



## XXXVI CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Biológico - São Paulo, SP - 19 a 21 de Fevereiro de 2013

### SILENCIAMENTO GÊNICO VISANDO RESISTÊNCIA NA INTERAÇÃO

#### POTYVIRUS/TOMATEIRO

Poliane Alfenas-Zerbini, Fernanda Prieto Bruckner e André da Silva Xavier.

Universidade Federal de Viçosa, Dep. de Microbiologia, Viçosa, MG, 36570-000. E-

mail: [palfenas@ufv.br](mailto:palfenas@ufv.br)

Os vírus são organismos com genomas pequenos, de organização simples, que codificam em média 3 a 10 proteínas. O sucesso da infecção depende da manipulação da célula pelo vírus, por meio de interações complexas que ocorrem entre fatores virais e fatores do hospedeiro. Durante a coevolução, os vírus de plantas desenvolveram a capacidade de modular a expressão de alguns genes do hospedeiro, ou alterar a função cognata de proteínas para obter sucesso em sua colonização e perpetuação. Essas alterações induzidas pelos vírus podem culminar em elevados níveis de especialização, tornando indissociável o vínculo com seus hospedeiros. No intuito de compreender melhor os processos relacionados à infecção de tomateiros pelo potyvírus *Pepper yellow mosaic virus* (PepYMV) uma biblioteca subtrativa foi construída 72 horas após a infecção. Diversos genes cuja expressão foi alterada pela infecção foram identificados. Dentre os genes induzidos, se encontra o gene que codifica a *Translationally controlled tumor protein* (TCTP) e uma DnaJ. O objetivo deste trabalho foi estudar a contribuição da TCTP e da DnaJ de tomateiro durante a infecção pelo potyvírus PepYMV. Plantas de *Nicotiana benthamiana* silenciadas para TCTP ou para DnaJ por VIGS (*Virus Induced Gene Silence*) foram utilizadas para estudar o efeito do silenciamento na infecção viral, sendo que as plantas silenciadas acumularam menos vírus no início da infecção. Plantas transgênicas silenciadas para TCTP apresentaram sintomas muito atenuados ou permaneceram assintomáticas e a carga viral foi drasticamente reduzida. A expressão individual das proteínas de origem viral em *N. benthamiana* identificou a P3 e a CP como capazes de induzir a expressão de TCTP em níveis semelhantes aos observados durante a infecção pelo PepYMV, sendo que a expressão da proteína NIB reduziu a expressão de TCTP. A verificação da ocorrência de interações diretas entre a TCTP e as proteínas virais, por ensaio de duplo híbrido, mostrou que a TCTP não interage separadamente com as proteínas de origem viral. Análises por espectrometria de massa identificaram diversas proteínas que possivelmente interagem com a TCTP durante a infecção viral. A localização subcelular de TCTP fusionada à proteína GFP em plantas de *N. benthamiana* sadias ou infectadas pelo PepYMV foi analisada por microscopia confocal. Em plantas sadias a localização de TCTP foi nuclear e citoplasmática, porém em plantas infectadas aos 14dpi, TCTP foi redirecionada por completo para o citosol. Os resultados obtidos sugerem que tanto TCTP quanto DnaJ são proteínas que regulam positivamente o ciclo de infecção do PepYMV, sendo necessárias para o desenvolvimento da doença. A capacidade das plantas em montar uma resposta de defesa eficiente depende da capacidade do hospedeiro em reconhecer o patógeno e iniciar um mecanismo de defesa que limite a infecção. Portanto, o conhecimento básico dos mecanismos genéticos, bioquímicos e moleculares que estão envolvidos nas etapas iniciais da interação vírus-hospedeiro torna-se extremamente relevante, pois pode permitir o desenvolvimento de estratégias mais eficientes de controle, baseadas na ruptura destas interações.