

PAPEL DA PROTEÍNA DE PLANTA DICER-LIKE 4 NAS INFEÇÕES MISTAS DOS VÍRUS OMMV E OLV-1

Role of the Dicer-like 4 plant protein in OMMV and OLV-1 mixed infections

Carla Varanda

Instituto Politécnico de Santarém - Escola Superior Agrária, Portugal
CIEQV, Centro de Investigação em Qualidade de Vida, Portugal
carla.varanda@esa.ipsantarem.pt | ORCID: 0000-0002-6915-1793

Beatriz Castanho

Universidade de Évora, Portugal
l49717@alunos.uevora.pt | ORCID: 0009-0007-3530-4927

André Albuquerque

Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE - Global Change and Sustainability Institute, Institute for Advanced Studies and Research, Universidade de Évora, Portugal
andrealb@uevora.pt | ORCID: 0000-0002-1189-9803

Joana Ribeiro

Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE - Global Change and Sustainability Institute, Institute for Advanced Studies and Research, Universidade de Évora, Portugal
joanaar@uevora.pt | ORCID: 0000-0002-1895-2523

Mariana Patanita

Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE - Global Change and Sustainability Institute, Institute for Advanced Studies and Research, Universidade de Évora, Portugal
mpatanita@uevora.pt | ORCID: 0000-0002-0094-6782

Nicolás Garrido

Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE - Global Change and Sustainability Institute, Institute for Advanced Studies and Research, Universidade de Évora, Portugal
nicolas.osa@uevora.pt | ORCID: 0000-0002-0401-478X

Maria Doroteia Campos

Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE - Global Change and Sustainability Institute, Institute for Advanced Studies and Research, Universidade de Évora, Portugal

mdcc@uevora.pt | ORCID: 0000-0002-9262-2880

Maria do Rosário Félix

Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE - Global Change and Sustainability Institute, Institute for Advanced Studies and Research, Universidade de Évora, Portugal

mrff@uevora.pt

Patrick Materatski

Mediterranean Institute for Agriculture, Environment and Development & CHANGE - Global Change and Sustainability Institute, Institute for Advanced Studies and Research, Universidade de Évora, Portugal

pmateratski@uevora.pt | ORCID: 0000-0001-5769-1963

RESUMO

Os vírus *Olive mild mosaic virus* (OMMV) e *Olive latent virus 1* (OLV-1) estão largamente disseminados nos olivais portugueses, aparecendo frequentemente em infeções mistas. Estudos anteriores realizados em plantas de *Nicotiana benthamiana*, revelaram que quando os vírus estão presentes em infeções mistas, observa-se uma intensificação dos sintomas, sugerindo um efeito sinérgico. Neste trabalho, pretendeu-se testar se o mecanismo de defesa das plantas baseado no silenciamento genético de RNA está envolvido na exacerbação dos sintomas verificada nas infeções mistas de OLV-1 e OMMV. Para tal, avaliou-se a expressão do gene que codifica a proteína de planta Dicer-like 4 (DCL4), componente primário da defesa antiviral contra vírus de RNA. Plantas de *N. benthamiana* foram inoculadas por transmissão mecânica, com OMMV, com OLV-1 e com uma mistura de OMMV + OLV-1. A expressão dos genes da cápside de cada um dos vírus foi determinada por qPCR e usada para estimar a presença dos mesmos, assim como do gene que codifica a DCL4, aos 5 e 12 dias após inoculação. A análise dos resultados permitiu observar que a exacerbação dos sintomas verificada em infeções mistas, não é traduzida numa maior acumulação viral. De facto, ambos os vírus apresentaram uma menor acumulação quando na presença do outro vírus. Quanto à DCL4, verificou-se que esta se expressa mais na planta na presença dos dois vírus em simultâneo, especialmente aos 5 dias após a inoculação. Na presença apenas do vírus OLV-1, a DCL4 expressa-se menos quando há mais expressão do vírus (aos 12 dias). No caso do OMMV, a DCL4 expressa-se mais quando há maior expressão do vírus. Este trabalho parece assim sugerir que a DCL4 pode estar associada ao silenciamento do vírus OMMV ao passo que o OLV-1 parece conseguir 'iludir' o mecanismo de defesa da planta, mas tal não acontece quando na presença de OMMV. Este estudo permite incrementar o conhecimento das interações vírus-planta, essencial para o desenvolvimento de plantas resistentes a vírus, o que atualmente se reveste de extrema importância no âmbito de uma agricultura sustentável.

Palavras-chave: Expressão de genes, Infecções mistas, silenciamento de genes, sinergia, vírus de plantas.

ABSTRACT

Olive mild mosaic virus (OMMV) and Olive latent virus 1 (OLV-1) are two widely disseminated viruses in Portuguese olive groves, frequently appearing in mixed infections. Previous studies carried out on *Nicotiana benthamiana* plants revealed that when these two viruses are present in mixed infections, an intensification of symptoms is observed, suggesting a synergistic effect. In this work, we intended to test whether the plant defense mechanism based on RNA gene silencing is involved in the exacerbation of symptoms observed in the OLV-1 and OMMV mixed infections. For this, we evaluated the expression of the gene that encodes the plant protein Dicer-like 4 (DCL4), a primary component of the antiviral defense against RNA viruses. *N. benthamiana* plants were inoculated by mechanical transmission, using OMMV, OLV-1 and a mixture of OMMV + OLV-1. The expression of the capsid genes of each virus was determined by qPCR, at 5 and 12 days after inoculation, and used to estimate their accumulation levels, as well as the gene encoding DCL4. Analysis of the results showed that the exacerbation of symptoms seen in mixed infections does not translate into a greater viral accumulation. In fact, both viruses showed less accumulation levels when in the presence of the other virus. As for DCL4, it was found that it is more expressed in plant when in presence of both viruses simultaneously, especially 5 days after inoculation. In the presence of OLV-1 only, DCL4 is less expressed at the moment when there is a higher viral expression (at day 12). In the case of OMMV, DCL4 is more expressed when the expression of the virus is higher. This work seems to suggest that DCL4 may be associated with the silencing of OMMV, while OLV-1 seems to be able to 'bypass' the plant's defense mechanism, but this does not happen when OLV-1 is in the presence of OMMV. This study contributes to increase the knowledge on plant-virus interactions, which is essential for the development of virus-resistant plants, extremely important in the context of sustainable agriculture.

Keywords: Gene expression, gene silencing, mixed infections, plant viruses, synergy