



ANÁLISE FUNCIONAL DE UM FATOR DE TRANSCRIÇÃO NA PATOGENICIDADE DE ALTERNARIA ALTERNATA

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

Nº 22143

RESUMO – A Mancha Marrom de *Alternaria* é uma doença causada pelo fungo *Alternaria alternata* que afeta pomares de tangerinas e híbridos. Atualmente, o principal desafio da fitopatologia está no entendimento da interação dos patógenos com seus hospedeiros. Na interação *Alternaria*-citros, o fungo modula sua expressão gênica assim que reconhece sinais do hospedeiro, como mostrado na dissertação de Tarallo (2018). A presença de extrato de tangor Murcott em meio de cultura levou à expressão de inúmeros genes, dentre os quais, o gene AALTg5454, que codifica um fator de transcrição, o gene AALTg5837, que codifica uma P450, e o gene AALT_g10699, que codifica uma proteína homeobox, possivelmente relacionados à patogenicidade do fungo. A substituição de genes é uma técnica que consiste na troca de um gene por um cassete, permitindo o estudo da função de genes através da análise de mutantes. O objetivo deste trabalho foi construir um vetor de substituição de genes de *Alternaria alternata*, desenhado no site GenScript e que possui um cassete composto por um promotor bidirecional, um gene mCherry, um gene de resistência a higromicina, e dois terminadores, para acompanhar a interação do fungo com seu hospedeiro. Para a mutação ocorrer, é necessária a existência de regiões homologas as sequências que flanqueiam os genes alvos, identificadas por meio do software BlastN, uma vez que a inserção ocorre por recombinação homóloga. A amplificação dessas regiões foi realizada pela utilização de primers desenhados com software Primer3. Portanto, o vetor construído poderá ser utilizado com eficiência para estudos funcionais de diferentes genes.

Palavras-chaves: Vetor, Clonagem, Cassete, Substituição, Mutantes.

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 is a disease caused by Alternaria alternata that affects tangerine orchards and its hybrids. Currently, the main challenge of phytopathology is to understand the interaction of pathogens with their hosts. In the Alternaria-citrus interaction, the fungus modulates its gene expression as soon as it recognizes signals from the host, as shown in the dissertation by Tarallo (2018). The presence of Murcott tangor extract in culture medium led to expression of several genes, among which, the AALTg5454 gene, which encodes a transcription factor, the AALTg5837 gene, which encodes a P450, and the AALT_g10699 gene, which encodes a homeobox protein, possibly related to the pathogenicity of the fungus. Gene replacement is a technique that consists in the exchange of a gene for a cassette, allowing the study of gene function through the analysis of mutants. The objective of this work was to build a gene replacement vector of Alternaria alternata, designed on the GenScript website, which has a cassette composed of a bidirectional promoter, an mCherry gene, a hygromycin resistance gene, and two terminators, to verify the interaction of the fungus with its host. For the mutation to occur, the existence of regions homologous to the sequences that flank the target genes, identified by means of the BlastN software, is necessary, since the insertion occurs by homologous recombination. The amplification of these regions was performed using primers designed with Primer3 software. Therefore, the vector built can be efficiently used for functional studies of different genes.*

Keywords: Vector, Cloning, Cassette, Substitution, Mutants.