

C. Ciências Biológicas - 3. Bioquímica - 1. Biologia Molecular**OCORRÊNCIA DE OAH (OXALOACETATO ACETIL-HIDROLASE) ENZIMA ENVOLVIDA NA BIOSÍNTESE DE ÁCIDO OXÁLICO NO ASCOMICETO EM MYCOSPHAERELLA FIJIENSIS**Átila de Souza ¹Nelcimar Reis de Sousa ¹

1. Laboratório de Biologia Molecular- Embrapa Amazônia Ocidental

INTRODUÇÃO:

O fitopatígeno *Mycosphaerella fijiensis* Morelet é o agente causal da sigatoka-negra na bananeira, que é a mais grave doença nesta cultura no mundo, podendo causar até 100% de perda na produção. Vários fungos possuem como estratégia de infecção a produção de ácido oxálico (oxalato) que acidifica o tecido do hospedeiro potencializando a atividade das enzimas poligalacturonases (endo e exopoligalacturonase), supressão da explosão oxidativa de defesa da planta e abertura das células guarda, facilitando a penetração direta pelos estômatos (Cessna, 2000). A principal via de biossíntese de oxalato em fungos ocorre pela clivagem do oxaloacetato formando oxalato e acetato pela ação da enzima oxaloacetato acetil-hidrolase-OAH (EC3.7.1.1) (Hans *et al.*, 2007). A análise da função de resíduos específicos, usando uma abordagem baseada na superfamília, revelou que a presença de um resíduo de serina no sítio ativo que considerada um marcador é fundamental para atividade da OAH (Joosten 2007). A presença do ácido oxálico tem se revelado um componente essencial para a virulência em *Sclerotinia sclerotiorum* e *Botrytis cinerea* (Godoy, 1990). Deste modo o objetivo deste trabalho foi caracterizar as proteínas codificadas pelos genes oah em *M. fijiensis*.

METODOLOGIA:

A identificação do gene que codifica a putativa OAH foi realizada por meio de um BLASTP no banco genômico de *M. fijiensis* (<http://genome.jgi-psf.org/Mycf11/Mycf11.home.html>) usando a proteína OAH do fungo *Aspergillus niger* (ABD78720), os alinhamentos foram realizados com auxílio do programa clustalX versão 2.0 (Larkin *et al* 2007), as sequências foram editadas no software Bioedit (<http://jwbrown.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>) e análise filogenética foi feita por meio do programa Mega 4.0 (Kumar *et al* 2008).

RESULTADOS:

Foram identificados quatro sequências no genoma de *M. fijiensis* que apresentam homologia a OAH de *A. niger*, que foram denominados de (oahmFA, B, C e D). Todos os genes codificam proteínas que pertencem à superfamília ICL/PEPM_KPHMT, da qual fazem parte: fosfoenol piruvato (PEP), isocitrato liase e as oxaloacetato acetil-hidrolase. As putativas OAHMFA e OAHMFB possuem na região referente ao sítio ativo a substituição da serina por prolina indicando que estas não apresentam atividades relacionadas com a clivagem de oxaloacetato a ácido oxálico e acetato. Esta mudança deve-se possivelmente pela substituição do códon TCG/TCA (serina) por CCG e CCA (prolina) respectivamente. A proteína OAHMFD tem na região correspondente ao sítio ativo um resíduo de serina característico das OAHs, enquanto que a OAHMFC apresenta uma treonina. A análise filogenética revelou que as PEPs de *Talaromyces stipitatus*, *Penicillium marneffei*, *Penicillium chrysogenum Wisconsin* e *Neosartorya fischeri*, estão mais relacionadas com as OAHs e, além disso, apresentam o marcador (serina) na posição 514 relativo ao sítio ativo das OAHs, indicando que estas proteínas podem estar relacionadas com a produção de ácido oxálico a partir de oxaloacetato.

CONCLUSÃO:

Das quatro sequências que apresentavam homologia a OAH de *A. niger* apenas OAHMFD conserva a serina na região relativa ao sítio ativo, indicando que este gene pode codificar uma proteína com possível habilidade de biossíntese de ácido oxálico. Os genes que codificam as OAHMFA e B apresentam na região relativa ao sítio ativo uma mutação do tipo transição (T>C) levando a troca do aminoácido serina por prolina indicando que estes genes não codificam uma típica OAH, por tanto é possível que estas proteínas não atuem na produção de acetato a partir de oxaloacetato.

Instituição de Fomento: CNPq

Palavras-chave: Fitopatogênico, Oxalacetato, pH.