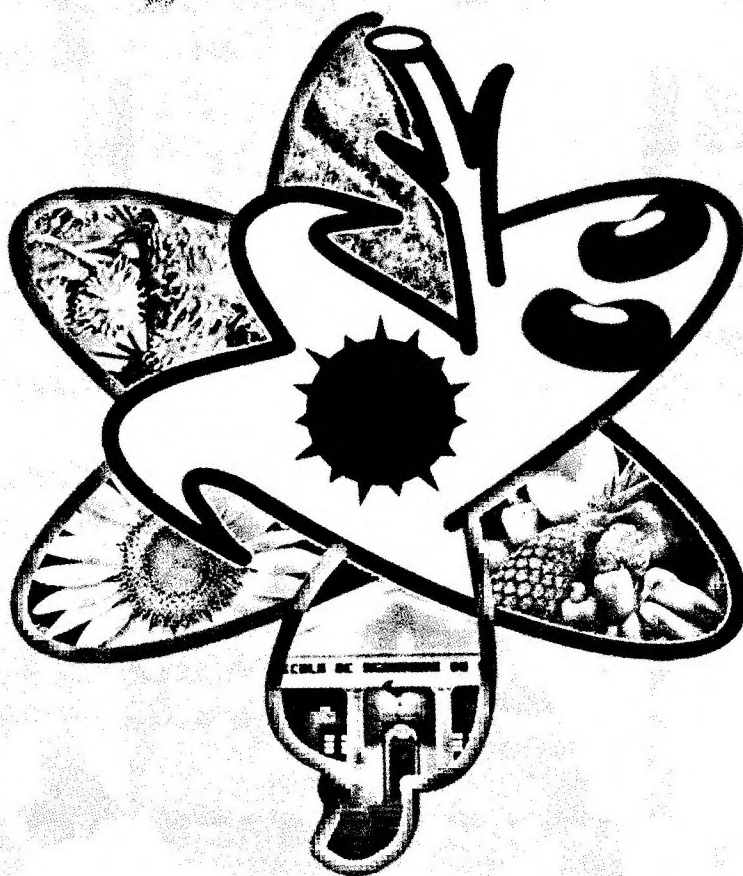


CBFV²⁰⁰⁹

XII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal
“Desafios para produção de alimentos e bioenergia”
7 a 12 de setembro de 2009 - Fortaleza - CE



LIVRO DE RESUMOS

Promoção:



Sociedade
Brasileira de
Fisiologia
Vegetal

Realização:



UFC

Embrapa

Agroindústria Tropical

para a agroindústria e economia do Brasil. O aumento da produção de cana-de-açúcar, decorrente da crescente demanda por biocombustíveis, implica na necessidade de obter variedades mais produtivas e adaptadas a fatores ambientais limitantes como o estresse hídrico. Assim, torna-se relevante o conhecimento dos genes e proteínas responsivos a estresses, potencialmente úteis ao melhoramento genético. Este trabalho objetivou a identificação de peptídeos produzidos diferencialmente em resposta ao estresse hídrico em duas variedades comerciais: RB867515 (tolerante à seca) e RB72454 (sensível à seca), através de análise proteômica. Cada variedade foi submetida à seca ou irrigação em campo, durante seis meses, quando as proteínas totais de folha foram extraídas através de método fenólico, e sua concentração determinada pelo método de Bradford. Foram aplicados 50 µg de extrato protéico em fitas para focalização isoeletrica com pH imobilizado em gradiente de 3 a 10, posteriormente separado por eletroforese bidimensional (2D-SDS-PAGE). Foram obtidos quatro géis, corados com Coomassie-blue, digitalizados em scanner e as respectivas imagens foram analisadas no programa Image Master 2D Platinum v.6.0 (GE Healthcare). Durante as análises, foram consideradas as variáveis tratamento e variedade, resultando em quatro comparações entre amostras contrastantes, onde foram identificadas várias proteínas diferencialmente expressas e potencialmente associadas ao estresse hídrico. Foram encontradas proteínas de massa molecular entre 14,4 e 97 kDa, e a faixa preferencial de pI observada foi entre pH 4 e 7. Os peptídeos (spots) diferenciais serão identificados por espectrometria de massas para a identificação presumível dos genes codificantes. Os resultados sugerem a ativação de diferentes mecanismos associados à resposta à seca pelas variedades sensível e tolerante à seca, em cada tratamento, visto que proteínas distintas foram exclusivas de cada condição ou variedade.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar, estresse hídrico, proteômica.

