

ANÁLISE DA REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO, MEDIADA POR FITORMÔNIOS, DAS UREASES DE SOJA

Angela Menegassi, Roberta da Silva e Silva, Célia R. Carlini, Axel Mithoefer Arlete Beatriz Becker-Ritt
 Cbiot-UFRGS; Max Planck Institute, PUC-RS; IFSul e ULBRA-Canoas

Introdução

Ureases são proteínas de defesa que apresentam atividades entomotóxicas e fungicidas, sendo sintetizadas por plantas em resposta ao ataque de patógenos. Até o momento, apesar de ser postulado que ureases estão envolvidas no metabolismo e biodisponibilidade de nitrogênio, pouco se sabe sobre sua regulação em plantas. Na leguminosa *Canavalia ensiformis* uma família gênica de ureases foi induzida pelo ácido abscísico. Plantas são constantemente expostas à estresse ambiental, sendo mesmos classificados como bióticos e abióticos. Fitormônios são substâncias presentes no metabolismo vegetal e que regulam seu crescimento e desenvolvimento. Mais recentemente foi demonstrado que os fitormônios também regulam a resposta das plantas aos estresses ambientais.

Objetivos

Avaliar a expressão e regulação de genes de urease, em plantas de soja, utilizado-se diferentes fitohormônios e herbivoria.

Material e Métodos

- Cultivo das plantas de soja da cultivar Williams 82 e obtenção do tecidos vegetais;
- Ensaio com fitormônios;
- Ensaio de herbivoria com *Spodoptera frugiperda* e dano mecânico com MecWorm;
- Extração e quantificação das proteínas;
- Atividade ureásica;
- Extração e quantificação do mRNA, quantificação dos transcritos de urease ubíqua e *UreG* por qPCR;

Resultados

Tabela 1. Resultados da expressão relativa do gene da urease ubíqua, utilizando o gene constitutivo actina, considerando a primeira folha como testemunha, nas diferentes partes das plantas de soja.

Amostras	Expressão relativa do gene da urease ubíqua
Primeira Folha	1,00 ± b
Radícula	2,97 ± 0,84 a
Semente	0,28 ± 0,13 b
Folha Jovem	0,96 ± 0,06 b
Caule	0,34 ± 0,05 b
Cotilédone	0,16 ± 0,03 b
Folha antiga	0,01 ± 0,01 b

± Média de três repetições ± erro padrão, acompanhadas por mesma letra na coluna, na comparação entre os

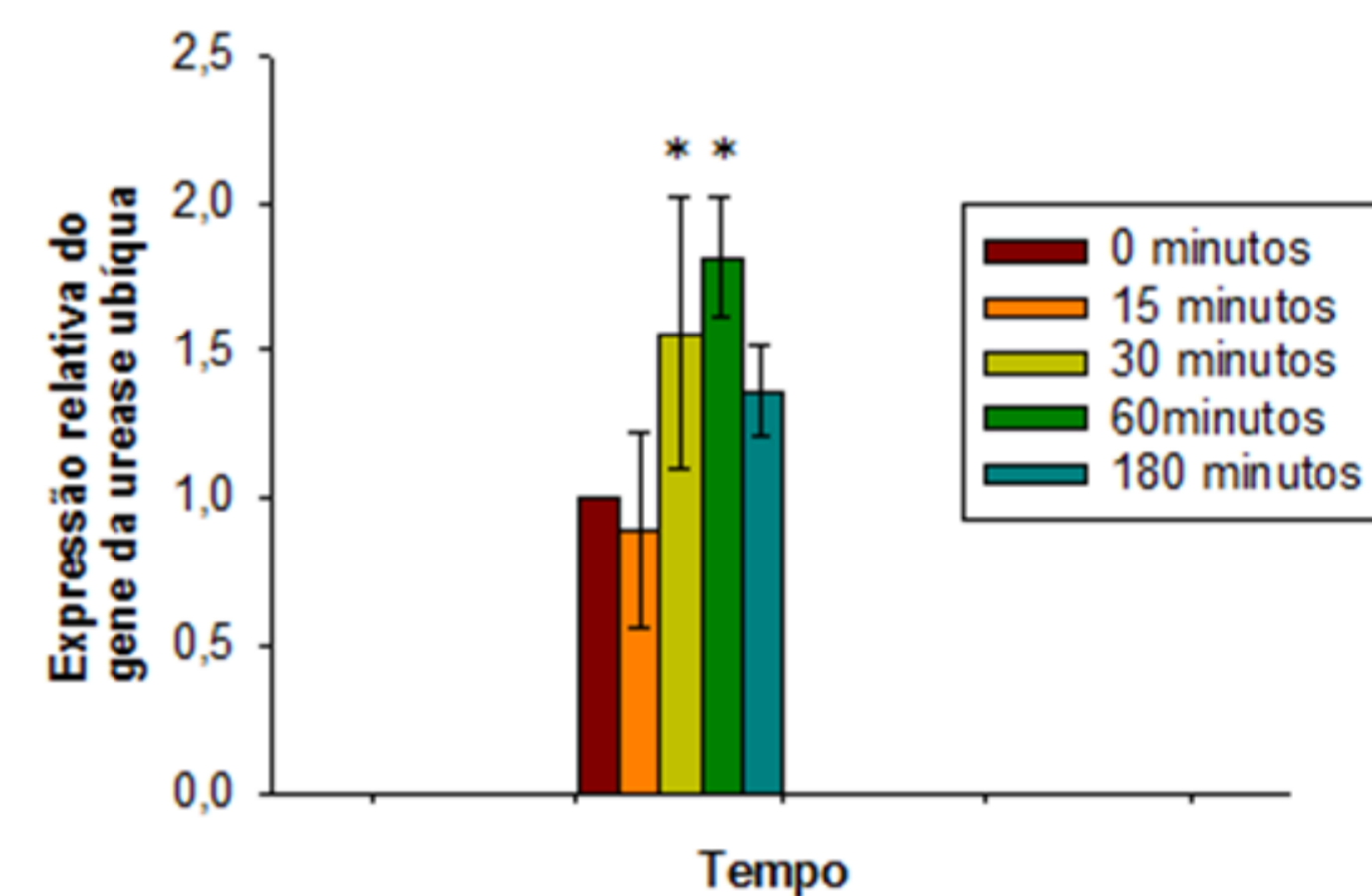


Figura 1- Expressão relativa do gene da urease ubíqua após aspersão foliar de 100 µM AJ, usando o gene constitutivo actina, durante estudo de curva temporal aos 0, 15, 30, 60 e 180 minutos.

