

Um SNP no gene de avirulência *HvEC-016* de *Hemileia vastatrix* confere virulência a *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* em folhas de cafeeiro portador do gene *SH1*

Jão Maurício Coelho Lourenço (joao.mauricio@ufv.br)¹; Sérgio Hermínio Brommonschenkel (shbromo@ufv.br)¹; Thiago Andrade Maia (thiago.maia@usp.br)^{1,2}. ¹Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 36570-900. ²Endereço atual: Departamento de Fitopatologia e Nematologia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 13418-900. **Palavras-chave:** ferrugem do cafeeiro, gene de avirulência, controle genético.

Introdução

O estabelecimento de um método de análise funcional de efetores de *Hemileia vastatrix* por meio do sistema EDV (*Effector Delivery Vector*) e o Sistema de Secreção Tipo III de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* (*Psgc*) permitiu a identificação do primeiro gene de avirulência (*HvEC-016*) desse fungo. Quando *Psgc* expressa e transloca a proteína *HvEC-016* em folhas de cafeeiros portadores do gene de resistência à ferrugem *SH1*, a bactéria torna-se avirulenta devido a indução de uma imunidade ativada por efetores que suprime a proliferação bacteriana no limbo foliar. Porém, devido a natureza dicariótica dos fungos causadores de ferrugens, onde dois núcleos haplóides coexistem dentro de uma célula, existe a possibilidade de existência de variantes alélicas no loco *HvEC-016* que codifiquem uma proteína *HvEC-016* que não é reconhecida pelo sistema imune do cafeeiro. Embora os genes de avirulência são dominantes, essa heterozigose pode permitir ao fungo se tornar virulento por meio de mutação de apenas uma das cópias alélicas.

Objetivos

(i) análise da condição genética do locus *HvEC-016* do isolado de *H. vastatrix* Hv-01 (raça II); (ii) clonagem do alelo variante *HvEC-016*; (iii) expressão transiente da proteína variante em folhas de cafeeiro.

Material e Métodos

O contig CAHV_rep_c12874 identificado na biblioteca de cDNA CaHv 454 (Maia *et al.*, 2017) foi visualizado pelo programa Tablet. O gene *HvEC-016* foi amplificado por PCR a partir de cDNA sintetizado de RNA extraído de folhas de café infectadas com o isolado de *H. vastatrix* Hv-01 (raça II). Os amplicons foram clonados no vetor pGEM-T easy e seis clones foram selecionados para sequenciamento visando identificar variantes alélicas. As clonagens e ensaios de infiltração de *Psgc* foram conduzidos de acordo com Maia *et al.*, (2017).

Conclusões

(i) O isolado de *H. vastatrix* Hv-01 (raça II) é heterozigoto no locus *HvEC-016*. (ii) A proteína *HvEC-016*^{Ser56} codificada pelo alelo variante não ativou a resposta de defesa no cafeeiro Dilla & Algue (*SH1*) contra *Psgc*, (iii) Esses resultados evidenciam o potencial adaptativo de *H. vastatrix* em germoplasma com o gene *SH1*.

Resultados

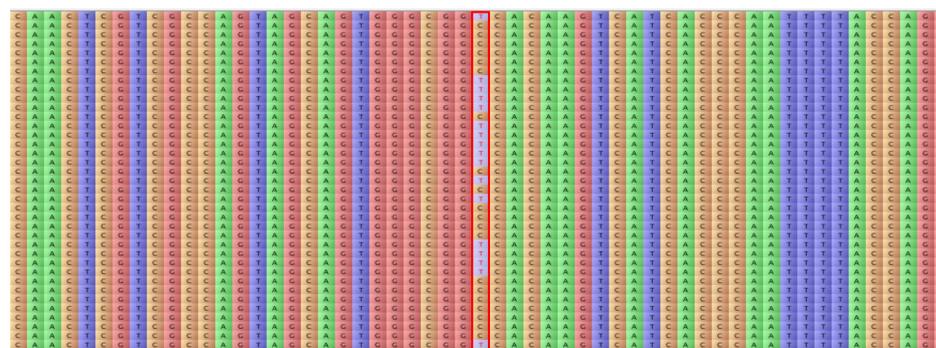


Figura 1: Visualização da montagem de novo do contig CAHV_rep_c12874 mostrando o polimorfismo de base única que distingue os dois alelos (c.175C>T) na posição 175 da ORF predita para o gene *HvEC-016*.

