

E. Ciências Agrárias - 1. Agronomia - 3. Fitossanidade**CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA AVR4 EM *Mycosphaerella fijiensis* AGENTE CAUSAL DA SIGATOKA-NEGRA DA BANANEIRA.**Ramon Diego Veiga da Paixão ¹Luadir Gasparotto ²Rogério E. Hanada ³Nelcimar Reis Sousa ⁴Gilvan Ferreira da Silva ⁵

1. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas - IFAM
2. Laboratório de Fitopatologia - Embrapa Amazônia Ocidental
3. Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia - INPA
4. Laboratório de Biologia Molecular - Embrapa Amazônia Ocidental
5. Laboratório de Biologia Molecular - Embrapa Amazônia Ocidental

INTRODUÇÃO:

A bananeira tem grande importância econômica e alimentar. Das doenças da bananeira destaca-se a Sigatoka-negra, que é causada pelo fungo *Mycosphaerella fijiensis*. As principais características da doença são pequenas despigmentações na folha, com perda de área fotossintética, implicando em seu desenvolvimento. Na interação planta-patógeno a resposta de defesa da planta é mediada pela percepção de elicitores codificadas por genes de avirulência (avr), o reconhecimento da planta por meio de genes de resistência (R) ocasionará uma interação do tipo incompatível (resistência). A interação do tipo compatível ocorrerá na ausência ou não funcionalidade de R e ou Avr. Alguns fitopatógenos desenvolvem formas de proteção da parede celular por meio de proteínas que interagem com a quitina protegendo-a contra hidrólise enzimática de quitinases produzidas pelo hospedeiro. Em *Cladosporium fulvum* o gene *avr4* codifica uma proteína do tipo "Chitin-Bind" que pode funcionar como um elicitador capaz de induzir uma resposta de hipersensibilidade ou fator de virulência condicionado por um alelo (do *avr4*) que contenha a troca de uma cisteína por uma tirosina (Burg et al, 2006). Desse modo o objetivo do presente trabalho foi identificar e caracterizar o gene que codifica a proteína Avr4 em *M. fijiensis*.

METODOLOGIA:

A sequência do gene que codifica AVR4 foi identificada no banco de dados do genoma de *M. fijiensis* (<http://genome.jgi-psf.org/Mycfi1/Mycfi1.home.html>) por meio de da ferramenta BlastP utilizando a proteína AVR4 de *Cladosporium fulvum*. Sequências homólogas foram localizadas no banco de dados público NCBI por meio da ferramenta BLASTP (Astschul et al., 1997) e 12 ortólogos foram selecionados entre fungos, nematóide, artrópodes, cnidário e cordado para alinhamento e análise filogenética. O peptídeo sinal e os sítios de glicosilação foram localizados pelo software SignalP 3.0 (Bendtsen et al, 2004) e NetNGlyc 1.0 respectivamente. O alinhamento foi realizado no programa ClustalX 2.0 (Larkin et al 2007) e editado com auxílio do Bioedit (<http://jwbrown.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.htm>). Para análise filogenética foi utilizado o programa Mega 4.0 com robustez dos ramos determinada por bootstrap de mil réplicas (Kumar et al 2008).

RESULTADOS:

Foi identificada uma sequência no banco genômico de *M. fijiensis* relacionadas à interação com quitina (Chitin-Bind), por meio de blastp usando a proteína AVR4 de *C. fulvum*. Esse gene foi denominado ChBM.f1. Esta sequência apresenta uma região codificante de 366 pares de base (pb) interrompida por um intron putativo de 62pb. A proteína deduzida apresenta 121 aminoácidos (aa) contendo um peptídeo sinal de 21 aa e não apresenta sítios de glicosilação (Asn-X-Ser/Thr) assim como AVR4 de *C. fulvum*. ChBMf1 apresenta 10 resíduos de cisteínas sendo que 8 são conservadas entre Avr4 de *C. fulvum* e ChBMf1, 6 destes resíduos estão presentes na região correspondente ao domínio CBM14 onde formam três pontes de dissulfeto altamente conservados. A análise comparativa dos aminoácidos envolvidos na ligação com a quitina (DY) entre AVR4 e ChBMf1 revelam que em ChBMf1 houve substituição de tirosina por triptofano na posição 97 (Tyr→Trp). A análise filogenética revelou que ChBMf1 está mais relacionado com *C. fulvum*.

CONCLUSÃO:

Em *M. fijiensis* o gene *chBMf1* é ortólogo de *avr4* de *C. fulvum* e possivelmente está relacionado a proteção contra ataque de quitinases produzidas pelo hospedeiro. Dos dois resíduos relacionados à ligação com a quitina (73D-74Y) em *C. fulvum*, houve uma substituição de (Y→W) encontrada em ChBMf1 possivelmente pela troca de dois nucleotídeos da trinca (TAT/TAC = tirosina) por (TGG = triptofano).

Instituição de Fomento: CNPq e FAPEAM

Palavras-chave: Chitin-bind, AVR4, Genes de Avirulência.