



ENERGIA E ALIMENTOS

XVI Seminário de Iniciação Científica
XIII Jornada de Pesquisa
IX Jornada de Extensão

UNIJUI . 23 a 26 de setembro de 2008



EXPRESSÃO TRANSCRICIONAL DA ENZIMA POLIGALACTURONASE (PG) EM MORANGOS CV. CAMAROSA SUBMETIDOS À IRRADIAÇÃO Gama¹

Aline Tiecher², Raul Vicenzi³, Joseana Severo⁴, Jorge Adolfo Silva⁵

INTRODUÇÃO: Os avanços recentes na Biologia Molecular têm proporcionado um melhor entendimento dos fenômenos que ocorrem em frutos, dentre eles, a compreensão dos processos do amadurecimento/maturação. As características e a composição de frutos maduros são resultados de mudanças bioquímicas, fisiológicas e estruturais, que desenvolvem alterações na aparência, textura, flavor e aroma. Essas modificações são resultado da conversão de açúcares, biossíntese e acúmulo de pigmentos, biossíntese de compostos aromáticos, e mudanças na estrutura da parede celular, tornando desse modo, a fruta atraente ou não para o consumo. Diferentes complexos enzimáticos atuam nas paredes celulares dos tecidos vegetais, tanto na fase de desenvolvimento, como de amadurecimento. No amadurecimento de frutos o amaciamento dos tecidos é decorrente da ação de enzimas despolimerizantes, desmetoxilantes e hidrolíticas, como as enzimas pécnicas, em conjunto com celulases, hemicelulases, galactosidases, entre outras. A proposta deste estudo foi avaliar a expressão transcricional da enzima poligalacturonase em morangos cv. Camarosa submetidos à irradiação gama, utilizando a técnica de RT-PCR. Essa técnica é constituída basicamente por duas fases. Na primeira delas, ocorre a síntese de cDNA (pelo uso da enzima Transcriptase reversa) a partir de moléculas de RNAs previamente extraídas. Na segunda etapa, estes cDNAs são submetidos a reações de PCR - *Polymerase Chain Reaction* - em termociclador, com os *primers* dos genes de interesse. **MATERIAL E MÉTODOS:** Morangos cv. Camarosa foram submetidos à irradiação gama, com fonte de CO-60, e frutos não irradiados foram utilizados como controle. A extração de RNAs dos frutos foi realizada conforme o protocolo do Reagente comercial Concert™ Plant RNA (Invitrogen®). Após as extrações dos RNAs foram realizadas leituras em espectrofotômetro (Ultrospect® 2000 Pharmacia), para verificar a concentração, pela absorvância a 260nm, e a pureza dos extratos, relação das leituras (ratio) a A260/A280nm. Através de eletroforese verificou-se a presença e integridade das bandas ribossomais. Em seguida, realizaram-se os ensaios moleculares com os primers dos genes de interesse e verificaram-se as amplificações em gel de agarose a 1,5%, corado com brometo de etídio e visualizado em transiluminador-UV. Os primers para a enzima poligalacturonase foram contruídos a partir da sequência obtina no NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), G.I|92429374|, com auxílio do programa Vector (Invitrogen®). **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** A leitura a 260nm, em espectrofotômetro, dos extratos demonstraram boa concentração de RNAs, entre 1,5 e 3,4 ug RNAs.mL⁻¹, e o ratio (A260/A280nm) obtido demonstrou a pureza dos extratos, com valores entre 1.9 – 2.1. Em seguida realizou-se reações de RT-PCR com primers para o gene constitutivo 18S, que é utilizado como controle positivo de reação, bem com, com primers para gene codificador da enzima poligalacturase (PG). Verificou-se as amplificações em gel de agarose do gene 18S, com aproximadamente 400pb, nas duas amostras de morango, o que garante a qualidade do cDNA e da reação. Também houve amplificações de mesma intensidade do gene da poligalacturonase, em ambas as amostras, indicando a presença do cDNA da enzima, com amplificações na altura de 384pb.



ENERGIA E ALIMENTOS

XVI Seminário de Iniciação Científica
XIII Jornada de Pesquisa
IX Jornada de Extensão

UNIJUÍ . 23 a 26 de setembro de 2008



CONSIDERAÇÕES: O estudo da expressão transcricional da enzima poligalacturonase (PG) em morangos é importante, pois a mesma está relacionada com a degradação da pectina e demais substâncias pécticas da parede celular, promovendo uma das principais mudanças durante o amadurecimento de frutos, que é a diminuição de sua firmeza. Através desse estudo pode-se perceber que a irradiação gama não atuou de forma significativa sobre a expressão da enzima poligalacturonase (PG) em morangos cv. Camarosa.

¹ Pesquisa desenvolvida no componente curricular "Estágio II".

² Acadêmica do curso de Química Industrial de Alimentos - UNIJUÍ

³ Professor Orientador do Estágio II, Mestre do Departamento de Biologia e Química - UNIJUÍ

⁴ Supervisora do Estágio II, Mestranda do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial - UFPel

⁵ Professor Supervisor do Estágio II, Doutor do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial - UFPel