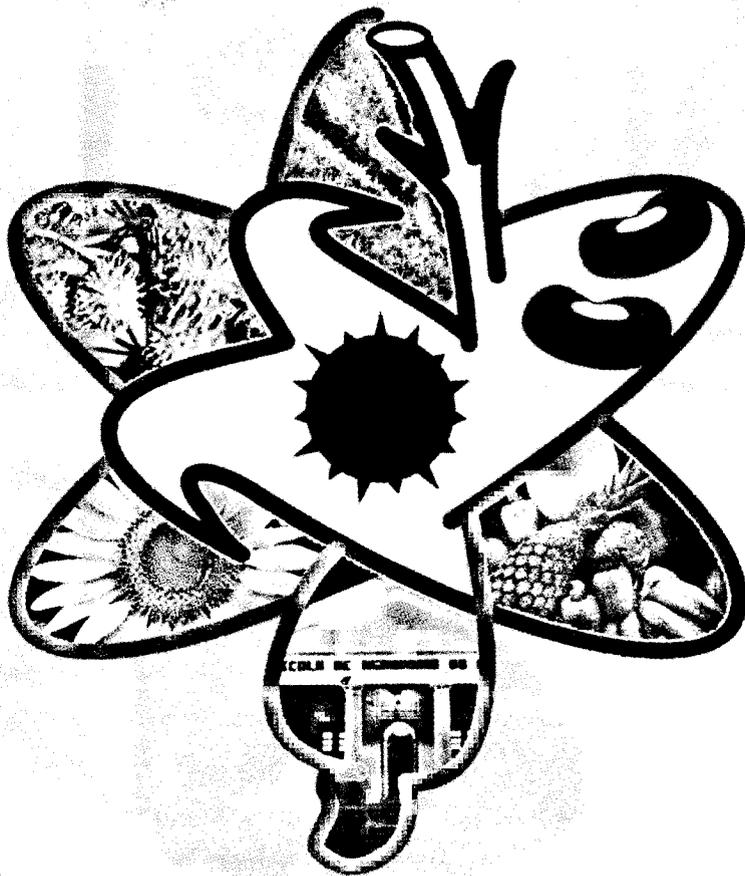


CBFV₂₀₀₉

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



L I V R O D E R E S U M O S

Promoção:



**Sociedade
Brasileira de
Fisiologia
Vegetal**

Realização:



UFC

Embrapa

Agroindústria Tropical

transcritos foram avaliados semiquantitativamente através de RT-PCR. A expressão da *VuVHA-A* aumentou apenas com 12 horas de exposição ao estresse e a expressão da *VuVHA-E* aumentou com 6 e 24 horas de exposição ao estresse osmótico. A expressão da *VuHVP* aumentou com 6 e 12 horas. A expressão do contra-transportador *VuNHX2* aumentou com 12 e 24 horas de estresse enquanto que a expressão do *VuNHX6* aumentou com 6 horas e diminuiu com 12 e 24 horas de aplicação do estresse. Esses resultados sugerem uma regulação diferenciada das bombas de prótons e dos contra-transportadores vacuolares de plantas submetidas a estresse osmótico.

Palavras-chave: Estresse osmótico, Bombas Vacuolares de Prótons, Contra-transportadores Na⁺/H⁺ Vacuolares

Órgãos Financiadores: Funcap, CNPq

66

Análise do microRNA156 e obtenção de plantas transgênicas de cana-de-açúcar com aumento de biomassa

Fausto A. Ortiz-Moreira¹, Almir S. Zanca², Enio T. Oliveira¹, Luiz A. Gallo¹, Helaine Carrer¹, Fabio T. S. Nogueira¹

¹Centro de Biotecnologia Agrícola (CEBTEC), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", (ESALQ)/USP, Piracicaba, SP, Brazil. ²Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética (CBMEG), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brazil. e-mail: fortiwai@hotmail.com;

