



## CARACTERIZAÇÃO DO GENE *creA* DE *Colletotrichum lindemuthianum*

GARCIA E.A. <sup>1</sup>; QUEIROZ, M.V. <sup>2</sup>; SILVA, L.L. <sup>3</sup>;

<sup>1</sup>Estudante de Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, E-mail: ediones.amaro@gmail.com;

<sup>2</sup>Professora do Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG;

<sup>3</sup>Bolsista de pós-doutorado no Departamento de Microbiologia, Universidade Federal de Viçosa

**Palavras-chave:** repressão catabólica, expressão gênica, fitopatógeno

### Introdução

A antracnose é uma doença que acomete o feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) causada pelo fungo hemibiotrófico *Colletotrichum lindemuthianum*. Durante a interação com o hospedeiro, esse fungo produz enzimas responsáveis por degradar o tecido vegetal. O gene *creA* codifica uma proteína reguladora que atua na repressão catabólica do carbono em fungos filamentosos. A proteína CreA controla a expressão de genes envolvidos na degradação da parede celular vegetal. Entretanto, não se sabe ainda a importância do gene *creA* em *C. lindemuthianum*.

### Objetivos

Identificar no genoma de *C. lindemuthianum* e caracterizar o gene *creA* e sua proteína putativa. Analisar a expressão do gene na fase biotrófica e na fase necrotrófica

### Material e Métodos

Foi utilizado o genoma sequenciado de *C. lindemuthianum*. A 2 2-3 da raça 89 numero de acesso MASP00000000.2.

A análise da expressão diferencial do gene *creA* foi feita por qPCR em diferentes tempos de infecção (penetração [24h], fase biotrófica [24 a 96] e início da fase necrotrófica [120h]) e em meio mínimo com 2 % de glicose. O alinhamento das sequências de aminoácidos dos 48 micro-organismos foi feito utilizando a ferramenta online Clustal. Uma árvore filogenética foi construída utilizando o software MEGA 5.0. Foi feita busca manual e a identificação dos *cis*-elementos presentes na região promotora: PacC, o regulador da expressão de genes em resposta ao pH; CAAT BOX, que atuam como sinais básicos para a transcrição; HAP, complexo que regula genes relacionados a respiração celular; CreA, repressor catabólico.



Busca por:  
CreA  
TATA BOX  
CAAT BOX  
PacC  
Hap Complex



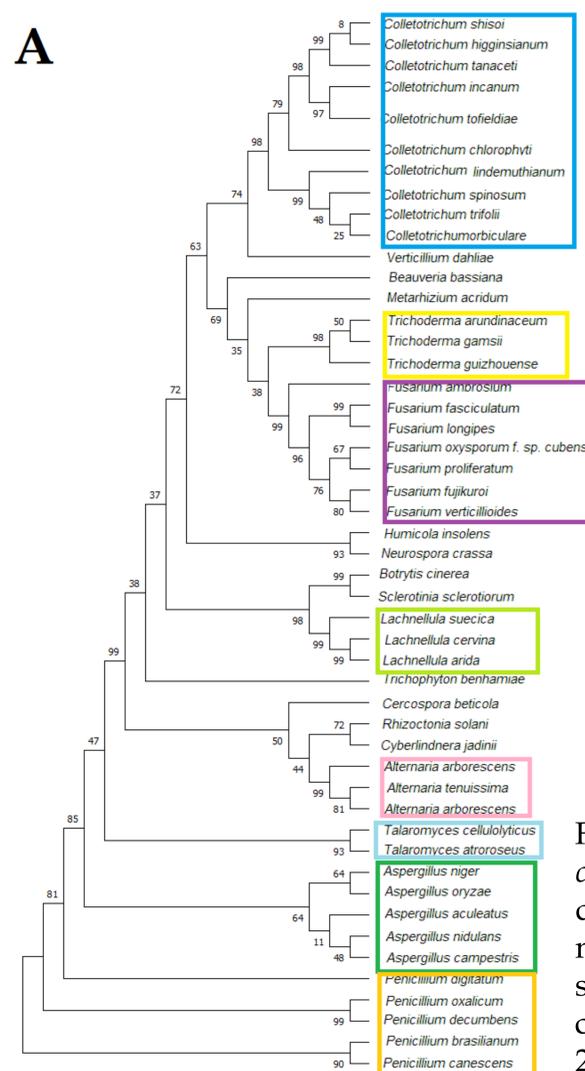
Alinhamento da sequência de aminoácidos e construção da árvore filogenética

### Resultados e Discussão

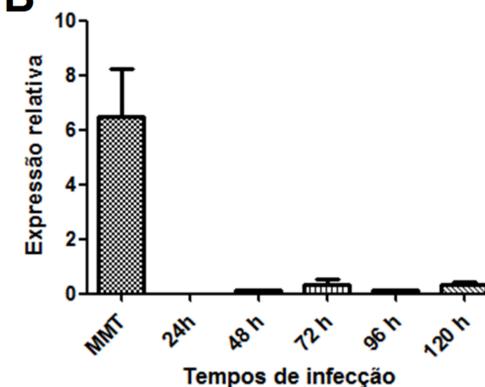
A sequência codificadora putativa do gene *creA* possui 1.221 pb e a proteína deduzida apresenta 406 aminoácidos. Não foram identificados íntrons. A análise da região promotora revelou alguns *cis*-elementos putativos e sítios de ligação a fatores de transcrição relacionados a regulação de *creA*: CAAT box na posição

-114; complexo HAP na posição -10; PacC, na posição -1130. Todos os fungos do gênero *Colletotrichum* estão em um único grupo, pois apresentam os aminoácidos altamente conservados, nos demais grupos fungos de espécies diferentes que apresentam o mesmo gênero também apresentam esse padrão de conservação como pode ser visualizado na figura 1 (A).

A



B



**Figura 1.** (A) Filogenia de sequências de aminoácidos de CreA de 48 diferentes fungos. Foi usado o método de Máxima Parcimônia. Os números próximos aos ramos indicam a porcentagem de repetições da análise de bootstrap, com base em 3.000 replicatas. (B) Expressão relativa do gene *creA* em diferentes fases de desenvolvimento do fungo na planta

Foram detectados transcritos do gene *creA* em todas as fases de desenvolvimento do fungo na planta, mas houve expressão diferencial significativa quando o fungo foi cultivado em meio mínimo contendo 2% de glicose, que é uma condição de repressão de genes que codificam

proteínas envolvidas no catabolismo de fontes de carbono mais complexas.

### Conclusões

O gene *creA* possui alta similaridade com proteínas ortólogas de outras espécies de *Colletotrichum*, sendo altamente expresso na presença de glicose. A análise do gene *creA* auxiliará na compreensão da regulação da repressão catabólica do carbono e a sua relação com a expressão de genes pectinolíticos e de patogenicidade.

### Apoio Financeiro

