

CARACTERIZAÇÃO E ORGANIZAÇÃO GENÔMICA *IN SILICO* DA ENZIMA CATALASE NO *Phaseolus vulgaris* (FEIJÃO) POTENCIALMENTE ENVOLVIDAS NA RESPOSTA AO FUNGO *SCLEROTINIA SCLEROTIORUN*

RAFAEL DA SILVA PAIVA, ALINE MEDEIROS LIMA

RESUMO

No Brasil o feijão além de constituir grande fonte de proteína vegetal a sua produção é realizada por diversos tipos de produtores em diversas regiões do país. No entanto, uma dificuldade encontrada no cultivo do feijão é que pode haver a presença do fungo *Sclerotinia sclerotiorun* que causa o mofo branco este patógeno pode ser disseminado por sementes infectadas, que têm um importante papel na infestação de novas áreas de plantio e no estabelecimento da doença no início do ciclo da cultura. Diante da importância do cultivo do feijão estudar os seus mecanismos de defesa é fundamental uma vez que a adaptação e a resistência se traduzem por alterações no metabolismo da célula vegetal, entre elas a síntese de proteínas de defesa, expressas por genes específicos. Nesse sentido, a enzima da catalase tem como função proteger a célula contra a oxidação, assim ela irá catalisar rapidamente a decomposição do H₂O₂ em H₂O e O₂. Avaliando a importância da espécie e toda a problemática envolvida, esta pesquisa se propõe a realizar a localização de maneira *in silico* dos genes da família da catalase. Metodologicamente as sequências genômica e proteica dos genes da catalase no feijão foram obtidas por meio das ferramentas de busca disponível no Phytozome. Em relação a presença dos domínios conservados foram obtidos através dos programas InterPro Scan. E quanto à similaridade com proteínas de estrutura resolvida depositadas nos bancos de dados, para tal foi utilizada a ferramenta BLAST. A localização subcelular foi obtida utilizando SherLoc2. Diante dos resultados obtidos com este trabalho é possível afirmar que a enzima da catalase no feijão apresenta uma sequência genômica e proteica estando localizada principalmente na mitocôndria e com os trabalhos publicados na ferramenta BLAST é possível levantar a hipótese de que a catalase por esta relacionada ao metabolismo do vegetal com a oxidação do peróxido de hidrogênio pode auxiliar na defesa contra o fungo *Sclerotinia sclerotiorun*.

Palavras-chave: Plantas; Melhoramento genético; Defesa

1 INTRODUÇÃO

De acordo com Silva e Wander (2013), no Brasil o feijão além de constituir grande fonte de proteína vegetal a sua produção é realizada por diversos tipos de produtores em diversas regiões do país, no quais são utilizadas diferentes tecnologias e dentre estes produtores, a agricultura familiar é apontada como a grande responsável pela produção de feijão no país especialmente nas regiões onde predominam áreas de cultivo menores.

Segundo o Carneiro (2002), no Brasil, o feijoeiro é cultivado em praticamente todos os Estados, nas mais variadas condições edafoclimáticas e em diferentes épocas e sistemas de cultivo. Sendo então, evidente a grande dificuldade para se realizar, com sucesso. Nesse

contexto, em relação ao melhoramento genético do feijoeiro um desafio é em regiões temperadas, já que, nas condições tropicais a instabilidade climática e a heterogeneidade dos solos são maiores, o que exige que as cultivares recomendadas aos agricultores contemplem, além da alta produtividade de grãos, maior estabilidade.

Além disso, uma outra dificuldade encontrada no cultivo do feijão é que pode haver a presença do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* que causa o mofo branco este patógeno pode ser disseminado por sementes infectadas, que têm um importante papel na infestação de novas áreas de plantio e no estabelecimento da doença no início do ciclo da cultura (PARISI, PATRÍCIO e OLIVEIRA, 2006).

Diante da importância do cultivo do feijão estudar os seus mecanismos de defesa é fundamental uma vez que a adaptação e a resistência se traduzem por alterações no metabolismo da célula vegetal, entre elas a síntese de proteínas de defesa, expressas por genes específicos. Tais proteínas exercem vários papéis na resistência e sobrevivência da planta, podendo agir de forma direta, combatendo o agente agressor, ou de forma indireta, mantendo a estrutura e as funções celulares o que auxiliará na sobrevivência do organismo (MYSORE & RYU 2004, JONES & DANGL 2006).

Nesse sentido, a enzima da catalase tem como função proteger a célula contra a oxidação, assim ela irá catalisar rapidamente a decomposição do H₂O₂ em H₂O e O₂. Esta enzima tem a capacidade de decompor milhões de moléculas de peróxido de hidrogênio por segundo (SCANDALIOS, GUAN e POLIDOROS, 1997), o que para a célula é fundamental para o funcionamento das suas atividades metabólicas. Sendo assim, a enzima da catalase apresenta ser o principal regulador do peróxido de hidrogênio.

Avaliando a importância da espécie e toda a problemática envolvida, esta pesquisa se propõe a realizar a localização de maneira *in silico* dos genes da família da catalase, que irá ser responsável por codificar sua respectiva enzima, realizando a caracterização e organização dos genes.

MATERIAIS E MÉTODOS

As sequências genômica, DNA e proteica dos genes da catalase no feijão foram obtidas por meio das ferramentas de busca disponível no Phytozome (<http://www.phytozome.net/cassava>). A busca foi realizada por meio da palavra-chave catalase e o nome da espécie do feijão *Phaseolus vulgaris*. Em relação a presença dos domínios conservados foram obtidos através dos programas InterPro Scan (<https://www.ebi.ac.uk/interpro>).

