

JULIANA BORBA VALENTE

**VARIABILIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES VIRAIS ASSOCIADAS A
CULTURA DO TRIGO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE WHEAT STRIPE
MOSAIC VIRUS, NOVA ESPÉCIE ASSOCIADA AO MOSAICO COMUM DO
TRIGO NO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Fabio Nascimento da Silva

**LAGES
2018**

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com
auxílio do programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

Valente Borba, Juliana

Variabilidade genética de populações virais associadas a cultura do trigo e caracterização molecular de Wheat stripe mosaic virus, nova espécie associada ao mosaico comum do trigo no Brasil / Juliana Valente Borba. - Lages , 2018.
106 p.

Orientador: Fabio Nascimento da Silva

Co-orientador: Ricardo Trezzi Casa
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2018.

1. Triticum aestivum. 2. Vírus. 3. NGS. 4. Diagnóstico. I. Nascimento da Silva, Fabio. II. Trezzi Casa, Ricardo. , .III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. IV. Título.

JULIANA BORBA VALENTE

VARIABILIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES VIRAIS ASSOCIADAS A
CULTURA DO TRIGO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE WHEAT
STRIPE MOSAIC VIRUS, NOVA ESPÉCIE ASSOCIADA AO MOSAICO
COMUM DO TRIGO NO BRASIL

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, da Universidade do Estado de Santa Catarina.

Banca Examinadora:

Orientador: Fabio Nascimento da Silva

(Dr. Fabio Nascimento da Silva)

UDESC – Lages - SC

Membro: Douglas Lat

(Dr. Douglas Lat)

Embrapa Trigo – RS

Membro: Amauri Bogo

(Ph.D. Amauri Bogo)

UDESC – Lages – SC

Lages, SC, 17 de julho de 2018

AGRADECIMENTOS

À Deus por guiar meus passos e abençoar a minha vida.

Aos meus pais, pela presença, educação, apoio, incentivo e amor. As minha irmãs pela amizade, companheirismo, cumplicidade, amor e apoio.

À minha nona e ao meu nono *In memoriam* por todo apoio, carinho e amor.

Aos meus tios, em especial minha Tia Mari e meu Tio Claudio por sempre me incentivarem na minha carreira e por fazerem parte da minha vida.

Ao Maiquiel meu namorado pelo amor, presença constante, apoio, cumplicidade, paciência.

Ao meu orientador, Fábio Nascimento da Silva, por me oferecer a oportunidade de trabalhar na área de Virologia Vegetal, por todo o conhecimento repassado e pela confiança depositada.

Ao professor Ricardo Trezzi Casa, pela coorientação, amizade e pelos ensinamentos obtidos durante a graduação e pós-graduação.

Ao professor Altamir Frederico Guidolin pela ajuda com recursos e materiais que possibilitaram a realização dessa pesquisa.

À Universidade do Estado de Santa Catarina – Centro de Ciências Agroveterinárias pela oportunidade de realizar o curso, aos seus professores e funcionários.

À CAPES pela concessão da bolsa, viabilizando os estudos.

À Biotrigo Genética pelo auxílio financeiro para a realização do sequenciamento de nova geração.

Ao pesquisador Douglas Lau e a Embrapa Trigo de Passo Fundo/RS pelo conhecimento e recursos para o desenvolvimento dessa pesquisa.

Ao pesquisador Thor Fajardo e a Embrapa Uva e Vinho de Bento Gonçalves/RS pela infraestrutura e ajuda para a extração de RNA de fita dupla e dicas para o desenvolvimento dessa pesquisa.

Ao pesquisador Antônio Nhani e a Embrapa Informática Agropecuária de Campinas/SP, pelo estágio no Laboratório de Bioinformática e o auxílio com as análises de bioinformática.

À bolsista Monica Farias, pela ajuda prestada durante a realização desse trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Fitopatologia, pelas trocas de informações, experimentos planejados em conjunto, pelos chimarrões, cafés e churrascos.

À Joseane pelo companheirismo, compreensão e amizade durante este período.

Aos meus amigos de pós-graduação Diana, Sabrina, Eduardo Gorayeb, Fernando e Lucas pelos momentos compartilhados, amizade e parceria.

À todos que, de alguma forma me apoiaram e fizeram parte desta conquista.

Muito Obrigada!

“Apesar dos nossos defeitos, precisamos enxergar que somos pérolas únicas no teatro da vida e entender que não existem pessoas de sucesso ou pessoas fracassadas. O que existe são pessoas que lutam pelos seus sonhos ou desistem deles.”

Augusto Cury

RESUMO

VALENTE, Juliana Borba. **Variabilidade genética de populações virais associadas a cultura do trigo e caracterização molecular de Wheat stripe mosaic virus, nova espécie associada ao mosaico comum do trigo no Brasil.** 2018, 106 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal – Área de concentração: Proteção de Plantas e agroecologia) Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. Lages, 2018.

