

# Análise do padrão de expressão gênica de genes codificadores de quitinases em *Glycine max* frente ao estresse provocado por *Phakopsora pachyrhizi*



**UFRGS** **XXV SIC**  
PROPEAQ Salão Iniciação Científica

CB - Ciências Biológicas

Patricia Bays<sup>1</sup>, Maria Helena Bodanese Zanettini<sup>2</sup>

1 Ciências Biológicas, UNISINOS

2 Orientador, Departamento de Genética, UFRGS.

## INTRODUÇÃO

As doenças fúngicas podem causar uma perda considerável de rendimento em lavouras. Quando plantas são infectadas por fungos, os componentes derivados da quitina da parede celular destes organismos são enzimaticamente degradados resultando na inibição do crescimento fúngico. A produção de enzimas capazes de degradar e invadir as paredes celulares de fungos fitopatogênicos é um componente importante da resposta de defesa em plantas.

A ferrugem asiática é causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*. Este é bastante agressivo e adaptado a uma ampla faixa de temperatura, o que facilitou a sua dispersão por quase toda a área produtora de soja no país. Os principais sintomas são pequenos pontos de coloração castanha a marrom que evoluem para pústulas, e que coalescem causando o amarelecimento, desfolha prematura e impedindo a plena formação dos grãos. Quanto mais cedo ocorre a infecção, menor é o tamanho dos grãos e menor o rendimento.

## OBJETIVOS

Caracterizar a expressão de genes codificadores de quitinases de soja frente ao estresse por *P. pachyrhizi*.

1. Buscar sequências codificadoras de quitinases em banco de dados de SuperSAGE que estejam diferencialmente expressas durante estresses bióticos e/ou abióticos.
2. Projetar oligonucleotídeos iniciadores para a amplificação por qRT-PCR.
3. Analisar por qRT-PCR amostras de plantas das cultivares Embrapa 48 e PI561356 submetidas ao estresse por *P. pachyrhizi*.
4. Selecionar dois genes candidatos para clonagem e posterior transformação de embriões somáticos de soja.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizada uma busca por sequências codificadoras de quitinases em bancos públicos de SuperSAGE:

- Resposta de superexpressão perante pelo menos 1 estresse biótico e/ou abiótico.

Foram projetados, para cada um dos genes, oligonucleotídeos iniciadores para o experimento de PCR quantitativo em tempo real.

- 72 amostras analisadas

- Reações de qPCR realizadas em quadruplicatas técnicas.

- Valores de expressão gênica relativa calculados com base no método  $2^{-\Delta\Delta CT}$  de Livak & Schmittgen.

8 genes selecionados

Glyma19g43460  
Glyma16g28970  
Glyma13g42210  
Glyma11g13720  
Glyma01g36480  
Glyma15g15360  
Glyma18g51980  
Glyma15g01820

Material vegetal:

- Embrapa-48 (susceptível)
- PI 561356 (resistente)

Desenho Experimental:

- Folhas inoculadas
- Folhas falso-inoculadas
- Coletadas em vários estágios de infecção:

12h > 24h > 48h > 96h > 192h

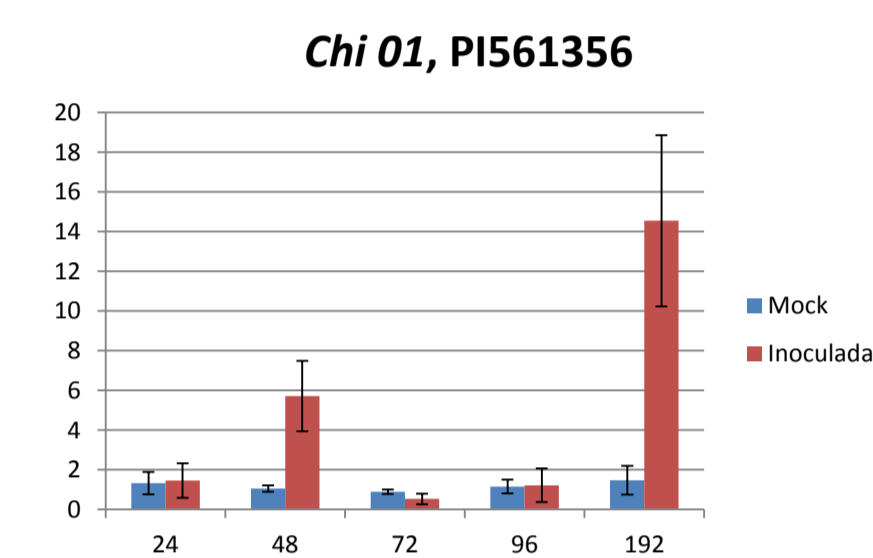
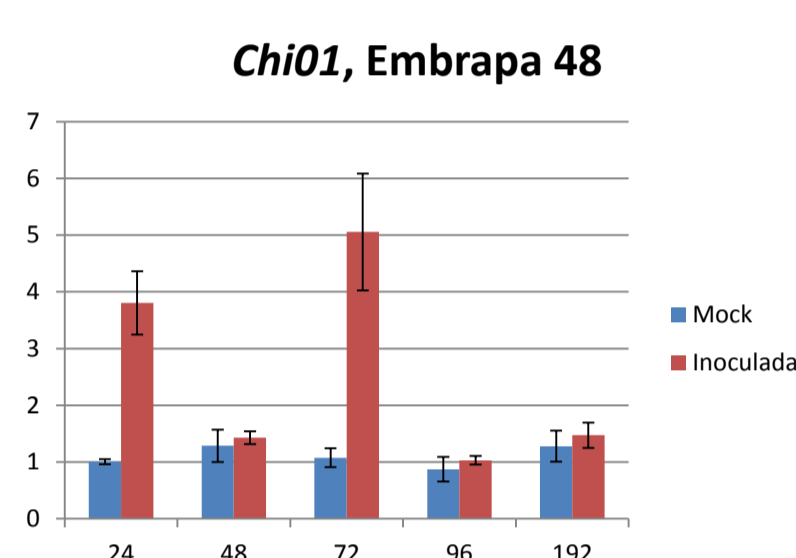
- Triplicatas biológicas

Embrapa Soja (Londrina /PR), Abril/2009

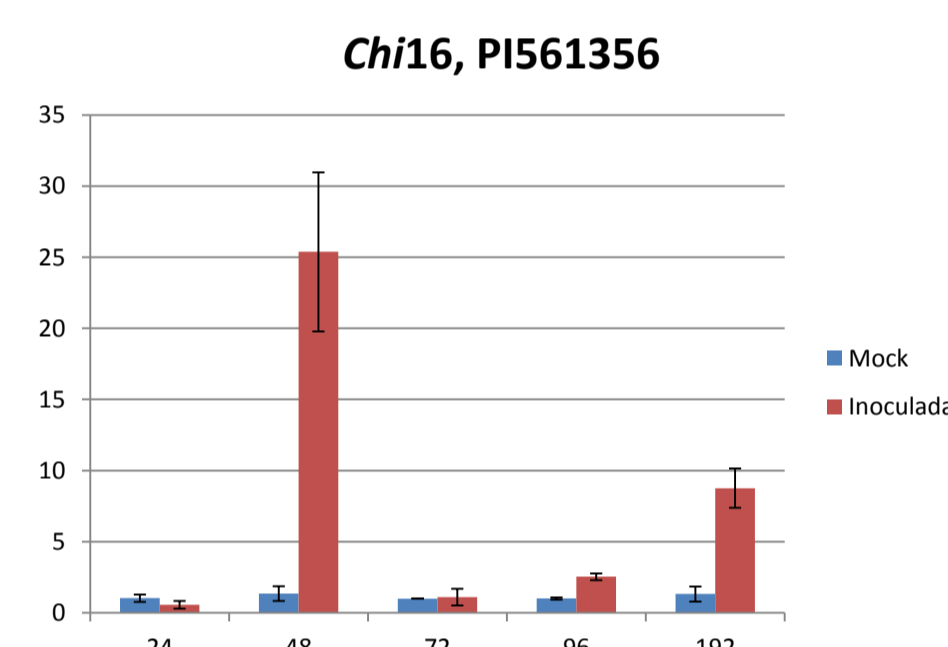
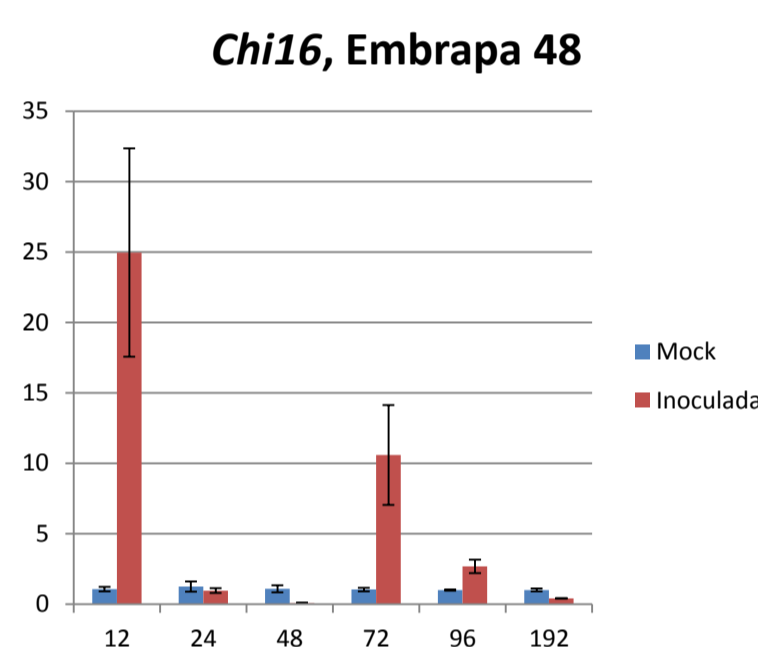
-As regiões codificadoras (CDSs) foram amplificadas a partir do cDNA ou DNA genômico e clonadas em pGEM T-Easey, pENTR e pH7WG2D. A identidade das sequências foi confirmada por qRT-PCR.

