

## PROTEÍNAS EXPRESSAS DURANTE A REDIFERENCIAÇÃO IN VITRO DE GENÓTIPOS DE ALGODOEIRO RECALCITRANTES E NÃO RECALCITRANTES

Taiza da Cunha Soares<sup>1</sup>; Antônio Silvio do Egito Vasconceos<sup>2</sup>; Liziane Maria de Lima<sup>3</sup>; Carliane Rebeca Coelho da Silva<sup>1</sup>; Julita Maria Frota Chagas Carvalho<sup>3</sup>; José Jaime Vasconcelos Cavalcanti<sup>3</sup>; Roseane Cavalcanti dos Santos<sup>3</sup>.

*E-mail:* taizabiologa@gmail.com

<sup>(1)</sup>RENORBIO/ UFRPE; <sup>(2)</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos; <sup>(3)</sup>Embrapa Algodão

### RESUMO

A embriogênese somática (ES) é uma prática amplamente utilizada para regeneração de plantas nos métodos de transformação genética. Apesar de já estabelecido, os procedimentos envolvem mecanismos de desdiferenciação celular e, por conseguinte, aquisição de competência embriogênica, os quais limitam a eficiência desta via em algumas culturas, especialmente as recalcitrantes, como o algodoeiro. A rota biossintética da ES envolve a expressão diferencial de vários genes que codificam proteínas com habilidade embriogênica, embora algumas estejam ausentes ou inativas em espécies recalcitrantes. Visando aumentar a base de conhecimento sobre essas proteínas realizou-se o presente estudo que teve por objetivo proceder uma análise prévia sobre o perfil das proteínas totais, expressas durante a fase de rediferenciação celular, usando como referência genótipos recalcitrantes (GR) e não recalcitrantes (GNR) de algodão. Seis genótipos foram utilizados no estudo, sendo 3 GNR (Coker 312, BRS Rubi e BRS Seridó) e 3 GR (BRS Topázio, CNPA Precoce 1 e BRS 201). Proteínas totais foram extraídas dos genótipos utilizando-se calos liofilizados (0,04 g), dissolvidos em tampão Tris-HCl (1200 µL), pH 6,8, na presença de SDS (0,1% ) e β-mercaptoetanol (5%) e homogeneizado em almofariz por 20 min. Após homogeneização, as amostras foram transferidas para tubos (1,5 mL), acrescentado 300 µL de glicerol (10%), e azul de bromofenol (0,01%), agitadas por 1 h a 25 °C e centrifugadas (10000xg/10 min/25 °C). Os sobrenadantes recuperados foram aquecidos a 100 °C por 3min e volumes de 10µl de amostras foram depositados em mini gel para análise eletroforética. A SDS-PAGE foi realizada mediante géis de poli(acrilamida) com concentração de 4,9% em 125mM de tampão Tris-HCl, pH 6,8 e com géis de separação com 15,4% de poli(acrilamida) em 380mM de tampão Tris-HCl, pH 8,8, contendo 0,1% de SDS. Após a corrida as proteínas foram reveladas com nitrato e os géis escaneados para análise. Perfis eletroforéticos distintos foram observados entre as cultivares selecionadas como GR e GNR, destacando-se a presença de uma proteína a 6,5 kDa apenas no grupo GNR mostrando esta proteína potencial para ser utilizada como marcadora do GNR. Os resultados se mostram bastante promissores pois abrem perspectiva para identificação de proteínas e ou peptídeos relacionados com a recalcitrância dos genótipos, podendo posteriormente serem utilizados como sondas para facilitar os trabalhos de transformação genética de algodão.

### APOIO

Embrapa Algodão, Capes