



AVALIAÇÃO DE UMA P450 NA PATOGENICIDADE DE ALTERNARIA ALTERNATA PATÓTIPO TANGERINA

Victória Sebastiani **Prado**¹; Carolina Munari **Rodrigues**²; Marco Aurélio **Takita**³

Nº 21141

RESUMO – A mancha marrom da alternaria, causada pelo fungo *Alternaria alternata*, é considerada a doença fúngica mais séria que acomete a cultura de tangerina e seus híbridos (Peres et al., 2003). O principal sintoma são lesões causadas por uma toxina hospedeiro-seletiva, ACT (*Alternaria Citri Toxin*), que afeta folhas, frutos e ramos (Akimitsu et al. 2003). No caso de *A. alternata* patótipo tangerina, não se conhece exatamente suas estratégias para penetrar no tecido do hospedeiro. Em seu estudo, por meio da avaliação da expressão gênica global do fungo em resposta a extratos de tangor Murcott, Tarallo (2018) identificou possíveis genes associados à patogenicidade de *A. alternata*, dentre eles, um que codifica uma P450, proteína pertencente a uma superfamília de monooxigenases, enzimas essenciais para os fungos, que também podem estar relacionadas ao metabolismo secundário e à detoxificação de componentes tóxicos. O objetivo deste projeto foi avaliar estratégias de mutagenese de *A. alternata* para estudar a influência desta proteína na patogenicidade do fungo. Utilizando o T-Coffee, realizou-se o alinhamento de vinte P450, obtidas por Tarallo (2018). A sequência lcl|LPVP01000008.1_cds_OWY43629.1_5378 foi escolhida e para localizá-la no genoma do fungo, realizou-se uma análise de similaridade com BlastN. Posteriormente, duas estratégias de mutagenese foram desenhadas: a primeira, por meio da construção de um vetor com resistência a higromicina, antibiótico ao qual o fungo se mostrou susceptível, e a segunda, usando CRISPR, onde se utilizou o software Breaking Cas para identificar-se regiões genômicas passíveis de serem mutagenizadas.

Palavras-chaves: *Alternaria alternata*, P450, Patogenicidade, Mutagenese.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Biotecnologia, UFSCAR, Araras-SP; victoriasebastiani@yahoo.com.br

2 Colaborador, Pós-doutoranda do Centro de Citricultura Sylvio Moreira, Cordeirópolis-SP.

3 Orientador: Pesquisador do Centro de Citricultura Sylvio Moreira, Cordeirópolis-SP; marco.takita@ccsm.br



ABSTRACT – *Alternaria* brown spot, caused by the fungus *Alternaria alternata*, is considered the most serious fungal disease that affects mandarin and its hybrids (Peres et al., 2003). The main symptom is lesions caused by a host-selective toxin, ACT (*Alternaria Citri Toxin*), which affects leaves, fruits and branches (Akimitsu et al. 2003). In the case of *A. alternata* tangerine pathotype, not exactly known its strategies to penetrate the host tissue. In his study, through the evaluation of the global gene expression of the fungus in response to tangor Murcott extracts, Tarallo (2018) identified possible genes associated with the pathogenicity of *A. alternata*, among them, one that encodes a P450, a protein that belongs to a superfamily of monooxygenases, essential enzymes for fungi, which may also be related to secondary metabolism and detoxification. The objective of this project was to evaluate mutagenesis strategies of *A. alternata* to study the influence of this protein on the pathogenicity of the fungus. Using T-Coffee, twenty P450 obtained by Tarallo (2018) were aligned. The sequence Icl|LPVP01000008.1_cds_OWY43629.1_5378 was chosen and to locate it in the fungus genome, a BlastN alignment was performed. Subsequently, two mutagenesis strategies were designed: the first, by constructing a vector with resistance to hygromycin, an antibiotic to which the fungus proved to be susceptible, and the second, using the CRISPR technology, where the Breaking Cas software was used, which generated a table of possible targets in genomic regions to perform mutagenesis.

Keywords: *Alternaria alternata*, P450, Pathogenicity, Mutagenesis.