



AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE GENES MARCADORES DE UPR (UNFOLDED PROTEIN RESPONSE) DURANTE A EXPRESSÃO DO GENE P61 DOS KITAVIRUS

Giovanne Lopes **Martinelli**¹; Gabriella Dias Arena²; Pedro Luis Ramos-Gonzalez³; Juliana **Freitas-Astúa**⁴

Nº 22815

RESUMO – A leprose dos citros, causada principalmente pelo citrus leprosis virus C (CiLV-C; gênero Cilevirus, família Kitaviridae) é uma das principais doenças virais que afetam a citricultura brasileira. CiLV-C codifica uma glicoproteína tentativa denominada P61. A expressão heteróloga desta proteína mediante agroinfiltração em plantas de *Nicotiana benthamiana* produz lesões semelhantes à reação de hipersensibilidade (HR-like) que aparece nas plantas infectadas com o vírus. Do ponto de vista molecular, a expressão da P61 induz o acúmulo de moléculas reativas de oxigênio (ROS) e ativa genes relacionados à via do ácido salicílico (AS). Para aprofundar no papel do AS na resposta à presença da P61, neste estudo avaliamos a sua expressão em plantas *N. benthamiana* transgênicas que expressam constitutivamente o gene bacteriano NahG, que codifica a enzima salicilato hidroxilase. As plantas transgênicas e selvagens foram infiltradas com *Agrobacterium tumefaciens* linhagem GV3101 carregando as construções PTA 7001 P61 CRD/DEX e PTA 7001 E.V/DEX, que apresentam um promotor induzível por dexametasona, sendo a última como controle negativo. A avaliação da intensidade das lesões produzidas após as agroinfiltrações sugere o envolvimento do AS no desenvolvimento do fenótipo provocado pela expressão heteróloga da proteína P61. Como parte do estudo, os genes p61 dos cilevirus CiLV-C estirpe SJP, passion fruit green spot virus, solanum violifolium ringspot virus e o higrevirus hibiscus green spot virus 2 foram amplificados, clonados em vetores apropriados, sequenciados, ligados em vetores binários para sua futura avaliação funcional mediante agroinfiltração.

Palavras-chaves: Ácido salicílico, *Nicotiana benthamiana*, citros, kitavírus

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas, UAM, São Paulo-SP; giovanne_martinelli7@hotmail.com

2 Colaboradora: Instituto Biológico de São Paulo, São Paulo-SP

3 Coordenador: Instituto Biológico de São Paulo, São Paulo-SP

4 Orientadora: Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas-BA; Instituto Biológico de São Paulo; juliana.astua@embrapa.br



ABSTRACT – *Citrus leprosis*, mainly caused by citrus leprosis virus C (CiLV-C; genus *Cilevirus*, family *Kitaviridae*), is one of the major viral diseases affecting citrus production in Brazil. CiLV-C encodes a tentative glycoprotein called P61. Heterologous expression of this protein by agroinfiltration in *Nicotiana benthamiana* plants results in lesions similar to the hypersensitivity reaction (HR-like) that appears in plants infected with the virus. Molecularly, the expression of P61 produces the accumulation of reactive oxygen species (ROS) and the activation of genes related to the salicylic acid (SA) pathway. To get insight into the role of SA in the response to the presence of P61, in this study we aimed to evaluate its expression in transgenic *N. benthamiana* plants constitutively expressing the bacterial gene *NahG*, which encodes the enzyme salicylate hydroxylase. Transgenic and wild plants were infiltrated with *Agrobacterium tumefaciens* lineage GV3101 that carry the constructions PTA 7001 P61 CRD/DEX and PTA 7001 E.V/DEX, presenting a promoter inducible by dexamethasone, and the negative control, respectively. The evaluation of the lesions produced after agroinfiltration suggest the involvement of SA in the development of the phenotype caused by the heterologous expression of the P61 protein. As part of the study, the p61 genes from CiLV-C strain SJP, passion fruit green spot virus, and solanum violifolium ringspot virus, and hibiscus green spot virus 2 were amplified, cloned in appropriate vectors, sequenced, and ligated into a binary vector.

Keywords: Salicylic acid, *Nicotiana benthamiana*, citrus, kitavirus