Apoio Financeiro: CNPq, FINEP

59

Inheritance of coffee leaf rust resistance and identification of AFLP markers linked to the resistance gene

Giovani Greigh de Brito¹, Eveline Teixeira Caixeta², Ana Paula Gallina³, Valdir Diola³, Eunize Maciel Zambolim³, Laércio Zambolim³, Marcelo Elhers Loureiro⁴

¹Centro Nacional de Pesquisa de Algodão (CNPq) – Embrapa Algodão, Laboratório de Fisiologia Vegetal, Rua Osvaldo Cruz, 1143, Centenário, Caixa Postal 174, CEP 58428-095, Campina Grande-PB, fone:(83)3315-4329, email: giovani@cnpa.embrapa.br, ²Embrapa Café, Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), Universidade Federal de Viçosa, MG 36570-000, Brazil, ³Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), Universidade Federal de Viçosa, ⁴Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa

The most important disease of *Coffea arabica* is coffee leaf rust caused by the fungus *Hemileia vastatrix*. The purpose of this study was to characterize the inheritance of coffee resistance gene(s) to race II of this pathogen and to identify and map molecular markers linked to this trait. Different populations were used: F₂ (160 plants), BC_r (20), and BC_s (135), derived from a cross between the resistant genotype Híbrido de Timor UFV 427-15 and the susceptible cultivar Catuai Amarelo UFV² 2143-236 (IAC 30). The segregation analysis showed that the resistance of Híbrido de Timor to race II of the *H. vastatrix* is conferred by a single dominant gene. The amplification of 176 AFLP (Amplified fragment length polymorphism) primer combinations using bulked segregant analysis (BSA) allowed the identification of three molecular markers linked to the resistance gene. Genetic mapping of these three markers in the F₂ population indicated that they are distributed on both sides, flanking the resistance gene. The markers E.CTC/M.TTT405 and E.CGT/M.TGT300 were found linked to the resistance gene at 8.69 cM, (LOD 18.91) and 28.00 cM (LOD 4.02), respectively, while E.CCT/M.TTC230 was localized on the other side of the gene, at 20.50 cM (LOD 6.15). These markers are the first rust resistance markers identified in Híbrido de Timor and can be useful for marker assisted selection in coffee breeding programs.

Key words: Coffee leaf rust, resistance gene, AFLP marker, Bulked segregant analysis

Organ financier: Embrapa

60

Mutantes de fósforo de *Arabidopsis thaliana* p9 e p23: em busca dos genes mutados

Mércio Luiz Strieder¹, Steffen Abel², Carla Andréa Delatorre³

¹Doutorando PPG-Fitotecnia, Fac.Agronomia/UFRGS e Engenheiro Agrônomo de Desenvolvimento de Produto Syngenta Seeds, Rua Cap. Frederico Virmond, 941, CEP 85065-580, Guarapuava-PR, mercio.strieder@syngenta.com; ²Plant and Environmental Sciences, University of California in Davis-CA, Estados Unidos da América; ³Departamento de Plantas de Lavoura, Fac.Agronomia/UFRGS, Porto Alegre-RS, (51)33086005

