

Estudo de patogenicidade e análise de expressão gênica em bananeira para resistência à Sigatoka negra

Luiz Carlos de Souza Junior¹, Taís Araújo Santos², Julianna Matos da Silva³, Andresa Priscila de Souza Ramos⁴, Edson Perito Amorim⁵ e Claudia Fortes Ferreira⁶

¹Estudante de Bacharelado em Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bolsista da FAPESB (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia), Cruz das Almas, BA; ²Mestranda em Genética e Biologia Molecular, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus-Bahia; ³Doutoranda em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA; ⁴Analista da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA; ⁵Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura; ⁶Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA.

A banana é uma fruta consumida no mundo inteiro movimentando a economia de diversos países produtores. No entanto, sua expansão e produtividade vem sendo limitada em algumas regiões devido ao ataque de diversos patógenos, principalmente fungos. Estudos de patogenicidade e de expressão de genes envolvidos em mecanismos de defesa é um dos caminhos para o desenvolvimento de genótipos resistentes e mais produtivos possibilitando a compreensão do relacionamento entre planta-patógeno e os mecanismos que levam uma planta a ser resistente a determinada doença. Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a interação Sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijiensis*) versus genótipos de bananeira contrastantes para a doença, pela otimização de iniciadores selecionados relacionados com a resposta a infecção via PCR convencional e pela análise preliminar da expressão gênica por meio de PCR em tempo real. O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada na Embrapa Mandioca e Fruticultura e Laboratórios de Fitopatologia e de Biologia Molecular. Foram utilizadas mudas de dois genótipos contrastantes quanto a Sigatoka negra: Calcuttá 4 (resistente), e Grande Naine (suscetível). O isolado monospórico de Sigatoka-negra foi originalmente coletado da cultivar 'Grande Naine'. O inoculo foi preparado no Laboratório de Fitopatologia e para a inoculação, uma solução de isolado monospórico agressivo. Aos 6 meses, as folhas jovens 1 e 2, foram inoculadas e coletadas de acordo com os tempos: T0: 0 (controle) e T3: 3 dias após a inoculação (dpi). O RNA foi extraído e posteriormente qualificado em gel de agarose a 1% e tampão TAE 1,0X. Foram testadas seis diferentes temperaturas para cada primer, utilizando os genótipos Calcuttá 4 e Grande Naine, ambos coletados no tempo T3 dpi. Os primers testados foram: Tubulina (TUB); 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase (ACC); cinamato 4-hidroxilase (C4H); Jasmonate-amino-acid-conjugating enzyme (JAR); Putative GDSL-like lipase/hydrolase (GDSL); Osmotin-like protein (OSM); Ferredoxin (FER); Actina (ACT); e Pr Proteína (PR4). Para os iniciadores ACC, C4H, JAR, GDSL, OSM e TUB, a temperatura ideal encontrada foi de 52 °C, enquanto que para ACT foi de 50 °C. Já o FER, apresentou maior diferença de temperatura, com amplificação a 54 °C. Nos testes de RT-qPCR, os iniciadores ACC, GDSL, PR4 e TUB apresentaram as melhores curvas de dissociação. Os resultados foram analisados por grupo biológico considerando os genótipos contrastantes (Calcuttá e Grande Naine), ou o tempo de coleta por genótipo, sendo avaliados o T0 e T3 do genótipo Calcuttá (resistente) 4 e o T3 do genótipo Grande Naine (suscetível). Para exibir melhor o resultado foi construído um heatmap que mostrou que a amostra Calcuttá T3 não apresentou expressão para os genes relatados. Já para Grande Naine T3, a expressão para os genes JAR, FER e C4H foi negativa quando comparada com o genótipo contrastante. Os genes JAR, C4H e FER apresentaram expressões contrastantes com relação ao T3 de Grande Naine e T0 de Calcuttá 4. O gene ACC apresentou expressão positiva para o Grande Naine e negativa em Calcuttá 4, enquanto que o gene PR4 apresentou resultado totalmente oposto. Conclui-se que essas temperaturas podem ser consideradas ajustadas para os primers utilizados. Os genes ACC, C4H, FER e JAR, em especial, podem vir a fazer parte de novos estudos de expressão gênica em bananeira.

Significado e impacto do trabalho: Este trabalho servirá de base para novos estudos de expressão gênica e caracterização de genes e genótipos resistentes à Sigatoka-negra permitindo o melhor entendimento da atuação da doença e da resposta da planta, o que poderá contribuir para o desenvolvimento de novos genótipos resistentes à doença, incluindo estudos de edição gênica (CRISPR, cisgenia).