



20º Seminário de
Iniciação Científica e
4º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2016

21 a 23 de setembro

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*



20º Seminário de
Iniciação Científica e
4º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2016

21 a 23 de setembro

Embrapa Amazônia Oriental
Belém, PA
2016



EXPRESSÃO DIFERENCIAL DE PROTEÍNAS EM RAÍZES DE PALMA DE ÓLEO SOB AMARELECIMENTO FATAL

Sidney Vasconcelos do Nascimento¹, Marcelo Murad Magalhaes², Rafael Borges da Silva Valadares³,
Roberto Lisboa Cunha²

¹Mestrando Universidade Federal Rural da Amazônia, em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária, svn_live@hotmail.com

²Pesquisador Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Análise de Sistemas Sustentáveis, marcelo.magalhaes@embrapa.br

²Pesquisador Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Análise de Sistemas Sustentáveis, roberto.cunha@embrapa.br

³Pesquisador Instituto Tecnológico Vale, rafael.borges.valadares@itv.org

Resumo: Apesar da alta incidência de mortes de palma de óleo (*Elaeis guineensis* var. *tenera* acarretadas pelo Amarelecimento Fatal (AF), a causa inicial desta anomalia segue desconhecida ou controversa. Técnicas em proteômica vêm sofrendo adaptações para obter o perfil protéico qualitativo e quantitativo com maior velocidade e precisão, podendo contribuir para a obtenção de resultados mais convincentes na elucidação das possíveis causas desta doença. O objetivo deste trabalho foi identificar alterações no proteoma de palma de óleo afetada pelo AF por meio da cromatografia líquida bidimensional, acoplada a espectrometria de massas. O proteoma diferencial foi obtido a partir da comparação entre plantas com sintomas de AF com plantas assintomáticas. O presente trabalho revelou o acúmulo diferencial de proteínas em plantas com AF comparando com assintomática. Foi identificado um total de 417, Dessas, 127 e 162 proteínas tiveram regulação positiva e negativa, respectivamente, sendo que 29 foram exclusivas de plantas com sintomas e 77 de assintomáticas. Esta primeira análise proteômica em plantas acometidas pelo AF revelou proteínas diferencialmente abundantes comparando plantas nestas condições com plantas assintomáticas. Os resultados obtidos mostraram que as técnicas em proteômica utilizadas aqui devem contribuir para resultados mais convincentes na elucidação das possíveis causas desta doença em pesquisas futuras.

Palavras-chave: amarelecimento fatal, palma de óleo, proteômica comparativa



Introdução

O dendezeiro (*Elaeisguineensis*Jacq.) é originário da Costa Ocidental da África, podendo ser encontrada desde o Senegal até a Angola (TRINDADE et al., 2005). Evidências genéticas mais recentes como a variabilidade genética encontrada em populações da Nigéria indicam que este País pode ter sido seu ponto de origem (BAKOUMÉ et al., 2015; BARCELOS et al., 2015).

Apesar do cenário amplamente favorável para a cultura do dendezeiro, o aparecimento do Amarelecimento Fatal (AF) na década de 80, tem sido um empecilho para o crescimento desta cultura no mundo inteiro.

Sabendo que respostas a estresses em plantas ocorrem nos níveis molecular, celular, bioquímico e fisiológico (URANO et al., 2010), é fundamental identificar alterações que ocorrem nos componentes protéicos e que estejam relacionadas ao aparecimento dos sintomas do AF ou possíveis mecanismos de tolerância a esta desordem em palma de óleo. Entende-se portanto que um fenótipo sensível ou tolerante é o resultado da expressão diferencial de proteínas em resposta a alterações ambientais, e que a análise do proteoma é fundamental para entender os mecanismos de tolerância das plantas (GONG et al., 2015). Diante disto, o objetivo deste trabalho foi identificar alterações no proteoma de palma de óleo (*Elaeis guineensis* var. *tenera*) afetadas pelo AF.

