



IDENTIFICAÇÃO *In silico* DE PROTEÍNAS CANDIDATAS A MIK2 NO GENOMA DE *Vitis vinífera*

LORENA GRACIELLY DE ALMEIDA SOUZA, PATRICIA PRADO NASSER, LOUIZA LOURRANNE MENDES PEREIRA, ZILDA CRISTINA MALHEIROS, ELISMAR PEREIRA DE OLIVEIRA

RESUMO

A cultura da videira (*Vitis vinífera*) é produzida em diversas regiões, porém a ocorrência de fitopatógenos pode diminuir a produtividade. Os fungos fitopatogênicos são extremamente prejudiciais a cultura, portanto, a busca por métodos de controle eficientes é extremamente importante. A utilização de cultivares resistentes é um dos métodos mais eficientes, porém são escassas as cultivares disponíveis. A ativação do sistema de defesa das plantas pode ser de diferentes modos, como através do reconhecimento dos PAMPs (padrões moleculares associados a patógenos) dos patógenos através dos PRRs (receptores de reconhecimento de padrões) encontrados nas plantas, que levam a ativação da PTI (imunidade desencadeada por PAMPs), sendo a primeira linha de defesa da planta, considerada a imunidade inata. Identificar PRRs em plantas contribui para os programas de melhoramento molecular, diante disso, objetivou-se identificar *in silico* o PRR MIK2 descrito em *A. thaliana* no genoma de *V. vinífera*. Foi realizado o BLASTp utilizando a sequência de referência de *A. thaliana* no genoma de *V. vinífera* no banco de dados NCBI, sendo obtidos dados referentes a estas proteínas. Estas foram submetidas a análise filogenética juntamente com o gene ETR, descrito em *A. thaliana* para fins de comparação. Foram selecionadas três sequências candidatas em *V. vinífera* Vv_MIK2_1, Vv_MIK2_2 e Vv_MIK2_3, que apresentaram valor de E-value igual a 0.00, e porcentagem de identidade de 52.48%, 52.67% e 52.14% respectivamente. Através da análise filogenética foi possível observar que as sequências candidatas estão próximas filogeneticamente da sequência de referência MIK2. Foram selecionadas três sequências candidatas a MIK2 em *V. vinífera*, com fortes indicativos de serem a proteína de interesse.

Palavras-chave: PTI, PAMPs, BIOINFORMÁTICA, FITOPATOLOGIA, VIDEIRA

1 INTRODUÇÃO

A cultura da videira (*Vitis vinífera*), é produzida em diversas regiões do Brasil, movimentando a economia e gerando uma série de empregos, porém há fatores bióticos e abióticos que influenciam negativamente a produção. Dentre os fatores bióticos, está a ocorrência de fitopatógenos, dentre eles bactérias, vírus, nematoides e fungos, que são os de maior ocorrência no campo (Pessenti *et al.*, 2021).

A busca por métodos de controle eficiente de fungos, é de suma importância para garantir a produção, sendo que a utilização de cultivares resistentes é um dos métodos mais eficazes. A identificação de genes alvo para programas de melhoramento molecular é fundamental para isso (Ribeiro *et al.*, 2016).

As plantas possuem receptores de reconhecimento de padrão (PRRs) que são capazes de reconhecer padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), que são áreas extremamente conservadas nos patógenos, e a partir disso enviar sinais para o núcleo afim de

ativar a imunidade desencadeada por PAMPs (PTI), que é a primeira linha de defesa da planta (Jones e Dangl, 2006; ZIPFEL, 2009).

É descrito na literatura o PRR MIK2 (MDIS1-INTERACTING RECEPTOR LIKE KINASE2), descrito como capaz de fazer o reconhecimento de PAMPs de fungos fitopatogênicos (Chaudhary *et al.*, 2020; Hou *et al.*, 2021).

A identificação de PRRs é de grande importância para os programas de melhoramento molecular, para maior compreensão das relações planta-patógeno. Diante disso, objetivou-se identificar *in silico* proteínas candidatas ao PRR MIK2 no genoma de *V. vinífera*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As sequências candidatas foram a MIK2 foram obtidas a partir do genoma de *V. vinífera* disponível no banco de dados de dados do NCBI (National Center for Biotechnology Information), sendo baseado no princípio de similaridade de sequência.

