

Britto, DB<sup>1</sup>; Lopes, MA<sup>1</sup>; Santos, SC<sup>1</sup>; Micheli, F<sup>2,1</sup>; Alvim, FC<sup>1</sup>; Cascardo, JCM<sup>1</sup>; Gesteira, AS<sup>3,1</sup><sup>1</sup>DCB-UDESC, Laboratório de Genômica e Expressão Gênica; <sup>2</sup>Pesquisadora CIRAD-CP, UMR PIA, Montpellier, France; <sup>3</sup>Pesquisador FAPESB.

# Análise funcional do gene de glicanase (PR-2) isolado de uma biblioteca de cDNA da interação entre *Theobroma cacao* e *Crinipellis pernicioso*

O fungo hemibiotrófico *Crinipellis pernicioso* (Cp), causador da vassoura-de-bruxa nos cultivos de cacau do Sul da Bahia é uma das principais doenças que contribui para o declínio na economia local, fazendo com que muitos agricultores abandonem suas lavouras ou as substituam por outro tipo de cultura. Devido a estes fatores, as pesquisas na área de melhoramento genético do cacau foram incentivadas pelos governos federal e estadual visando à obtenção de variedades mais tolerantes à doença. Neste sentido, a análise funcional de genes PR (Pathogenesis Related Proteins), como as glicanases, é de suma importância. Estas proteínas, classificadas entre as PR-2, estão envolvidas no mecanismo de defesa da planta contra o ataque de patógenos. As glicanases, juntamente as quitinases, degradam a parede celular do fungo quando suas hifas invadem as células da planta, levando a produção de oligômeros de glicanos e quitina, respectivamente. Com esse objetivo, um gene de glicanase (TcGlu) foi isolado da biblioteca de cDNA da interação entre *Theobroma cacao* e *Crinipellis pernicioso*. Com base nos dados de multialinhamento e construção de um cladograma, a sequência isolada da biblioteca da interação, foi agrupada dentro da família das  $\beta$ -glicanases, uma vez que estas enzimas pertencem ao mesmo ancestral comum. O gene TcGlu, amplificado por PCR, foi clonado no plasmídeo pCAMBIA 1304 gfp:gusA (-), um vetor binário para estudo de promotores em plantas modificado para expressão da glicanase. Após o diagnóstico através de PCR dos clones selecionados, estes foram utilizados para transformação de discos foliares de tabaco (*Nicotiana tabacum*) via *Agrobacterium tumefaciens* (GV 3850). Os explantes transformados foram mantidos em meio mineral com agentes de seleção até os primeiros lançamentos foliares, e só então transferidos para meio mineral para obtenção da planta completa. As plantas regeneradas transgênicas serão inoculadas com *Crinipellis pernicioso* e será avaliada a resposta a este fungo, considerando que plantas selvagens de tabaco apresentam sintomas necróticos quando infectado com Cp. O gene TcGlu, também amplificado por PCR, está sendo clonado em vetor de expressão bacteriano, afim de se obter a proteína heteróloga purificada para teste de atividade antifúngica contra o Cp. ■

Apoio financeiro: CAPES e FAPESB