# Análise genômica de S-RNases em espécies do gênero *Coffea* e desenvolvimento de *primers* para o estudo da autoincompatibilidade gametofítica

Tulio Morgan[1]*, Angélica de Souza Gouveia[1], Rodrigo Barros Rocha[1,2]

[1]Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural – INCAPER; [2]Embrapa Café;
*tulio.morgan@incaper.es.gov.br.

A autoincompatibilidade gametofítica (AIG) é um mecanismo de reconhecimento molecular que impede a autofecundação, contribuindo para a manutenção da diversidade genética em angiospermas. Em muitos grupos vegetais, a AIG é controlada pelo locus multialélico S, que codifica proteínas S-RNase expressas no estilete e proteínas F-box específicas do pólen. Quando há incompatibilidade entre as proteínas F-box e as S-RNases, as enzimas permanecem ativas, resultando na degradação de RNAs do tubo polínico e na interrupção de seu crescimento. De modo geral, as S-RNases apresentam regiões hipervariáveis (HV), importantes determinantes da especificidade alélica, por mediarem o reconhecimento entre S-RNases e proteínas F-box. Embora esse mecanismo esteja bem estabelecido em algumas famílias botânicas, sua base molecular em *Coffea* permanece pouco compreendida, dificultando a caracterização dos grupos de compatibilidade entre plantas. Este trabalho teve como objetivo avaliar, por meio de análises computacionais de genomas públicos, a diversidade genética de genes candidatos a S-RNases em espécies do gênero *Coffea* e desenvolver *primers* para amplificação das regiões HV como ferramenta molecular para auxiliar a identificação de grupos de compatibilidade. Para isso, foram analisados 9 genomas públicos de *Coffea* spp., incluindo *C. canephora* (1), *C. humblotiana* (1), *C. eugenioides* (2) e *C. arabica* (5). Genes codificadores de S-RNases foram identificados utilizando o programa MiniProt e submetidos à reconstrução filogenética por meio do RAxML-NG. A diversidade das sequências foi investigada por alinhamento múltiplo, permitindo a identificação das regiões HV e o desenvolvimento de *primers* direcionados aos candidatos com maior potencial de participação no sistema de autoincompatibilidade. Os parâmetros físico-químicos dos *primers*, incluindo temperatura de fusão, teor de GC e propensão à formação de grampos e dímeros, foram avaliados com a biblioteca Primer3 implementada em Python. Adicionalmente, foi realizada modelagem estrutural de uma S-RNase de *C. canephora* para fornecer evidências complementares à anotação dos genes preditos, comparando-a com a estrutura cristalográfica da S-RNase-3 de *Pyrus pyrifolia* (Protein Data Bank: 1IQQ). Foram preditos de 6 a 8 genes de S-RNases em cada genoma, sendo que em *C. canephora* foram identificados sete genes distribuídos em pelo menos três cromossomos, com regiões codificadoras de aproximadamente 700 pb e um íntron. O conjunto de sequências preditas de *Coffea* spp. agrupou-se em três clados filogenéticos, todos pertencentes à classe III de S-RNases e, portanto, potencialmente envolvidos na AIG. Entretanto, os clados I e II apresentaram baixa variabilidade das sequências, com 47 de 238 (20%) e 36 de 254 (14%) posições variáveis, respectivamente, um padrão pouco compatível com um locus S funcional, sujeito à seleção balanceadora dependente da frequência e, consequentemente, tendente a apresentar elevado polimorfismo. Em contraste, o clado III apresentou maior variabilidade, com 176 de 255 (69%) posições variáveis, e foi selecionado para o desenvolvimento de *primers* direcionados às regiões HV. Em etapa posterior, esses *primers* serão validados *in vitro* e espera-se que permitam discriminar grupos de compatibilidade por meio da caracterização molecular dos alelos S. Assim, este trabalho pode contribuir para o desenvolvimento de ferramentas que auxiliem na identificação molecular de grupos de compatibilidade em *Coffea*.

Palavras-chave: AIG; *Coffea canephora*; locus S.

Agradecimentos: Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca (Seag-ES); Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper).