

ANÁLISE DA REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO, MEDIADA POR FITO-HORMÔNIOS, DAS UREASES DE SOJA

Daniel Henrique Strassburger¹, Roberta da Silva e Silva², Arlete Beatriz Becker-Ritt³

¹Aluno do curso de graduação Agronomia – Bolsista – PROBITI/FAPERGS – dani-elhs@hotmail.com, ²Aluna PPGBioSaúde – robertasilva@cavg.ifsul.edu.br,

³Professora Agronomia, Biomedicina, PPGBioSaúde e PPGTA-MP – arlete.ritt@ulbra.edu.br

RESUMO

Ureases, enzimas níquel-dependentes, presentes em plantas, bactérias e fungos, mas não em animais. Em vegetais, atuam na defesa contra fitopatógenos, principalmente fungos e bactérias, sendo sintetizadas pelas plantas em resposta ao ataque desses patógenos. Apesar de ser postulado que ureases, além de desempenhar papel de defesa, estão envolvidas no metabolismo e biodisponibilidade de nitrogênio, pouco se conhece sobre a regulação da sua expressão em plantas. Na leguminosa *Canavalia ensiformis* uma família gênica de ureases foi induzida pelo ácido abscísico. Diante disso, o principal objetivo desse projeto será avaliar, através de método fenol-nitroprussiato, a atividade da enzima urease, em plântulas de diferentes cultivares de soja. Para tanto, sementes de soja serão germinadas, seguido de extração e quantificação de proteínas e, quantificação da atividade ureolítica nessas plântulas. Resultados preliminares indicam que há pequenas diferenças na quantidade de proteínas presentes nas plântulas dos cultivares testados, mas, pequenas diferenças são percebidas quando se faz a análise quantitativa de urease através do método de fenol-nitroprussiato. Estudos adicionais deverão ser realizados para confirmação dos dados prévios encontrados. Futuramente, a correlação, com testes de herbivoria e tratamentos com diferentes fitohormônios, em plantas, poderá nos mostrar qual a rota metabólica é mais eficiente na síntese de ureases, após um ataque de insetos.

OBJETIVOS

O principal objetivo desse projeto será otimizar um protocolo para quantificação de proteínas totais em plântulas de soja e avaliar, através de método fenol-nitroprussiato, a atividade da enzima urease, em diferentes cultivares de soja.

METODOLOGIA

Análise qualitativa de urease Método “Chip seed assay”. Os valores serão expressos de acordo com essa alteração de cor, sendo G0: sem alteração, G4: alteração pH - rosa
Extratos proteicos foliares Proteínas solúveis extraídas em NaPB 10 mM, pH 7,5 contendo 1 mM de β-mercaptoetanol e, quantificadas pelo método de Bradford (1976).
Atividade ureásica Método fenol-nitroprussiato (WEATHWEBURN, 1967).

RESULTADOS

Tabela 1: Gradação qualitativa de urease

CULTIVAR	G0	G1	G2	G3	G4
RS-7				X	
RS-10		X			
BRS			X		
FT.SARA				X	
IAS-5					X
CD 201		X			
CD 203			X		
INTACTA*					X
POTÊNCIA					X

Tabela 2: Quantificação proteínas

CULTIVAR	QUANTIDADE DE PROTEÍNAS
CD 2737 RR	2,82 µg
ATIVA	3,87 µg
POTÊNCIA	3,43 µg
CD 248 RR	3,19 µg
INTACTA*	3,34 µg

Tabela 3: Atividade ureásica

CULTIVAR	QUANTITATIVO ATIV. UREÁSICA
CD 2737 RR	0,3312 U/min/mg ptn
ATIVA	0,38 U/min/mg ptn
POTÊNCIA	0,359 U/min/mg ptn
CD 248 RR	0,348 U/min/mg ptn
INTACTA*	0,3552 U/min/mg ptn

Tabela 4: Resumo quantificações

CULTIVAR	Qualitativo Urease	Proteínas µg	Quantitativo Urease
RS-7	3	ND	ND
RS-10	1	ND	ND
BRS	2	ND	ND
FT. SARA	3	ND	ND
IAS-5	4	ND	ND
CD 201	1	ND	ND
CD 203	2	ND	ND
INTACTA*	4	3,34 µg/µL	0,36 U/min/mg proteína
POTÊNCIA	4	3,43 µg/µL	0,36 U/min/mg proteína
CD2737	ND	2,82 µg/µL	0,33 U/min/mg proteína
ATIVA	ND	3,87 µg/µL	0,38 U/min/mg proteína
CD248	ND	3,19 µg/µL	0,35 U/min/mg proteína

Tabela 5: Teste Infecção

INTACTA	PROTEÍNAS	UREASE
Controle	0,269 µg	18,33 U/min/mg proteína
Infecteda Fungo	0,244 µg	11,37 U/min/mg proteína

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os dados parciais encontrados, podemos perceber que há pequenas diferenças em relação à quantidade de proteínas presentes nas sementes dos cultivares testados. Uma pequena diferença também é percebida quando se faz a análise quantitativa de urease através do método fenol-nitroprussiato.

Estudos adicionais deverão ser realizados com o intuito de confirmar os dados prévios encontrados, bem como para elencarmos cultivares de soja que apresentem diferenças significativas nesses ensaios quantitativos e, a longo prazo, submeter esses cultivares a ensaios de herbivoria ou indução através de fitohormônios, elucidar a rota metabólica de síntese de ureases em plantas de soja.