolado *Zinnia* (SuCMoV-Zi), ao potyvírus relatado pela primeira vez em *Z. elegans* no Brasil.

#### AGRADECIMENTO

Ao Dr. Elliot W. Kitajima pela doação do anti-soro para o BiMV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKI, A. Qual o tamanho do mercado de flores? 2001. Disponível em: <<http://www.mercadodasflores.com.br>>. Acesso em: 20 de abril de 2002.
- ALLISON, R.F., SORENSON, J.C., KELLY, M.E., ARMSTRONG, F.B. & DOUGHERTY, W.G. Sequence determination of the capsid protein gene and flanking regions of *Tobacco etch virus*: evidence for synthesis and processing of a polyprotein in potyvirus gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.* 82:3969-3972. 1985.
- ATREYA, C.D., RACCAH, B. & PIRONE, T.P. A point mutation in the coat protein abolishes aphid transmissibility of a potyvirus. *Virology* 178:161-165. 1990.
- ATREYA, P.L., ATREYA, C.D. & PIRONE, T.P. Amino acid substitutions in the coat protein result in loss of insect transmissibility of a plant virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.* 88:7887-7891. 1991.
- ATREYA, P.L., LOPEZ-MOYA, J.J., CHU, M., ATREYA, C.D. & PIRONE, T.P. Mutational analysis of the coat protein N-terminal amino acids involved in potyviral transmission by aphids. *Journal of General Virology* 76:265-270. 1995.
- BRUNT, A.A., CRABTREE, K., DALLWITZ, M.J., GIBBS, A.J., WATSON, L. & ZURCHER, E.J. (Eds.) (1996 onwards) *Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE database*. <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide>
- CHRISTIE, S.R., EDWARDSON, J.R. & ZETTLER, F.W. Characterization and electron microscopy of a virus isolated from *Bidens* and *Lepidium*. *Plant Disease Reporter* 52:763-768. 1968.
- COSTA, A.S. & KITAJIMA, W.E. Vírus do mosaico do picão ataca o girassol. O Estado de São Paulo, São Paulo. Suplemento Agrícola. 1966.
- DELLA VECCHIA, M.G.S. Comparação de estirpes fracas e severas do *Papaya ringspot virus* com base na capa protéica. (Dissertação de Mestrado). Piracicaba. ESALQ/USP. 2001.
- DOUGHERTY, W.G., ALLISON, R.F., PARKS, T.D., JOHNSTON, R.E., FEILD, M.J. & ARMSTRONG, F.B. Nucleotide sequence of the 3' terminus of pepper mottle virus genomic RNA: evidence for an alternative mode of potyvirus capsid protein gene organization. *Virology* 146:282-291. 1985.
- DUJOVNY, G., SASAYA, T., KOGANESAWA, H., USUGI, T., SHOHARA, K. & LENARDON, S.L. Molecular characterization of a new potyvirus infecting sunflower. *Archives of Virology* 145:2249-2258. 2000.
- DUJOVNY, G., USUGI, T., SHOHARA, K. & LENARDON, S.L. Characterization of a *Potyvirus* infecting sunflower in Argentina. *Plant Disease* 82:470-474. 1998.
- GAL-ON, A., ANTIGNUS, Y., ROSNER, A. & RACCAH, B. A *Zucchini yellow mosaic virus* coat protein gene mutation restores aphid transmissibility but has no effect on multiplication. *Journal of General Virology* 73:2183-2187. 1992.
- GEMTCHÚJNICOV, I. D. Manual de Taxonomia Vegetal: Plantas de interesse econômico. São Paulo. Editora Agronômica Ceres. 1976.
- HOLLINGS, M. & BRUNT, A.A. Potyviruses. In: Durst, E. (Ed.) *Handbook of Plant Virus Infections: Comparative diagnosis*. Amsterdam. Elsevier. 1981. pp.731-799.
- KITAJIMA, E.W. & LIMA, I.M. Infecção natural de zínia pelo vírus do mosaico do picão. *Fitopatologia Brasileira* 16:26. 1991. (Resumo)
- KUHN, G.B., LIN, M.T. & COSTA, C.L. Transmissão, círculo de hospedeiras e sintomatologia do vírus do mosaico do picão. *Fitopatologia Brasileira* 5:39-50. 1980.
- LORENZI, H. & SOUZA, H.M. Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 2ed. São Paulo. Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 1999.
- McKERN, N.M., EDSKES, H.K., WARD, C.W., STRIKE, P.M., BARNETT, O.W. & SHUKLA, D.D. Coat protein of potyviruses: Amino acid sequence of peanut stripe virus. *Archives of Virology* 119:25-35. 1991.
- NAGATA, T., INOUÉ, A.K., DUSI, A.N. & KITAJIMA, E.W. Bidens mosaic potyvirus newly isolated from pea, its characteristics and serological relationship with other potyviruses. *Fitopatologia Brasileira* 20:473-478. 1995.
- SHERPHERD, J.F., SECOR, G.A. & PURCIFULL, D.E. Immunochemical cross reactivity between the dissociated capsid proteins of PVY group of plant viruses. *Virology* 58:464-475. 1974.
- SHUKLA, D.D., FRENKEL, M.J. & WARD, C.W. Structure and function of the potyvirus genome with special reference to the coat protein coding region. *Canadian Journal of Plant Pathology* 13:178-191. 1991.
- SHUKLA, D.D., INGLIS, A.S., McKERN, N.M. & GOUGH, K.H. Coat protein of potyviruses. 2. Amino acid sequence of the coat protein of potato virus Y. *Virology* 152:118-125. 1986.
- SHUKLA, D.D., STRIKE, P.M., TRACY, S.L., GOUGH, K.H. & WARD, C.W. The N and C termini of the coat proteins of potyviruses are surface-located and the N terminus contains the major virus-specific epitopes. *Journal of General Virology* 69:1497-1508. 1988.
- SHUKLA, D.D., WARD, C.W. & BRUNT, A.A. *The Potyviridae*. Wallingford. CAB International. 1994.
- SWOFFORD, D. PAUP: Phylogenetic analysis using parcimony. Version 4.0b10. Smithsonian Institution, Washington, D.C., 1997.
- TRACY, S.L., FRENKEL, M.J., GOUGH, K.H., HANNA, P.J. & SHUKLA, D.D. Bean yellow mosaic, clover yellow vein, and pea mosaic are distinct potyviruses: evidence from coat protein gene sequences and molecular hybridization involving the 3' non-coding regions. *Archives of Virology* 122:249-261. 1992.
- UYEDA, I. Bean yellow mosaic virus subgroup; search for the group specific sequences in the 3' terminal region of the genome. In: Barnett, O.W. (Ed.), *Potyvirus Taxonomy*. *Archives of Virology* 5 (Supplement). New York. Springer. 1992. pp.377-385.
- VAN DER VLUGT, R.A.A., LEUNISSEN, J. & GOLDBACH, R. Taxonomic relationships between distinct potato virus Y isolates based on detailed comparisons of the viral coat proteins and 3' nontranslated regions. *Archives of Virology* 131:361-375. 1993.
- WARD, C.W., McKERN, N.M., FRENKEL, M.J. & SHUKLA, D.D. Sequence data as the major criterion for potyvirus classification. In: Barnett, O.W. (Ed) *Potyvirus Taxonomy*. *Archives of Virology* 5 (Supplement). New York. Springer. 1992. pp.283-297.
- WARD, C.W. & SHUKLA, D.D. Taxonomy of potyviruses: current problems and some solutions. *Intervirology* 32:269-296. 1991.