Material e Métodos

As amostras de raízes de dendezeiro foram coletadas da área de cultivo pertencente a empresa MARBORGES, situada no município de Mojú, no estado do Pará. Foram amostradas raízes de plantas assintomáticas e de plantas acometidas pelo Amarelecimento fatal no estágio intermediário da doença. Foram amostradas raízes de três plantas para cada condição, sendo estas homogeneizadas para formar um *pool* com o objetivo de eliminar o efeito do genótipo e do local de plantio. Após a coleta as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido. As proteínas foram isoladas de acordo com protocolo proposto e quantificadas no Qubit 2.0 (invitrogen). A digestão de proteínas foi realizada com tripsina (20 ng/ μ L), sendo em seguida dessalinizadas em colunas *Sep-Pak* tC18 de 50 mg. Após a dessalinização e digestão, foram submetidas às análises por 2D-UPLC/MS^E. O tratamento dos dados foram realizados nos programas Scaffold 4 (proteome software) e Blast2Go (Biobam).



Resultados e Discussão

A análise por 2D-UPLC/MS^E identificou um total 417 proteínas em raízes de *E. guineensis*. Das proteínas identificadas, 29 e 77 foram exclusivas de plantas com sintomas e assintomáticas, respectivamente (Figura 1).

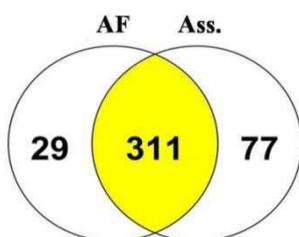


Figura 1. Diagrama de Venn das proteínas identificadas em raízes de *E. guineensis*. Todas as proteínas em assintomáticas (Ass.), em plantas com sintomas do Amarelecimento Fatal (AF) e identificadas nas duas condições (intersecção amarela).

Foram identificadas 127 proteínas reguladas positivamente e 162 (dados não mostrados). Para melhor refinamento dos dados foram inseridas nas análises de proteínas diferencialmente expressas somente as de $\log_2 \text{fold change} \geq 1$ ou ≤ -1 . Entre as proteínas mais abundantes no atual *dataset* se destacam aquelas envolvidas em mecanismos de resposta a estresse e defesa.

Conclusão

Esta primeira análise proteômica em plantas acometidas pelo AF revelou proteínas diferencialmente abundantes com potencial para serem foco em estudos posteriores a fim de refinar informações para análises de concentração de metabólitos, de atividade enzimática e expressão gênica. Portanto, os resultados obtidos mostraram que as técnicas em proteômica utilizadas aqui devem contribuir para resultados mais convincentes na elucidação das possíveis causas desta doença em pesquisas futuras.



Referências Bibliográficas

BAKOUMÉ, C.; WICKNESWARI, R.; SIJU, S.; RAJANAIDU, N.; KUSHAIRI, A.; BILLITTE, N. Genetic diversity of the world's largest oil palm (*Elaeisguineensis* Jacq.) field genebank accessions using microsatellite markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 62, n. 3, p. 349-360, Mar. 2015.

BARCELOS, E.; RIOS, S. A.; CUNHA, R. N. V.; LOPES, R.; MOTOIKE, S. Y.; BABIYCHUK, E.; SKIRYCH, A.; KUSHNIR, S. Oil palm natural diversity and the potential for yield improvement. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, article 190, 2015.

GONG, F.; HU, X.; WANG, W. Proteomic analysis of crop plants under abiotic stress conditions: where to focus our research? **Frontiers In Plant Science**, v. 6, article 418, 2015.

TRINDADE, D. R.; POLTRONIERI, L. S.; FURLAN JÚNIOR, J. Abordagem sobre o estado atual das pesquisas para a identificação do agente causal do amarelecimento fatal do dendezeiro. In: POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R.; SANTOS, I. P. (Ed.). **Pragas e doenças de cultivos amazônicos**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2005. p. 439-450.

URANO, K.; KURIHARA, Y.; SEKI, M.; SHINOZAKI, K. 'Omics' analyses of regulatory networks in plant abiotic stress responses. **Current Opinion In Plant Biology**, v. 13, n. 2, p. 132-138, Apr. 2010.