O trigo (*Triticum aestivum*) é o segundo cereal em volume de produção de grãos, ficando atrás apenas do milho. Dentre as doenças de importância para a cultura, estão as viroses. A virose do nanismo amarelo da cevada (VNAC) causada pelo *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) e/ou *Cereal yellow dwarf virus* (CYDV) estão entre as viroses mais importantes dos cereais de inverno, juntamente com o mosaico comum do trigo atribuído ao *Soil-borne wheat mosaic virus* (SBWMV) e *Wheat spindle streak mosaic virus* (WSSMV). A identificação dos vírus que causam o mosaico comum no Brasil ainda hoje é baseada na observação de partículas virais e no uso de antissoros ou oligonucleotídeos produzidos em outros países, os quais produzem reações insatisfatórias em testes de diagnóstico. Dentro desse contexto surgem duas possibilidades: (i) as espécies virais encontradas no Brasil apresentam alta variabilidade genética; e (ii) a presença de uma espécie viral associada ao mosaico comum no Brasil ainda não caracterizada. O presente trabalho teve como objetivos analisar a variabilidade genética de populações virais das espécies *Barley stripe mosaic virus* (BSMV) presente na Argentina e considerado praga quarentenária A1 no Brasil, BYDV, *Brome mosaic virus* (BMV), CYDV, SBWMV e *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) associadas a cultura do trigo no Brasil e caracterizar molecularmente a espécie viral associada as plantas de trigo apresentando sintomas de mosaico no Brasil. Na análise de variabilidade genética das populações virais foram determinados os descritores de variabilidade, as taxas de substituições sinônimas e não sinônimas e os sítios sob seleção para todas as regiões codificadoras de cada vírus. Para a caracterização da espécie viral associada a plantas de trigo com sintomas de mosaico no Brasil, foi utilizado o sequenciamento de nova geração (*Next generation sequencing* – NGS) a partir de amostras de RNA de fita dupla obtido de diferentes cultivares. Os descritores de variabilidade genética demonstraram que as populações de BYDV e SBWMV apresentam maior variabilidade genética em relação aos outros vírus analisados. Em adição, as regiões mais variáveis dentro do genoma desses dois vírus foram a P6 do BYDV e a proteína de movimento do SBWMV. Poucos sítios apresentaram evidências de seleção positiva nas regiões genômicas dos vírus analisados. Os resultados apresentados permitem avançar no entendimento da variabilidade genética de populações de vírus que infectam o trigo no Brasil ou em países vizinhos, auxiliando no desenvolvimento de ferramentas para o diagnóstico. Na caracterização molecular do vírus associado a plantas sintomáticas no Brasil através do NGS, determinou-se a sequência de nucleotídeos e aminoácidos, a organização genômica e o relacionamento filogenético de uma nova espécie membro da família *Benyviridae* denominada *Wheat stripe mosaic virus* (WhSMV).

Palavras-chave: *Triticum aestivum*. Vírus. NGS. Diagnóstico.

ABSTRACT

VALENTE, Juliana Borba. **Genetic variability of viral population associated with wheat crop and molecular characterization of Wheat stripe mosaic virus, a new species associated with the soil-borne wheat mosaic disease in Brazil.** 2018, 106 p. Disserttation (Master in Plant production – Research area: Plant protection and Agroecology) Santa Catarina State University. Post graduate program in Plant production. Lages, 2018.

Wheat (*Triticum aestivum*) is the second cereal in grain production volume, the first ceral is the corn. Among the important diseases in wheat are the viruses. The barley yellow dwarf disease caused by *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) and / or *Cereal yellow dwarf virus* (CYDV) are among the most important viruses of winter cereals, along with the soil-borne wheat mosaic disease (SBWMD) associated with *Soil-borne wheat mosaic virus* (SBWMV) and *Wheat spindle streak mosaic virus* (WSSMV). The identification of viruses that cause the SBWMD in Brazil is still based on observation of the viral particles and the use of antisera or primers designed from viral sequences from other countries, resulting in unsatisfactory reactions in the diagnostic tests. Within this context, two possibilities arise: (i) the viral species found in Brazil present high genetic variability; and (ii) the presence of a viral species associated with the SBWMD in Brazil that has not yet been characterized. The present study aimed to analyze the genetic variability of *Barley stripe mosaic virus* (BSMV) present in Argentina and considered a quarantine pest in Brazil, BYDV, *Brome mosaic virus* (BMV), CYDV, SBWMV, and *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) associated to wheat in Brazil; and to characterize molecularly the viral species associated with wheat plants presenting mosaic symptoms in Brazil. In the genetic variability analysis of the viral populations, the variability descriptors, the rates of synonymous and non-synonymous substitutions and the sites under selection for all the coding regions of each virus were determined. For the characterization of the viral species associated with wheat plants presenting mosaic symptoms in Brazil, Next Generation Sequencing (NGS) using double stranded RNA samples from different cultivars was used. The genetic variability descriptors showed that the populations of BYDV and SBWMV presented greater genetic variability in relation to the other viruses analyzed. In addition, the most variable regions within the genome of these two viruses were P6 from the BYDV and movement protein from the SBWMV. Few sites showed evidence of positive selection in the genomic regions of the analyzed viruses. The results allow us to advance the understanding of the genetic variability of viruses populations that infect wheat in Brazil or neighboring countries like Argentina, helping in the development of tools for diagnosis. In the molecular characterization of the virus associated with symptomatic plants in Brazil using NGS, we determined the nucleotide and amino acid sequence, the genomic organization and the phylogenetic relationship of a new species member of the *Benyviridae* family called Wheat stripe mosaic virus (WhSMV).

Keywords: *Triticum aestivum*. Virus. NGS. Diagnosis.