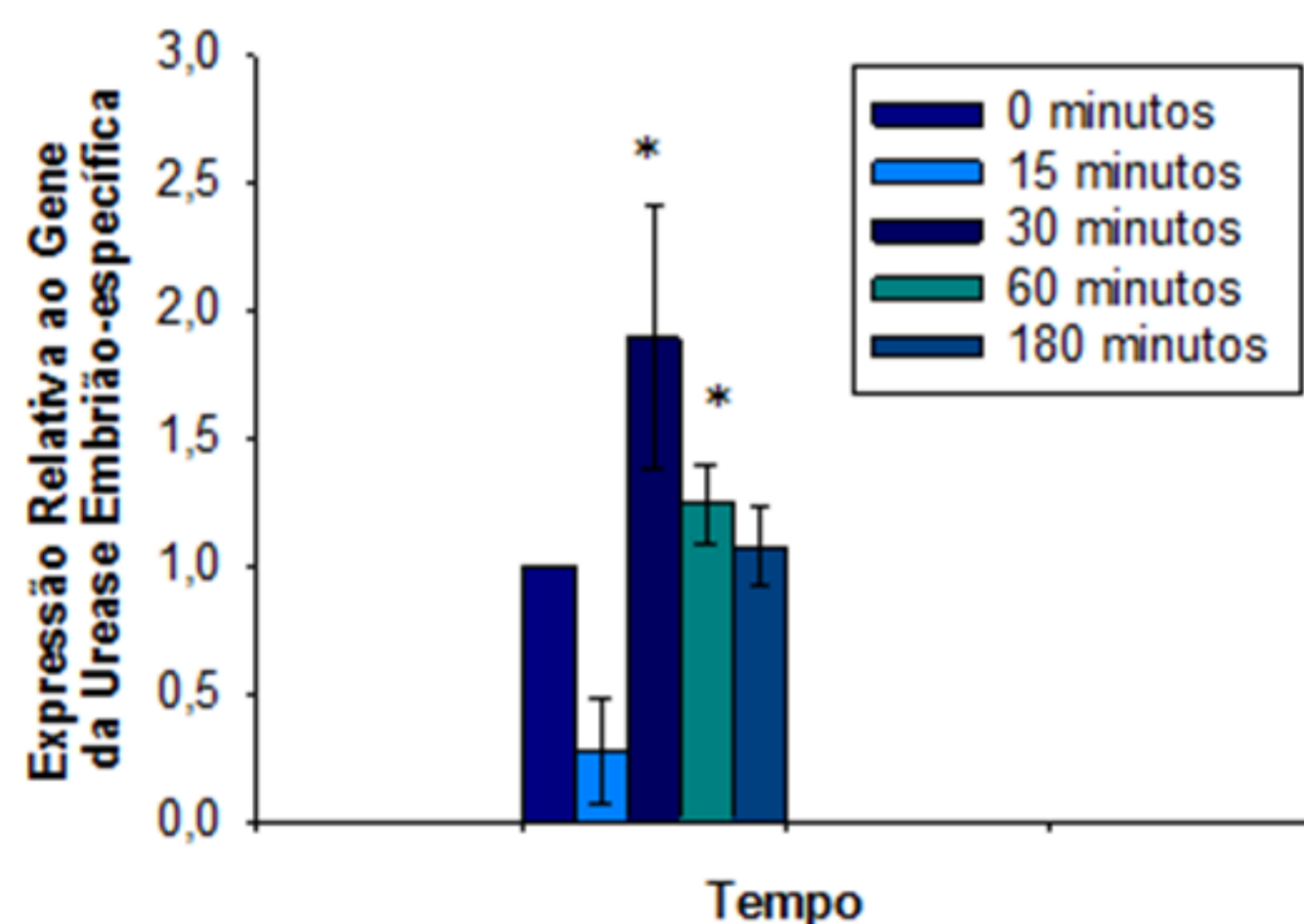


Figura 2 - Expressão relativa do gene da urease embrião-específica, em resposta ao AJ, usando o gene constitutivo actina, durante curva temporal nos tempos de 0, 15, 30, 60 e 180 minutos, após tratamento com aspersão foliar de ácido jasmônico (AJ) 100 µM.