## RESULTADOS

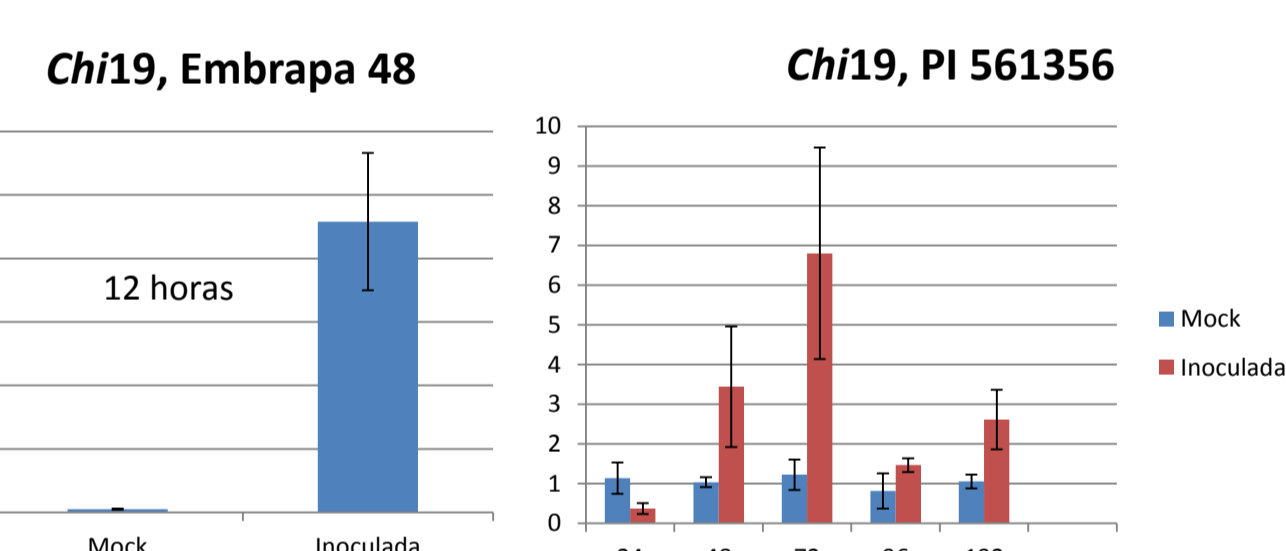
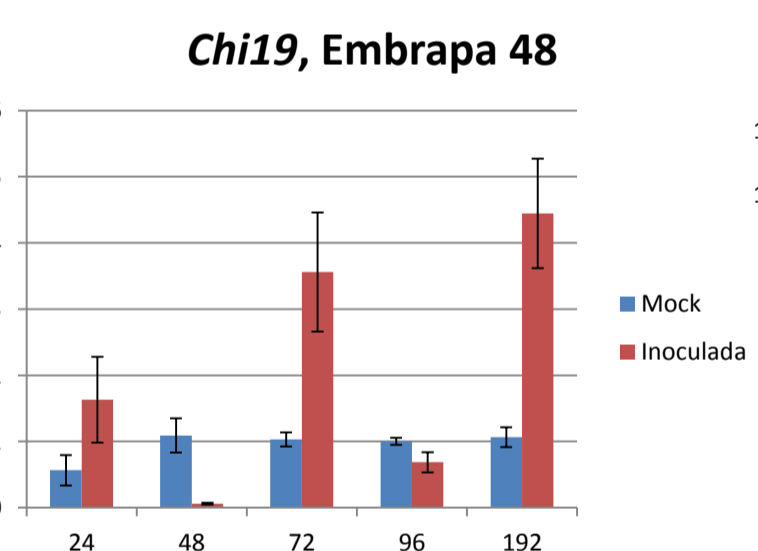
Expressão relativa do gene *Chi01*



Expressão relativa do gene *Chi16*



Expressão relativa do gene *Chi19*



\* Resultados de expressão relativa normalizada com os genes referência Fbox e Metalloprotease

## CONCLUSÕES

- As cultivares Embrapa 48 e PI561356 respondem diferentemente ao estresse causado por *P. pachyrhizi*
- O gene *Chi01* exibe dois picos de resposta a infecção: 24 e 72 horas para a cultivar Embrapa 48, e 48 e 192 horas para a cultivar PI561356.
- O gene *Chi16* também exibe dois picos para a cultivar Embrapa 48, e eles ocorrem após 12 e 72 horas.
- Na cultivar PI 561356, o gene *Chi16* tem a sua expressão aumentada após 48 e 192 horas.
- O gene *Chi19* tem sua expressão aumentada as 12, 24, 72 e 192 horas na cultivar Embrapa 48; e as 48, 72 e 192 na cultivar PI561356.
- Curiosamente, de acordo com os genes analisados neste estudo, a cultivar resistente PI 561356 parece apresentar uma resposta mais tardia do que a susceptível Embrapa 48.



MODALIDADE  
DE BOLSA

INICIAÇÃO CIENTÍFICA CNPq