Foi realizado um BLASTp (Align Sequences Protein BLAST) com parâmetros padrão), e as sequencias comparadas com MIK2 descrito em *Arabidopsis thaliana* e disponível no banco de dados TAIR (The Arabidopsis Information Resource). As proteínas foram escolhidas de acordo com menores valores de E-value e maiores valores de porcentagem de identidade e porcentafem de cobertura (query cover).

Posteriormente, as sequências selecionadas foram submetidas a análise filogenética, juntamente com a sequência de referência de MIK2 de *A. thaliana* e o PRR ETR descrito em *A. thaliana* para fins de comparação. As proteínas foram alinhadas pelo MAFFT versão 7 e depositas no software Mega versão 11 usando o método Neighbor Joining com bootstrap de 1000 replicações para obtenção da árvore filogenética.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da análise BLASTp foi possível selecionar três sequências (XP_019082224.1, XP_002278590.1 e XP_010663893.1) no genoma de *V. vinífera* (Tabela 1). Os valores de porcentagem de identidade variaram entre 52,14% a 52,48%, enquanto o valor de query cover foi de 96% para todas as sequências, assim como o valor de E-value: 0.00 não variou, o que indica alta similaridade entre elas. As três sequências se encontram localizadas no cromossomo 17, e o tamanho apresentado por elas variou de 1037 a 1073 aminoácidos (Tabela 1).

Tabela 1. Análise BLASTp de sequências candidatas a MIK2 em *V. vinífera*.

Sequência	Max score	Total score	Queryc over	Evalue	Per identi	Acesso	Crn	Tamanho
MDIS1-interactin g receptor like kinase 2 [Vitis vinifera]	1018	1018	96%	0.00	52.48 %	XP_019082224. 1	17	1038 aa
MDIS1-interactin g receptor like kinase 2 [Vitis vinifera]	1015	1015	96%	0.00	52.67 %	XP_002278590. 1	17	1037 aa

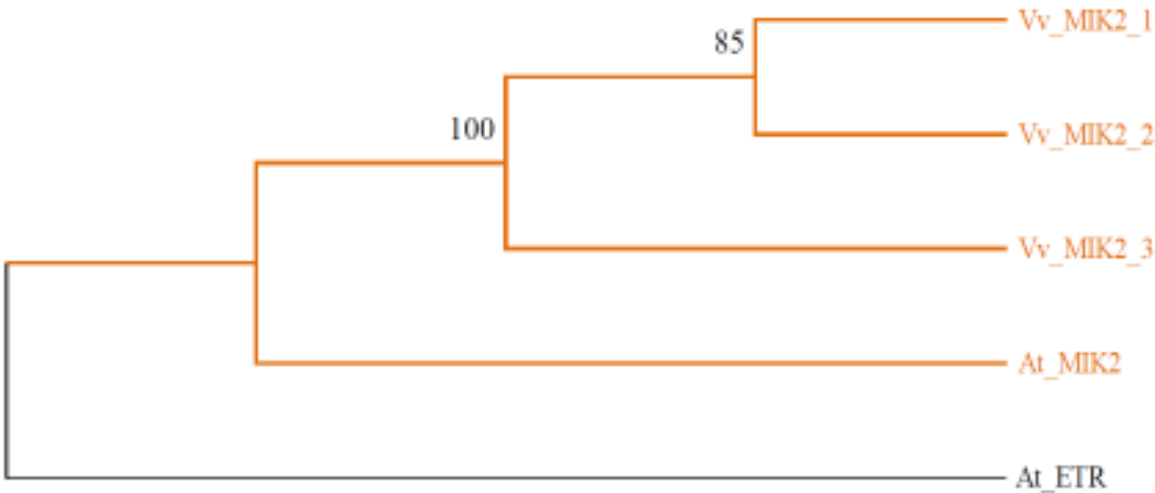
MDIS1-interactin g receptor like kinase 2- like [<i>Vitis vinifera</i>]	1003	1003	96%	0.00	52.14 %	XP_01066 3893. 1	17	1073 aa
--	------	------	-----	------	---------	---------------------	----	---------

Crm: cromossomo.

