

Pectinases de *Colletotrichum lindemuthianum*
Universidade Federal de Viçosa ¹

Laboratório de Genética Molecular de Fungos, Departamento de Microbiologia/BIOAGRO,

GARCIA E.A. ¹; QUEIROZ, M.V².; SILVA, L.L.³, ALVES, J.L.⁴

Estudante de Agronomia-UFV – ediones.amaro@gmail.com; ²Professora do Departamento de Microbiologia Agrícola-UFV – mvqueiroz@ufv.br;

³Estudante de Pós-Graduação do Programa de Microbiologia -UFV – leand_lopes@yahoo.com.br

⁴Pesquisadora colaboradora anainae@yahoo.com.br

Palavras-chave Antracnose, patogenicidade, cis-elementos.

Introdução

A antracnose é uma doença que acomete o feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.), comprometendo a produtividade. O agente causal da antracnose é o fungo hemibiotrófico *Colletotrichum lindemuthianum*. Em geral, as pectinases são as principais enzimas responsáveis pela maceração do tecido vegetal e são importantes para o desenvolvimento da doença.

Objetivos

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi caracterizar o gene *pgaCl4* e a poligalacturonase que ele codifica em *C. lindemuthianum*.

Material e Métodos

A identificação dos íntrons foi realizada por meio da análise de sequências consenso e por meio da comparação com sequências de outras poligalacturonases de fungos. A identificação dos cis-elementos presentes na região promotora foi realizada em 1.200 pb (pares de bases) acima do códon de iniciação da tradução por meio de busca manual das sequências de reconhecimento de diferentes proteínas reguladoras. A sequência de aminoácidos de PgaCl4 foi comparada com a sequência de aminoácidos de poligalacturonases de outros 18 fungos, obtidas no banco de dados do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) e alinhadas utilizando a ferramenta online Clustal Omega. Uma árvore filogenética foi construída utilizando o software MEGA 5.0 com o alinhamento das sequências de aminoácidos obtidas. Foi realizada a análise da expressão diferencial do gene *pgaCl4* por qPCR nas diferentes fases da interação *C. lindemuthianum* feijoeiro (penetração, fase biotrófica e fase necrotrófica).

Resultados e Discussão

.. A sequência obtida do gene *pgaCl4* possui 1.983 nucleotídeos, 10 íntrons (figura 1) e a proteína deduzida apresenta 463 aminoácidos. Foram encontrados três sítios de ligação para a proteína CreA, que é um regulador de resposta ao pH, e uma para a ligação do complexo HAP na região promotora do gene *pgaCl4* (figura 2). A proteína PgaCl4 de *C. lindemuthianum* apresentou alta identidade com a proteína putativa exopoligalacturonase B de *Colletotrichum trifolii* (99,14%), *Colletotrichum sidae* (98,82%) e *Colletotrichum orbiculare* (98,92%).

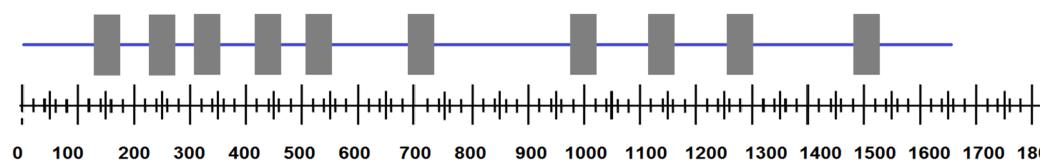


Figura 1. Representação dos íntrons presentes na sequência do gene *pgaCl4* (poligalacturonase) de *C. lindemuthianum* representados na cor cinza

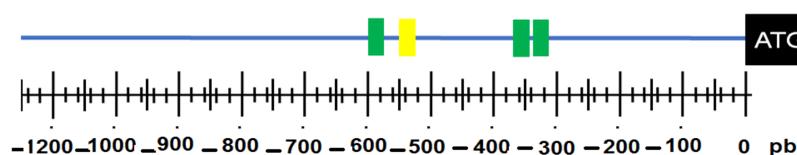


Figura 2. Representação de cis-elementos presentes na sequência da região promotora do gene *pgaCl4*; CreA representado em verde e H complex em amarelo.

Foram observados transcritos de *pgaCl4* em todas as fases, mas houve um aumento significativo destes transcritos cinco dias após a infecção, no início da fase necrotrófica (figura 3A). A análise filogenética mostrou a formação de três grupos de *Colletotrichum spp.* (figura 3B).

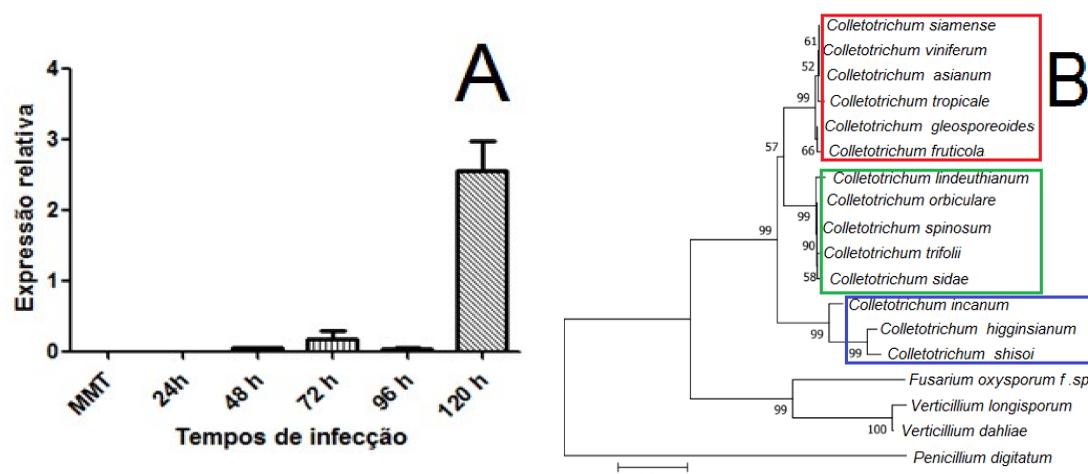


Figura 3. (A) Expressão do gene *pgaCl4* em diferentes estágios de infecção do *C. lindemuthianum* no feijoeiro-comum indicando alta atividade da enzima no quinto dia na fase necrotrófica. (B) Arvore filogenética construída a partir do alinhamento das sequências de aminoácidos de diferentes fungos, evidenciando três grupos distintos de *Colletotrichum spp.* em diferentes cores (vermelho, verde e azul).

Conclusão

A análise do gene *pgaCl4* auxiliará na compreensão do papel das pectinases na antracnose do feijoeiro-comum.

Apoio Financeiro



Agradecimentos