MicroRNAs (miRNAs) são pequenos RNAs endógenos (17-22 nt) processados a partir de um precursor de RNA poliadenilado (pri-microRNA). miRNAs regulam pós-transcricionalmente a expressão gênica, modulando o transcriptoma e a produção de proteínas. O microRNA156 (miR156) regula negativamente a expressão da família de fatores de transcrição exclusiva de plantas denominada SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE (SPL), a qual está envolvida em diversos aspectos do desenvolvimento vegetal. A superexpressão do miR156 promove severa redução na dominância apical, levando a uma maior produção de ramos laterais e aumento de biomassa. Embora seja evidente o papel desse miRNA na formação de ramos axilares, até o momento não há estudos elucidando quais vias genéticas e regulatórias de brotação lateral são alteradas em resposta a expressão ectópica do miR156. Com o intuito de obter-se plantas com aumento de biomassa e futuramente estudar-se vias regulatórias afetadas pelo miR156 em cana-de-açúcar, iniciou-se a obtenção de plantas transgênicas superexpressando um membro da família do miR156. Inicialmente, identificou-se computacionalmente o precursor de miR156 em banco de dados de ESTs de cana-de-açúcar. Data mining e análise filogenética identificaram sete genes SPL neste banco de dados, denominados *Saccharum spp. SPLs* (*SsSPL1-7*). Esses *SsSPLs* foram classificados em quatro grupos e apresentam maior homologia com genes SPL de arroz. O perfil de expressão gênica do miR156 e do gene *SsSPL1* foi monitorado em diferentes órgãos/tecidos de cana-de-açúcar. Finalmente, o precursor do miR156 de cana-de-açúcar foi clonado em plasmídeo apropriado e este foi utilizado para transformação genética via biolística. Foram utilizados dois tipos de explantes (calos embriogênicos e discos foliares) derivados da região dos primórdios foliares na qual estão presentes tecidos de bainha de folhas imaturas e o meristema apical. Obtenção de plantas transgênicas superexpressando o miR156 está em progresso.

Palavras-chaves: microRNA, miR156, SPL, cana-de-açúcar, desenvolvimento vegetal

Órgão financiador: FAPESP

67

Ocorrência de inibidores de serinoproteinases em extratos foliares de oito espécies de Fabaceae

Flávia Camila Schimpl¹, José Francisco de Carvalho Gonçalves², **Larissa Ramos Chevreuil**², Cristiane Santos do Carmo Ribeiro de Souza², Regiane Sablina Almeida Bernardes², Silvana Cristina Pando¹

¹Universidade Federal do Amazonas – UFAM; ²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Av. Efigênio Sales, nº 2239, CEP: 69011-970, Caixa Postal: 478. Telefone (92) 3643-1938/1880. larissachevreuil@gmail.com

Os inibidores de proteinases são proteínas abundantemente distribuídas em diferentes tecidos vegetais, cuja concentração pode aumentar após injúria, resultando na inativação de enzimas digestivas de insetos, como tripsina e quimotripsina-like, prejudicando o funcionamento metabólico do predador. Este estudo teve como objetivo investigar a ocorrência dos inibidores de serinoproteinases nos tecidos foliares de diversas leguminosas. As folhas de *Caesalpinia echinata* Lam., *Cedrelinga cateniformis* (Ducke) Ducke., *Copaifera multijuga* Hayne., *Dinizia excelsa* Ducke., *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit., *Ormosia paraensis* Ducke., *Swartzia corrugata* Benth. e *Swartzia polyphylla* DC., foram coletadas no campus III do INPA, Manaus-AM. Após assepsia e secagem