Mutantes de *Arabidopsis thaliana* tem ajudado na elucidação da função de genes de diferentes rotas. p9 e p23 são mutantes de *Arabidopsis* com alterações nas respostas ao fósforo (P) e incapazes de crescerem em meio contendo ácidos nucleicos como única fonte de P. Além da caracterização morfo-fisiológica e bioquímica destes mutantes, também deve-se identificar a localização e função do gene mutado, o que poderá contribuir para melhorar a eficiência de uso de nutrientes pelas plantas. Objetivou-se desenvolver população recombinante para mapeamento dos genes mutados em p9 e p23 a um dos cinco cromossomos de *Arabidopsis*. Plantas destes mutantes foram cruzadas com *Landsberg erecta* (LER), doadora de pólen. As sementes F1 tiveram o crescimento radical avaliado condição -Pi/+RNA, selecionando-se aquelas com crescimento similar a LER para autofecundarem em condição de solo. O cruzamento foi confirmado via marcadores moleculares. Coletaram-se sementes F2 separadamente por planta F1 e re-testou-se-as em -Pi/+RNA, mantendo-se apenas aquelas com raiz curta (fenótipo mutante e recessivo) que foram transferidas ao solo para coleta de tecido e extração de DNA. Marcadores do tipo INDELS entre COL e LER foram projetados através do software Vector NTI 9, usando informações disponíveis em www.arabidopsis.org. Inicialmente testaram-se dois marcadores por cromossomo em cada população recombinante. De 130 plantas F2 inicialmente selecionadas para cada população mapeamento, restaram 32 e 38 plantas confirmadas para p9 e p23, respectivamente, devido à presença de falsos-positivos. Nestas, testaram-se outros oito marcadores entre aqueles onde se verificou as menores taxas de recombinação, refinando localização do gene mutado. Em ambos os mutantes, as menores taxas de recombinação (0,0% em p9 e 7,8% em p23) foram obtidas no braço superior do cromossomo 1 junto ao marcador F2M19. Em marcadores adjacentes também verificaram-se taxas de recombinação inferiores a 20%, evidenciando que estes marcadores estão associados aos genes mutados em p9 e p23.

Palavras-chave: *Arabidopsis*, deficiência nutricional, organofosfatos, marcadores INDELS, mapeamento.

Órgão Financiador: CNPq (Proc.473050/2006-4, 140725/2006-7 e 201660/2007-5)

61

Brazilian cowpea transcriptome project: over five million expressed sequence tags to understand salinity and virus resistance

Ederson A. Kido¹, **Valesca Pandolfi**¹, Pedranne K.A.Barbosa¹, Luiz C. B. da Silva¹, Adriano B. da Silva¹, Semiramis J. H. do Monte², Rafael M. S. de S. Brandão², Anaregina de S.Araújo², José A. F. de Castro², Nina da M.Soaes-Cavalcanti¹, Tercilio Calsa-Jr¹, Maurisrael M. Rocha³, Peter Winter⁴, Günter Kahl⁴, Bjorn Rotter⁴, Ralf Horres⁴, Carlos Molina⁴, Ruth Jungmann⁴, Lidiane L. B.Amorim¹, Alberto V. C. Onofre¹, José C. F. Neto¹, Thalles B. Granjeiro⁵, Adriana S. Lima⁵, Marina D. P. Lobo⁵, Laureen M. Houllou-Kido⁶, Reginaldo de Carvalho⁷, Ana C. Wanderley-Nogueira¹, Petra dos S. Barros¹, Gabriela S. Vieira-Mello¹, Ana C. Brasileiro-Vidal¹, Kyria C. de A. Bortoleti¹, Andrea Pedrosa-Harand¹, Paulo P. de Andrade¹, Genira P. de Andrade⁷, Gilvan Pio-Ribeiro⁷, Ilza M. Sittolin⁸, Francisco R. Freire-Filho³, Luiz A.B.de Castro⁹, Ana M.Benko-Iseppon^{1*}

¹Departamento de Genética/UFPE, Av. Prof. Moraes Rego, s/n., Cidade Universitária, CEP:50732-970-Recife,PE, Brasil, fone (81) 21267816, E-mail: valescapandolfi@gmail.com; ²Laboratório de Imonogenética e Biologia Molecular/ UFPI, Terezina, PI, Brasil; ³Embrapa Meio-Norte (CPAMN), Teresina, PI, Brasil; ⁴Johann Wolfgang Goethe Universität, GenXPro, Frankfurt am Main, Germany; ⁵Departamento de Biologia / UFC, Fortaleza, CE, Brasil; ⁶Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste -CETENE, Recife,PE, Brasil; ⁷Departamento de Fitopatologia/UFRPE, Recife, PE, Brasil; ⁸Ministério da Ciência e Tecnologia, SEPED, Brasília, DF, Brasil; ⁹General Project Coordinator