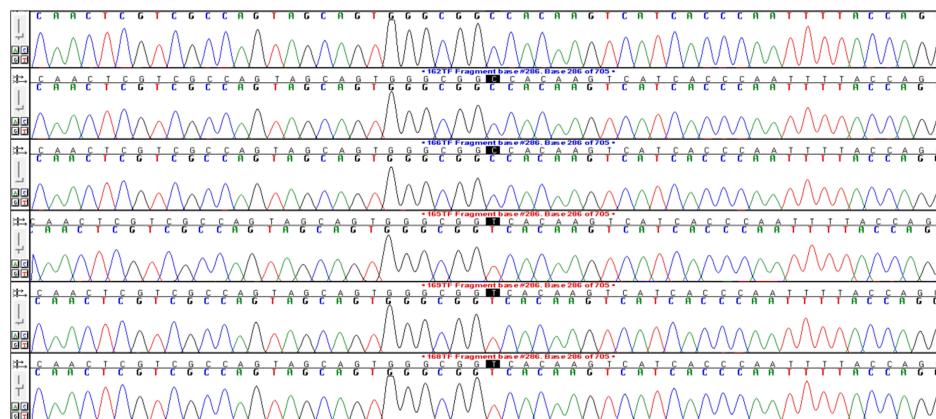


Figura 2: Cromatograma do sequenciamento Sanger de seis clones contendo o gene *HvEC-016*. Confirma-se a condição heterozigota do isolado Hv-01 para o gene *HvEC-016* pois detectou-se uma frequência de 50% para cada alelo.

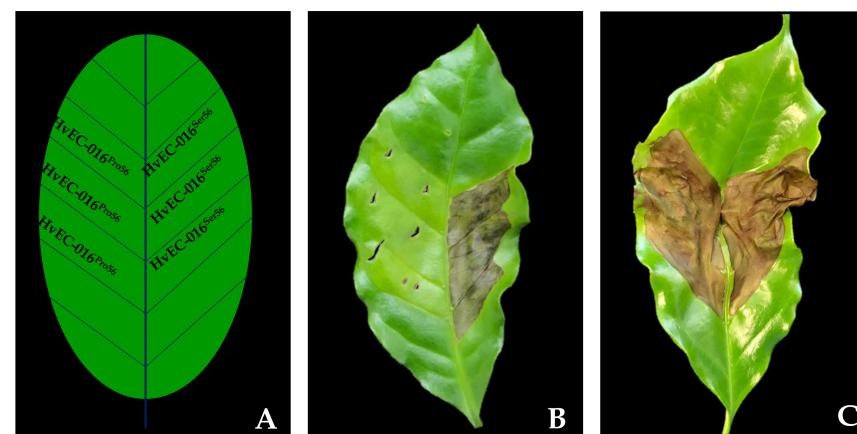


Figura 3: Sintomas observados em folhas de cafeeiros infiltradas com uma suspensão de 2×10^7 UFC/ml de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* (*Psgc*). (A) Representação da folha de café mostrando os limbos infiltrados com *Psgc* expressando a construção pEDV6::*HvEC-016*^{Pro56} (à esquerda), e com *Psgc* expressando a construção pEDV6::*HvEC-016*^{Ser56} (à direita); (B) Genótipo Dilla & Algue, gene de resistência *SH1*; (C) Catuaí Vermelho IAC 44, gene de resistência *SH5*.