a 35° C, foram trituradas e submetidas à extração salina (NaCl 10%, p/v). O teor de proteínas foi estimado de acordo com o método de Bradford (1976). A detecção da atividade inibitória foi realizada com as enzimas tripsina e quimotripsina bovina e os respectivos substratos cromogênicos, BAPNA e BTPNA. A pré-incubação prosseguiu em tampão Tris-HCl 0,05M pH 8,0, enzima e extrato foliar de cada espécie durante 10 minutos a 37° C, e após 30 minutos da adição dos substratos cromogênicos, a reação foi paralisada com ácido acético 30% e monitorada em espectrofotômetro (UV/ Visível Ultraspec 2100 pro, Armesham Biosciences) a 410 nm. A inibição da tripsina variou entre 44% a 69%, verificando-se que apenas os extratos de *C. cateniformis*, *L. leucocephala*, *S. corrugata* e *S. polyphylla* inibiram acima de 50% a atividade da enzima. Quanto à inibição da quimotripsina, nenhum extrato foliar apresentou percentual acima de 50%, sendo o maior valor (45%), observado em *O. paraensis*. A concentração de proteínas apresentou variações de 0,7 mg ptn/g MF (*D. excelsa*) a 6,8 mg ptn/g MF (*S. corrugata*). Neste estudo concluiu-se que os inibidores de tripsina e quimotripsina estão presentes em extratos foliares das espécies estudadas e que houve diferença na especificidade dos inibidores entre as espécies.

Palavras-chave: folhas; tripsina; quimotripsina; leguminosas.

Órgão financiador: CNPq

68

Expressão das bombas de prótons e do contra-transportador de caupi submetidos a estresse oxidativo

Alana Cecília de Menezes Sobreira¹, Francisco Yuri Maia de Sousa¹, Deborah Moura Rebouças¹, Caroline Nunes de Almada¹, **Luciana Maia Nogueira de Oliveira**², José Hélio Costa¹, Dirce Fernandes de Melo¹

¹Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular – UFC, Fortaleza – CE Fone: (85) 3366-9825 Fax: (85) 3366-9829; ²Unidade Acadêmica de Garanhuns - UFRPE. Garanhuns - PE E-mail: lucianamaia_m@yahoo.com.br

Os fatores ambientais que limitam a produtividade ou diminuem a biomassa são classificados como estresses. São exemplos comuns de estresses ambientais: as baixas temperaturas, a seca e a salinidade, os quais geram estresses secundários na planta como o estresse oxidativo. Este, por sua vez, é capaz de desorganizar ou danificar as membranas celulares provocando assim um desbalanço na homeostase celular. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a expressão dos genes das subunidades A e E da V-ATPase (*VuVHA-A* e *VuVHA-E*, respectivamente), além da V-PPase (*VuHVP*) e do contra-transportador Na⁺/H⁺ (*VuNHX2*) da membrana vacuolar de folhas de plântulas de *Vigna unguiculata* (L.) Walp em resposta ao estresse oxidativo. As sementes de *V. unguiculata* foram germinadas no escuro a 25 °C em papel de filtro umedecido com água destilada durante três dias. Após esse período as plântulas foram transferidas para meio Hoaglands por 3 dias e depois submetidas a estresse oxidativo (H₂O₂ 1 mM). As amostras para extração de RNA total foram coletadas após 0, 6, 12 e 24 horas da aplicação do estresse. Os níveis de transcritos foram avaliados semiquantitativamente por RT-PCR. A expressão do gene *VuVHA-A* aumentou com 6 e 12 h de exposição ao estresse enquanto que a expressão do *VuVHA-E* apresentou um decréscimo na quantidade de transcritos em todos os tempos estudados. A expressão do gene *VuHVP* aumentou somente com 24 h de exposição ao estresse. O gene *VuNHX2* aumentou em todos os tempos estudados tendo um pico na quantidade de transcritos com 6 h. Os resultados mostram uma regulação diferencial de todos os genes estudados. Contrariamente ao gene *VuVHA-A*, o *VuHVP* teve sua expressão aumentada somente com 24 h, sugerindo uma participação coordenada das bombas vacuolares na resposta da planta ao dano causado pelo estresse oxidativo.