The Cowpea Genome Project in Brazil was able to generate one of the most extensive expression panels considering legume crops around the world. This crop is the most important protein source for Brazilian and African semi-arid regions. Biotic and abiotic stresses have been seriously affecting the productivity of this crop, despite of the existing phenotypic and genetic variability in Brazilian germplasm. Considering biotic stress main concerns regard virus disease that may affect up to 80% of the productivity during the wet season. Aiming to change this situation, the NordEST network (<http://www.vigna.ufpe.br/>) was established, including 12 Laboratories, to generate genomic data useful for cowpea breeding and biotechnology programs. Efforts include generation of over five million transcripts, including 12 EST libraries for biotic (severe mosaic virus) and abiotic (salinity) stresses; with nine SuperSAGE libraries for salinity and severe mosaic virus and two LongSAGE libraries for potyvirus. Two narrow crosses (400 inbred lines F7-F8) have been developed for mapping purposes, and markers (including gene markers, CAPs, dCAPs, DAF, SSR, AFLP, ISSR and RGAs) were developed in order to fine map regions responsible for both above mentioned virus resistance, as well as abiotic stresses and other features (including QTLs) as productivity under drought and salinity conditions, seed color and form as well as

AINFO

plant architecture. Physical chromosome maps are being developed, including microsatellites, rDNA and *Phaseolus vulgaris* BAC probes and shall also integrate marker bulks from important regions of the genetic map, allowing the rapid transference of data among both crops for breeding purposes. The generated data reveals that the main features that collaborate to abiotic and biotic resistance are active in the first hours after stress begin, bringing important clues for breeding purposes.

Key words: Cowpea, Transcriptome, Genetic and Physical Mapping, Virus Resistance.

Financial support: FINEP (RENORBIO Program)/ BNB/ FACEPE.

62

In silico evaluation of NAC transcription factor associated to abiotic stress in the sugarcane transcriptome

Nina da M. Soares-Cavalcanti¹, Ana C. Wanderley-Nogueira¹, Luis C. Belarmino¹, **Valesca Pandolfi¹**, Ana M. Benko-Iseppon¹

¹Departamento de Genética/UFPE, Av. Prof. Moraes Rego, s/n., Cidade Universitária, CEP:50732-970-Recife, PE, Brasil, fone (81) 21267816, E-mail: valescapandolfi@gmail.com;

Transcription factors (TFs) represent a crucial role in development and regulation of metabolic pathways of plants submitted to abiotic stresses. Using eight NAC genes from *Arabidopsis thaliana* as seed sequence, the present work realized a data mining approach in order to find putative NAC orthologous in a collection of 237,954 sugarcane ESTs. The searches using tBLASTn tool revealed relative abundance and diversity of NAC candidate sequences. In general, the eight different studied genes presented similarities with the same clusters; in total, 75 orthologous presented significant alignments, from which 42 sequences with complete NAM domain, 14 with incomplete and in one no CD was found. In the dendrogram generated using MEGA program, with the selected sequences as compared with other procured from GenBank, was possible to classify proteins in 13 groups, four of them including monocots, six with dicots and three with representative of both classes. Such group segregation occurred probably due to the subdomains similarity in the different organisms; NAC proteins contain a highly conserved N-terminal DNA-binding domain, which is divided in five subfamilies. The expression pattern, through direct counting of the reads that composed each cluster and normalization of these data, showed high amount of transcripts in callus tissues, followed by root and leave; the first one by itself represents the result of a stress processes, the second is the first organ that senses and responds to abiotic stresses, for the reduction in water availability causing osmotic imbalance, and the third is involved in the alteration of transpiration and respiration rates.

Key words: abiotic stress, NAC family, sugarcane, data mining, bioinformatic

Financial support: Facepe/ CNPq.

