

RESUMO

PEREIRA, Fernando S. **Caracterização molecular do agente causal da espiga branca e estudo da interação de cultivares de trigo com Wheat stripe mosaic virus**

2023. 98 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2023.

O trigo (*Triticum aestivum* L.) pertence à família Poaceae, a cultura apresenta grande importância econômica, sendo o segundo cereal mais cultivado no mundo. Alguns fatores podem comprometer a produção, incluindo as doenças causadas por vírus. O avanço do conhecimento envolvendo a genômica tem contribuído em várias áreas da ciência, inclusive na área da fitopatologia. As técnicas moleculares auxiliam no conhecimento, diagnóstico e manejo das doenças de plantas, possibilitando o entendimento de medidas mais efetivas para controle das doenças. O presente trabalho teve como objetivo realizar (i) a caracterização molecular do vírus associado à doença conhecida como espiga branca do trigo, (ii) a avaliação comparativa da resposta de genótipos de trigo contrastantes após infecção pelo vírus proposto wheat stripe mosaic virus (WhSMV) no campo e (iii) o preparo de bibliotecas para o estudo da expressão gênica em plantas de trigo infectadas por WhSMV. O primeiro estudo constitui a caracterização molecular de um vírus associado a espiga branca. Inicialmente, amostras apresentando sintomas da doença foram coletadas no município de Ponta Grossa/PR. Posteriormente extraiu-se o ácido ribonucleico (RNA) de fita dupla (dsRNA) de folhas e colmo das plantas, o qual foi submetido a síntese da biblioteca de cDNA e sequenciamento de nova geração. Determinou-se a sequência completa de nucleotídeos (nt) do vírus de wheat white spike virus (WWSV). O WWSV possui um genoma de 18.129 nucleotídeos, com RNA de fita simples de sentido negativo, composto por 5 segmentos de RNA (RNA-1, de polaridade negativa; RNA-2, ambissenso; RNA-3, ambissenso; RNA-4, ambissenso; e RNA-5 de polaridade negativa), apresentando 8 regiões codificadoras. A organização do genoma é semelhante aos membros do gênero *Tenuivirus*, família *Phenuiviridae*. O segundo estudo foi fazer a avaliação de

altura de plantas, severidade de doença e quantificação de wheat stripe mosaic virus (WhSMV) em 30 cultivares de trigo em área com histórico da doença, verificando a expressão de sintomas e rendimento de grãos. Com base em um trabalho de caracterização molecular do WhSMV desenvolvido anteriormente por um grupo de pesquisadores da EMBRAPA, UDESC e Biotrigo Genética, foi possível então, desenhar iniciadores e desenvolver a técnica RT-qPCR relacionando notas visuais de sintomas (índice de doença) com a carga viral. As avaliações indicaram que o aumento da severidade reduz a altura da planta. Maiores índices de doença são observados em cultivares consideradas suscetíveis, ocorrendo variações entre escala de notas visuais e carga viral na planta. O terceiro estudo busca realizar a construção de bibliotecas para avaliar a resistência genética de duas cultivares de trigo ao WhSMV, utilizando a técnica de sequenciamento de alto desempenho (RNA-seq). Para caracterizar a expressão gênica foram utilizados duas cultivares de trigo contrastantes, Embrapa 16 e BRS Guamirim, sendo ambas avaliadas na presença e ausência de sintomas causados pela infecção natural por WhSMV no campo. Baseados nos parâmetros qualitativos, os dados do sequenciamento apresentaram qualidade na montagem dentro dos parâmetros. Do total de genes sequenciados, foram obtidos 11497 transcritos diferencialmente expressos (DE). As maiores diferenças na expressão gênica foram em plantas sintomáticas, na correlação entre a cultivar Embrapa 16 com sintomas do vírus e BRS Guamirim com sintomas foram obtidos 5172 genes diferencialmente expressos.

Palavras-chave: *Triticum aestivum*; *Tenuivirus*; Estudo da Resistência; WhSMV.

ABSTRACT

PEREIRA, Fernando S. **Molecular characterization of the causal agent of white spike and study of the interaction of wheat cultivars with Wheat stripe mosaic virus**

2023. 98 p. Thesis (Doctorate in Plant Production) State University of Santa Catarina. Postgraduate Program in Plant Production, Lages, 2023.

Wheat (*Triticum aestivum* L.) belongs to the Poaceae family, the crop has great economic importance, being the second most cultivated cereal in the world. Some factors can compromise production, including diseases caused by viruses. The advancement of knowledge involving genomics has contributed to several areas of science, including the area of phytopathology. Molecular techniques help in the knowledge, diagnosis and management of plant diseases, enabling the understanding of more effective measures to control diseases. The present work aimed to carry out (i) the molecular characterization of the virus associated with the disease known as white spike of wheat, (ii) the comparative evaluation of the response of contrasting wheat genotypes after infection by the proposed virus wheat stripe mosaic virus (WhSMV) in the field and (iii) the preparation of libraries for the study of gene expression in WhSMV-infected wheat plants. The first study constitutes the molecular characterization of a virus associated with white ear. Initially, samples showing symptoms of the disease were collected in the city of Ponta Grossa/PR. Subsequently, double-stranded ribonucleic acid (RNA) (dsRNA) was extracted from leaves and stems of plants, which was subjected to cDNA library synthesis and next-generation sequencing. The complete nucleotide (nt) sequence of wheat white spike virus (WWSV) was determined. WWSV has a genome of 18,129 nucleotides, with negative-sense single-stranded RNA, composed of 5 RNA segments (RNA-1, negative polarity; RNA-2, ambisense; RNA-3, ambisense; RNA-4, ambisense; and RNA-5 of negative polarity), presenting 8 coding regions. Genome organization is similar to members of the genus *Tenuivirus*, family *Phenuiviridae*. The second study was to evaluate plant height, disease severity and quantification of wheat stripe mosaic virus (WhSMV) in 30 wheat cultivars in an area with a history of the disease, verifying the expression of symptoms and grain yield. Based on a

molecular characterization work of the WhSMV previously developed by a group of researchers from EMBRAPA, UDESC and Biotrigo Genética, it was then possible to design primers and develop the RT-qPCR technique relating visual notes of symptoms (disease index) with viral load. The evaluations indicated that the increase in severity reduces plant height. Higher rates of disease are observed in cultivars considered susceptible, with variations occurring between the scale of visual notes and viral load in the plant. The third study seeks to build libraries to evaluate the genetic resistance of two wheat cultivars to WhSMV, using the high-performance sequencing technique (RNA-seq). To characterize gene expression, two contrasting wheat cultivars, Embrapa 16 and BRS Guamirim, were used, both of which were evaluated in the presence and absence of symptoms caused by natural infection by WhSMV in the field. Based on the qualitative parameters, the sequencing data presented assembly quality within the parameters. Of the total sequenced genes, 11497 differentially expressed (DE) transcripts were obtained. The greatest differences in gene expression were found in symptomatic plants, in the correlation between cultivar Embrapa 16 with virus symptoms and BRS Guamirim with symptoms, 5172 differentially expressed genes were obtained.

Keywords: *Triticum aestivum*; *Tenuivirus*; Resistance Study; WhSMV.