E quanto à similaridade com proteínas de estrutura resolvida depositadas nos bancos de dados, para tal foi utilizada a ferramenta BLAST (www.blast.ncbi.nlm.nih.gov) (ALTSCHUL et al, 1997). O programa SignalP v.2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP>) (NIELSEN e KROGH, 1998), foi utilizado para identificar se há peptídeo sinal na sequência proteica, sendo então essas ferramentas fundamentais para a caracterização do gene.

A estrutura tridimensional da sequência de aminoácidos foi modelada pelo programa SWISS-MODEL. A localização subcelular foi obtida utilizando SherLoc2 (BRIESEMEISTER et al., 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No programa Phytozome foram identificados uma sequência genômica da catalase e uma proteica no feijão sendo que a proteica apresentou 492 aminoácidos apresentando como processo biológico o estresse oxidativo não apresentando componente celular e suas principais

funções moleculares são a ligação de heme e a atividade de catalase na célula. No que se refere a sua similaridade com outras espécies por meio do programa BLAST foram selecionadas as espécies com o maior número de porcentagem e com as sequências completas para uma melhor análise dos dados assim foi possível identificar as seguintes espécies (Quadro 1).

Quadro 1. Identificação da similaridade com outras espécies de vegetais

Espécie	Percentual de Identificação
<i>Vigna radiata</i>	90.61%
<i>Glycine max</i>	89.55%
<i>Lotus japonicus</i>	88.84%

Os resultados a cima expressam a alta similaridade das sequências genômicas com a *Vigna radiata*. Que de acordo com Adsule et al (1986) é um tipo de feijão cultivado em condições tropicais e subtropicais. Enquanto que a soja *Glycine max* é uma cultura que se destaca por seu grande sucesso a nível de produção nacional (KLAHOLD., et al 2005). A *Lotus japonicus* é uma espécie de leguminosa muito utilizada nos programas de melhoramento genético de plantas (SATO et al., 2008). Quando feito a análise do peptídeo sinal pelo programa SignalP não foi possível observar a presença dele na sequência proteica.

A estrutura tridimensional da sequência proteica da catalase do feijão pode ser observada abaixo (Figura 1).



Figura 1. Estrutura tridimensional da sequência proteica da catalase

Em relação a localização subcelular ela está presente na mitocôndria com uma probabilidade de 51,6%. Com uma confiança normal (0,39) de que essa previsão é confiável. A razão mais importante para fazer esta previsão é o grande número de resíduos básicos no C-terminal. 51% das proteínas da mitocôndria têm um atributo semelhante, enquanto apenas cerca de 7% das proteínas da via secretada apresentam essa propriedade.

Além disso, a proteína tem um meio N-terminal muito carregado negativamente. 56% das proteínas da mitocôndria têm um atributo semelhante, enquanto apenas cerca de 12% das proteínas do citoplasma e do núcleo apresentam essa propriedade. Existem mais propriedades que suportam a localização prevista.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos com este trabalho é possível afirmar que a enzima da catalase no feijão apresenta uma sequência genômica e proteica estando localizada principalmente na mitocôndria e com os trabalhos publicados na ferramenta BLAST é possível levantar a hipótese de que a catalase por esta relacionada ao metabolismo do vegetal com a oxidação do peróxido de hidrogênio pode auxiliar na defesa contra o fungo *Sclerotinia*

sclerotiorum. Nesse sentido, estudar os genes que expressão essa enzima é o primeiro passo para a compreensão de como elas atuam nas diversas plantas.

REFERÊNCIAS

- ADSULE, R. N. et al. Chemistry and technology of green gram (*Vigna radiata* [L.] Wilczek). **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 25, n. 1, p. 73-105, 1986.
- ALTSCHUL, S. F.; MADDEN, TL, SHAFFER AA, ZHANG J, ZANGH Z, MILLER W, LIPMAN DJ. Gapped Blast and PSI-Blast a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.*, v.25, p. 3389-3402, 1997.
- CARNEIRO, J.E. de S. Alternativas para obtenção e escolha de populações segregantes no feijoeiro. 2002. 134p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras
- DA SILVA, Osmira Fátima; WANDER, Alcido Elenor. O feijão-comum no Brasil: passado, presente e futuro. **Embrapa Arroz e Feijão-Documentos (INFOTECA-E)**, 2013.
- JONES, J. D. & DANGL, J. L. 2006. The plant immune system. *Nature*, 444: 323-329.
- KLAHOLD, Celestina Alflen et al. Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à ação de bioestimulante. 2005.
- MYSORE, K.S. & RYU, C. 2004. Nonhost resistance: how much do we know? *Trends in Plant Science*, 9(2): 97-104.
- PARISI, João José Dias; PATRÍCIO, Flávia Rodrigues Alves; OLIVEIRA, Silvânia Helena Furlan de. Método do rolo de papel toalha modificado para a detecção de *Sclerotinia sclerotiorum* em sementes de feijão. **Summa Phytopathologica**, v. 32, p. 288-290, 2006.
- SATO, Shusei et al. Genome structure of the legume, *Lotus japonicus*. **DNA research**, v. 15, n. 4, p. 227-239, 2008.
- SCANDALIOS, John G.; GUAN, Lingqiang; POLIDOROS, Alexios N. Catalases in plants: gene structure, properties, regulation, and expression. *Cold Spring Harbor Monograph Series*, v. 34, p. 343-406, 1997.