63

Resposta do feijão-caupi ao estresse salino e ao ataque de vírus via bibliotecas de ESTs

Valesca Pandolfi^{1,2}, Pedranne K. de A. Barbosa¹, **Amanda M. da Silva¹**, ³ayara P. V. de Lira¹, Ederson A. Kido¹, Terçilio Calsa Junior¹, Lidiane L. B. Amorim¹, Alberto V. C. Onofre¹, Luiz C. B. da Silva¹, José R. C. Ferreira Neto¹, ⁵emiramis J.H. do Monte², Rafael M. S. de S. Brandão², Anaregina de S. Araujo², José A. F. de Castro², Laureen M. Houllou-Kido³, Thalles B. Granjeiro⁴, Adriana S. Lima⁴, Marina D. P. Lobo⁴, Ilza M. Sittolin⁵, Maurisrael M. Rocha⁵, Francisco R. Freire Filho⁵, Genira P. Andrade⁶, Gilvan Pio-Ribeiro⁶, Ana M.B. Iseppon¹.

¹Departamento de Genética/UFPE, Av. Prof. Moraes Rego, s/n., Cidade Universitária, CEP:50732-970, Recife, PE, Brasil, fone (81) 21267816, E-mail: amanda_ms4@hotmail.com; ²Laboratório de Imonogenética e Biologia Molecular/UFPI, Terezina, PI, Brasil; ³Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste -CETENE, Recife, PE, Brasil; ⁴Departamento de Biologia/UFPA, Belém, PA, Brasil; ⁵Embrapa Meio-Norte (CPAMN), Teresina, PI, Brasil; ⁶Depto. de Fitopatologia/UFRPE, Recife, PE, Brasil.

Danos provocados pelo ataque do vírus do mosaico severo do caupi (CPSMV), bem como pelo processo de salinização do solo são fatores limitantes na produção do feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), favorecendo a redução do crescimento e da produtividade desta cultura. Com base nisso, a análise funcional de genes de feijão-caupi associados a estes estresses tem sido uma das metas do projeto NordEST (<http://www.vigna.ufpe.br/>). Este trabalho teve como objetivo identificar e analisar ESTs geradas a partir de 12 bibliotecas de cDNA de feijão-caupi na presença e ausência de estresse provocado pelo vírus CPSMV e por salinidade. Para cada tratamento foi realizada a extração do RNA total com posterior seleção de RNA mensageiro. A síntese de cDNA foi realizada pela transcriptase reversa e a clonagem direcional dos insertos (1-2 Kb) através de recombinação homóloga com regiões específicas do vetor pDONR222. Até o momento foi gerado um total de 31.938 seqüências da extremidade 5' dos insertos. Após a análise da qualidade,

28.915 ESTs foram consideradas válidas (mínimo de 120 pb, Phred >20), representando um índice de sucesso de 90 %. A montagem dessas ESTs resultou em 24.779 seqüências consenso, sendo constituídas por 22.855 *singletons* (79%) e por 6.060 ESTs (21%), distribuídas em 1.924 *contigs*, com tamanho médio de 818 pb, variando de 2 a 146 ESTs constituintes. O índice de novidade da biblioteca foi avaliado em 86 %. Dos 24.779 *clusters*, 13.134 (53 %) tiveram similaridade com seqüências de nucleotídeos (BlastN) de *A. thaliana*, *G. max*, *L. japonicus* e *M. truncatula*. Destas, 2.827 (21,5 %) seqüências puderam ser incluídas nas vias metabólicas conhecidas, através da ferramenta KEGG- (<http://www.genome.ad.jp/kegg/>). Novos bancos de dados estão sendo explorados para categorização de um maior número de genes. O crescente número de informações geradas neste trabalho será disponibilizado aos programas de melhoramento genético, favorecendo a competitividade desta cultura.