Palavras-chave: Bombas de prótons vacuolares, estresse oxidativo, feijão-caupi.

Órgão Financiador: Funcap e CNPq

AINFO

69

Análise de segregantes na identificação de marcadores ligados a genes de resistência a virose em feijão-caupi

Alberto V. C. Onofre¹, Lidiane L. B. Amorim¹, Valesca Pandolfi¹, Ederson A. Kido¹, Ilza M. Sittolin², Maurisrael M. Rocha², Francisco R. Freire Filho², Genira P. Andrade³, Gilvan Pio-Ribeiro³, 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: vinicius.alberto@gmail.com; ²Embrapa Meio-Norte (CPAMN), Teresina, PI, Brasil; ³Depto. de Fitopatologia/UFRPE, Recife, PE, Brasil; *Coordenação Geral

Este trabalho teve como objetivo buscar associação entre marcadores moleculares e a resistência do feijão-caupi ao vírus do mosaico severo - CPSMV (*Cowpea severe mosaic virus*), visando auxiliar no mapeamento fino desta característica. Inicialmente, mediante uma análise fenotípica e teste de dupla difusão em ágar, os parentais (BR 14-Mulato e IT85F-2687)

e 221 linhas endogâmicas recombinantes da geração F_{6-7} , previamente inoculados com um isolado do CPSMV, foram classificados em dois grupos: resistentes (ausência de sintomas) e suscetíveis (presença de sintomas de mosaico). As amostras de DNA de 10 plantas resistentes e 10 suscetíveis foram agrupadas em dois bulks de acordo com a análise de BSA (*Bulked Segregant Analysis*). Para identificar polimorfismos associados ao gene de resistência ao CPSMV, foram avaliados 77 marcadores DAF (*DNA Amplification Fingerprinting*) e 36 SSR (*Simple Sequence Repeat*) nos parentais e bulks segregantes. Desses, 43 primers DAF e oito SSR apresentaram polimorfismo nos parentais, sendo dois marcadores DAF (OP-T18 e OP-C11) e um SSR (CEDG 006) presentes apenas no parental BR 14-Mulato e no bulk resistente. Para que os marcadores detectados sejam confirmados como ligados ao gene de resistência, faz-se necessária a determinação da proximidade do loco marcador ao gene através de análise em mapa molecular saturado, o qual se encontra atualmente em desenvolvimento, incluindo marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), CAPS (*Cleaved Amplified Polymorphic Sequences*) e RGAs (*Resistance Gene Analogs*). Este estudo servirá como base para o melhoramento genético do feijão-caupi, auxiliando na aceleração do desenvolvimento de genótipos resistentes ao CPSMV, através da seleção assistida por marcadores moleculares e consequentemente, ampliando o conhecimento sobre a resistência a tal virose.

Palavras-chave: Feijão-caupi, *Cowpea severe mosaic virus*, marcadores moleculares, mapeamento fino

Órgão financiador: MCT/ FINEP/ CNPq/ BNB/ FACEPE (Programa RENORBIO)

70

Sequências diferencialmente expressas em resposta à deficiência de fósforo em trigo

Adriano de Bernardi Schneider¹, Laize Fraga Espindula¹, Marisa Azzolini¹, Carla Andréa Delatorre¹

¹Departamento de Plantas de Lavoura, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Bairro Agronomia, 7712, CEP 91501-970, Porto Alegre, RS, fone (51) 33087451, e-mail: abschneider_@hotmail.com;