A análise filogenética foi baseada na comparação das sequências candidatas de *V. vinífera* com a sequência de MIK2 descrita em *A. thaliana*, e com a sequência de ETR, também descrita em *A. thaliana*, que apresenta função similar a MIK2 (Lashbrook, Tieman e Klee, 1998).

A árvore obtida demonstrou uma filogenia bem definida, com a formação de dois grupos distintos, onde o primeiro grande grupo formado agrupou a sequência de referência de MIK2 (*At_MIK2*), e as candidatas *Vv_MIK2_1* (*XP_019082224.1*), *Vv_MIK2_2* (*XP_002278590.1*) e *Vv_MIK2_3* (*XP_010663893.1*) candidatas em *V. vinifera* (Figura 1). O clado formado foi constituído pela sequência de ETR, mostrando que se tratam de proteínas distintas, e reforçando que as sequências candidatas se tratam do MIK2 em *V. vinifera*.

Figura1. Análise filogenética de MIK2 de *V. vinifera*, *A. thaliana* e do gene ETR de *A. thaliana*. A árvore filogenética foi construída usando o método Neighbor Joining com bootstrap de 1000 replicações, no software o MEGA 11. O grupo formado pelas sequências candidatas a MIK2 estão em marrom.



O MIK2, já foi descrito em *A. thaliana*, porém há muitas espécies em que ainda não foi caracterizado. Ele é descrito como receptor de PAMPs de origem fúngica (Hou *et al.*, 2021). As sequências selecionadas como candidatas em *V. vinifera* apresentaram proximidade filogenética com a sequência de referência, é um indicativo da presença destas proteínas no genoma da videira, sendo que MIK2 exerce papel importante para ativação da defesa das plantas, por ser descrito como envolvido em outros processos fisiológicos, como respostas ao estresse após danos na parede celular, tolerância ao sal, crescimento radicular e resistência ao importante patógeno fúngico *Fusarium oxysporum* (Rhodes *et al.*, 2021).

4 CONCLUSÃO

Foram selecionadas as sequências *Vv_MIK2_1*, *Vv_MIK2_2* e *Vv_MIK2_3* como prováveis PRRs (MIK2) no genoma de *V. vinifera*, contribuindo assim para programas de

melhoramento molecular da videira.

REFERÊNCIAS

- CHAUDHARY, A.; CHEN, X.; GAO, J.; LEŚNIEWSKA, B.; HAMMERL, R.; DAWID, C.; SCHNEITZ, K. The Arabidopsis receptor kinase STRUBBELIG regulates the response to cellulose deficiency. **PLoS Genetics**, 2020.
- HOU, S. *et al.* The Arabidopsis MIK2 receptor elicits immunity by sensing a conserved signature from phytoctokines and microbes. **Nature Communications**, 2021.
- JONES, J. D. G.; DANGL, J. L. **The plant immune system** *Nature*, 2006.
- LASHBROOK, C. C.; TIEMAN, D. M.; KLEE, H. J. Differential regulation of the tomato ETR gene family throughout plant development. **Plant Journal**, 1998.
- PESENTI, I. L.; AYUB, R. A.; MELO, H. F.; MARTINS, W. S.; WIECHETECK, L. H.; BOTELHO, R. V. Qualidade fenólica em cultivares de uva submetida a poda verde e regulador hormonal. **Research, Society and Development**, 2021.
- RHODES, J.; YANG, H.; MOUSSU, S.; BOUTROT, F.; SANTIAGO, J.; ZIPFEL, C. Perception of a divergent family of phytoctokines by the Arabidopsis receptor kinase MIK2. **Nature Communications**, 2021.
- RIBEIRO, F. D. C.; LEMUS ERASMO, E. A.; ROCHA, F. D. S.; MORAES, E. B. DE; MATOS, E. P. DE. Associação de fungicida protetor com fungicidas sistêmicos no controle de mancha-alvo na cultura da soja. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 2016.
- ZIPFEL, C. Early molecular events in PAMP-triggered immunity. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, n. 4, p. 414–420, 2009.