Palavras-chave: *Vigna unguiculata*, ESTs, estresse biótico/abiótico, **Órgão financiador:** MCT/ FINEP/ CNPq/ BNB/ FACEPE (Programa RENORBIO)

64

Análise de ESTs: mecanismo ativo de resistência a doenças em camu-camu cultivado em terra-firme no Amazonas

Marcicleide Lima do Espírito Santo¹; Kaoru Yuyama²

¹Laboratório de Evolução Aplicada/UFAM, Av. Gen. Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 3000, Campus Universitário, Reitoria, Bairro Coroado I, CEP 69077-000, Manaus, AM - Brasil, marcicleide@ufam.edu.br;

²Coordenação de Ciências Agrônomicas/INPA, Manaus, AM - Brasil

O camu-camu é uma espécie nativa das várzeas e igapós da Amazônia. Apresenta grande potencial econômico com frutos ricos em vitamina C. O monocultivo em terra-firme tem favorecido a incidência de pragas e patógenos, por isso a identificação de genes envolvidos em repostas de defesa é importante para a elucidação dos mecanismos de resistência vegetal. O objetivo do trabalho foi analisar a biblioteca de ESTs (*Expressed Sequence Tag*) de frutos de camu-camu (CAMUEST) de plantas cultivadas em terra-firme (Rio Preto da Eva - AM, Brasil) para identificação de genes relacionados ao mecanismo de resistência ativo na planta. A partir das 3196 seqüências identificadas (*singlets* e *contigs*) foram obtidas as ORFs submetidas ao programa Blastp. Para análise da homologia foi utilizado o programa de alinhamento LALIGN. Um total de 48 diferentes seqüências, envolvendo 85 ESTs, foram relacionadas à defesa ativa nos frutos de camu-camu. Foi detectada a presença de genes que codificam para enzimas associadas a degradação de espécies reativas de oxigênio, sugerindo que resistência sistêmica adquirida (SAR) possa estar ocorrendo. Genes que codificam para proteínas relacionadas a resposta a patógenos também foram detectadas; bem como, genes que codificam para enzimas relacionadas à formação da parede celular e a produção de metabólitos secundários. Em função dos frutos não estarem infectados, pode-se inferir que estas respostas estão ocorrendo de forma sistêmica, caracterizando a indução da SAR como mecanismo de resistência ativo em frutos de camu-camu.

Palavras-chave: *Myrciaria dubia*, Amazônia, Expressed Sequence Tag, SAR

Órgão Financiador: FAPEAM/CNPq

65

Expressão das bombas de prótons e dos contratransportadores vacuolares em resposta ao estresse osmótico em caupi

Alana Cecília de Menezes Sobreira¹, Francisco Yuri Maia de Sousa¹, Deborah Moura Rebouças¹, Caroline Nunes de Almada¹, José Hélio Costa¹, Dirce Fernandes de Melo¹

¹Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular - UFC, Fortaleza - CE Fone: (85) 3366-9825, Fax: (85) 3366-9829, e-mail: alanacecilia@yahoo.com.br

Os estresses osmótico e salino são dois dos mais sérios fatores que limitam o crescimento da planta. O estresse osmótico é causado primeiramente por um déficit de água nos tecidos das plantas. O estresse iônico é causado pela acumulação de íons Na⁺ e Cl⁻ e pelo desbalanço na taxa de K⁺/Na⁺ nas células das plantas. Alterações na relação de água e homeostase iônica causam danos moleculares, inibição do crescimento ou morte da planta. O contra-transportador Na⁺/H⁺ dirige ativamente o movimento de Na⁺ para dentro do vacúolo usando o gradiente de prótons gerado pelos transportadores primários, a V-ATPase e a V-PPase. O objetivo do trabalho foi avaliar os níveis de transcritos da VuVHA-A, VuVHA-E, VuHVP, VuNHX2 e VuNHX6 de raízes de *Vigna unguiculata* cv. Vita 5 em condição de estresse osmótico. As sementes de *V. unguiculata* foram germinadas no escuro a 25°C em papel de filtro umedecido com água destilada durante 3 dias. Após esse período as plântulas foram transferidas para meio de Hoaglands por 3 dias e depois submetidas a estresse osmótico (PEG 200,67 g/L) por diferentes tempos de exposição (0, 6, 12 e 24 horas). Os níveis de