O fósforo (P) é um nutriente essencial às plantas, sua deficiência no solo gera grande estresse, afetando o crescimento destas. A análise da expressão em plantas sob deficiência de P é um método para a identificação de possíveis genes ou sequências gênicas relacionadas à resposta. O presente trabalho objetivou analisar a expressão gênica em genótipo de trigo tolerante a deficiência de P, a partir do processo de hibridização subtrativa (SSH). O endosperma de plântulas de trigo da variedade Toropi foi retirado, as plântulas foram transferidas para solução com e sem P por 24, 120 e 240 horas. Após essa etapa, foram obtidas sequências diferencialmente expressas a partir da técnica de SSH. As mesmas foram sequenciadas, sendo obtidas 33 sequências únicas, para as quais foram desenvolvidos iniciadores para validação da expressão diferencial. A validação se procedeu em PCR em tempo real, com novo material vegetal obtido a partir das mesmas condições anteriores. Dos 33 pares de iniciadores, 20 amplificaram adequadamente, os demais não geraram fragmento ou não amplificaram fragmentos únicos. Das 20 sequências, 16 foram consideradas validadas como diferencialmente expressas na deficiência de P em Toropi. As mesmas 20 sequências foram testadas no genótipo Anahuac, sensível a deficiência de P, com o objetivo de identificar possíveis genes envolvidos na tolerância a este estresse. Oito sequências mostraram em todos os tempos expressão relativa igual ou superior a obtida em Toropi, possivelmente estando relacionadas à resposta a P, mas não à tolerância. Doze demonstraram em algum tempo expressão superior em Toropi, sendo que duas tiveram maior expressão relativa em todos os tempos, sendo fortes candidatas a estarem relacionadas à tolerância.

Palavras-chave: *Triticum aestivum*, fósforo, estresse abiótico, hibridização subtrativa

Órgão Financiador: FAPERGS, CNPq

71

Estudo da expressão da família multigênica da pUCP em folhas de caupi sob estresse pelo frio

Francisco Edson Alves Garantizado¹, José Hélio Costa¹, Marcela Cavalcante de Alcântara Melo¹, Ivan de Godoy Maia², Dirce Fernandes de Melo¹

¹Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular/UFC, Fortaleza, Ceará, Brasil, email: edsongarantizado@yahoo.com.br, fone: 085 3366982; ²Departamento de Genética/IB – Unesp, Botucatu, São Paulo

As proteínas desacopladoras de planta (pUCP) pertencem a família de proteínas carreadoras de ânions, localizadas na membrana mitocondrial interna, responsáveis pela dissipação do gradiente eletroquímico de prótons na forma de energia térmica. A pUCP é codificada por uma

família multigênica, apresentando distintos perfis de expressão gênica entre mono e dicotiledôneas. O objetivo do presente trabalho foi estudar a expressão da família multigênica da pUCP em folhas de *V. unguiculata* através da avaliação de transcritos em resposta ao estresse pelo frio. Sementes de *V. unguiculata* foram germinadas em água e após três dias, as plântulas foram transferidas para solução nutritiva de Hoagland & Arnon e mantidas em casa de vegetação por 3 dias. Em seguida foram transferidas para câmara de germinação com temperatura controlada: 25°C (controle) e 4°C (frio). As folhas foram coletadas nos tempos 0, 6, 12 e 24 horas para isolamento do RNA total e ensaios de RT-PCR semi-quantitativa, usando primers específicos para cada gene. Trabalhos anteriores mostraram a presença em *V. unguiculata* de dois genes ortólogos aos de soja (*VuUCP1a* e *VuUCP1b*). Adicionalmente, quatro novas sequências apresentando alta similaridade com pUCPs de *Arabidopsis* e cana-de-açúcar foram identificadas, sendo nomeadas *VuUCP2*, *VuUCP3*, *VuUCP4* e *VuUCP5*. A análise do perfil de expressão de *VuUCP1a*, *VuUCP1b*, *VuUCP2* e *VuUCP4* revelou que tais genes foram expressos indistintamente tanto em condição controle, quanto em resposta ao frio. Esses dados sugerem que os genes pUCPs em *V. unguiculata* não são induzidos pelo frio.

Palavras-chave: Proteínas desacopladoras de planta (pUCP), *Vigna unguiculata*, Espécies reativas do oxigênio (EROS), Estresse pelo frio.

Órgãos Financiadores: FUNCAP, CNPq e CAPES

72

Identificação de genes expressos sob radiação ultravioleta B e na epiderme foliar de *Psychotria brachyceras*

Naíla Cannes do Nascimento¹, Paloma Koproviski Menguer¹, Raul Antonio Sperotto¹, **Arthur Germano Fett-Neto¹**

¹Laboratório de Fisiologia Vegetal, Centro de Biotecnologia e Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43423 - Setor IV - Campus do Vale, CEP 91501970, Cx.P. 15005, Porto Alegre-RS, fone (51)3308-7637, e-mail: fettneto@cbiot.ufrgs.br, Brasil

Psychotria brachyceras é um arbusto que produz o alcalóide monoterpene indólico braquicerina, cujo acúmulo é aumentado por exposição de folhas à radiação ultravioleta B (UVB). Foi observada uma distribuição significativa de braquicerina na epiderme. Ensaios *in vitro* e *in vivo* mostraram atividade antioxidante de braquicerina contra oxigênio singlete, radical hidroxila e ânion superóxido. A hipótese de trabalho é que a braquicerina atue na proteção da planta contra possíveis danos causados por UVB através de sua atividade sobre radicais livres, e de que a regulação de produção ocorra em nível de transcrição. Não existem dados publicados disponíveis sobre o genoma de *P. brachyceras*, os quais possibilitariam uma melhor elucidação do papel e da rota de biossíntese de braquicerina. Para a busca de genes relacionados ao metabolismo de braquicerina, foi empregada a técnica de SSH (*Suppressive Subtractive Hybridization*). A população de cDNAs proveniente de folhas de estacas (ramos apicais com aproximadamente 12 cm de comprimento, com 3 pares de folhas) de *P. brachyceras* expostas à UVB foi utilizada como *tester*, enquanto aquela oriunda da exposição à luz branca (controle) foi utilizada como *driver*. Após o seqüenciamento de 288 clones, foram identificadas 153 seqüências de plantas (obtidas por Blastx, Non-redundant protein sequences (nr)), incluindo três seqüências relacionadas ao metabolismo de alcalóides: *triptofano descarboxilase* (TDC) (AAB39708.1), *fenilalanina amônia liase* (PAL) (ACF94716.1), e *antranilato N-metiltransferase* (AMT) (ABI93949.1). A confirmação adicional dessas seqüências através de PCR em tempo real está em andamento. Os resultados indicam que a indução da produção de braquicerina por UVB ocorre em nível de teor de mRNA e com a participação de enzimas importantes na biossíntese de triptamina, um dos precursores dos alcalóides indólicos conhecidos.

Palavras-chave: *Psychotria brachyceras*, braquicerina, UVB, SSH.

Órgãos financiadores: CNPq e CAPES

73

Influência da fertirrigação na expressão gênica da enzima UDP-flavonóide glicosiltransferase em frutos de morango (*Fragaria x ananassa*)

Rafael da S. Messias¹, Vanessa Galli², Betânia B. Scheer³

¹Embrapa Clima Temperado, Laboratório de Biologia Molecular, BR 392, km 78 Caixa Postal 403 - Pelotas, RS - Brasil - 96001-970, e-mail: rafaelm@cpect.embrapa.br, tel: (53)32758253, fax: (53)32758262; ²Universidade Federal de Pelotas (UFPEl), Centro de Biotecnologia, Laboratório de Biologia Molecular; ³Embrapa Clima Temperado, Pelotas - RS

A enzima UDP-flavonóide glicosiltransferase (UFGT) é responsável pela etapa final de glicosilação na rota metabólica dos flavonóides para formação de antocianinas, um dos principais compostos fenólicos com atividade antioxidante encontrados em frutos de morango. Estes