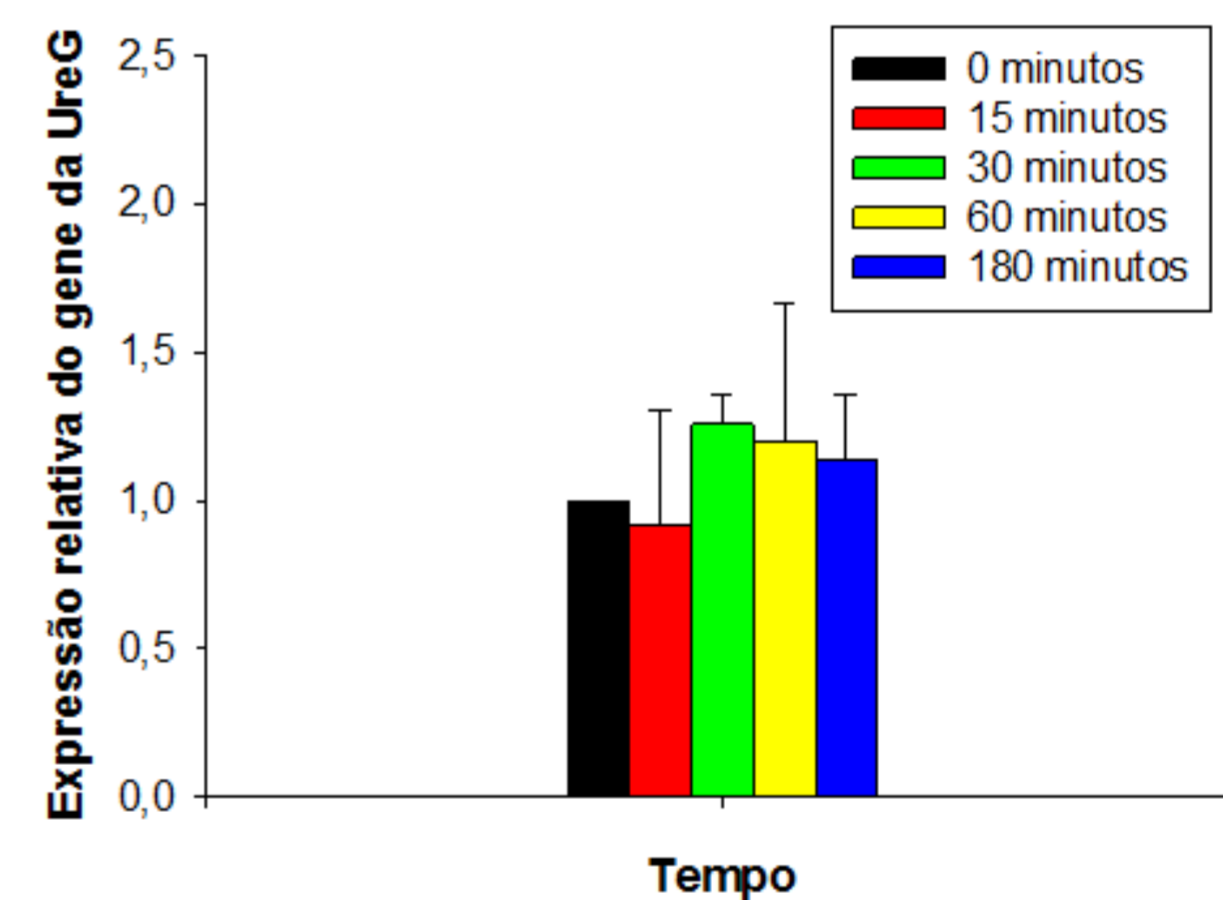


Figura 3 - Expressão relativa do gene da proteína acessória *UreG* em resposta ao AJ utilizando como gene constitutivo actina, durante curva temporal nos tempos de 0, 15, 30, 60 e 180 minutos, após tratamento com aspersão de ácido jasmônico (AJ) 100 µM.

Tabela 2:

Tratamento	<i>Urease</i>	<i>UreG</i>
Controle	1.00	1.00
<i>S. littoralis</i>	1.54 ± 0.15 *	0.69 ± 0.07 *
Controle	1.00	1.00
MecWorm	0.70 ± 0.07 *	0.71 ± 0.09 *

Média de n = 5, ± EP. * indica diferenças significativas analisado por Student t test (p ≤ 0.05).

Tabela 3: Atividade ureolítica em folhas de soja após diferentes tratamentos.

Amostra	Urease (U/min/µg protein)
Controle	1.63 ± 0.13
JA	1.81 ± 0.27 NS
SA	1.75 ± 0.09 NS
ABA	1.50 ± 0.03 NS
Controle	3.31 ± 0.30
<i>Spodoptera littoralis</i>	3.32 ± 0.31 NS
Controle	4.52 ± 1.01
MecWorm	4.38 ± 0.79 NS

Média n = 5 ± SE. NS não significante.

Bibliografia:

- Becker-Ritt et al 2007 Toxicon 50:971-983;
- Mithöfer A et al 2005 Plant Physiol 137:1160-1168

Conclusões

Os fitormônios apresentam respostas antagônicas na regulação da expressão de ureases.

Os maiores de transcritos da urease ubíqua foram encontrados na radícula e as folhas.

A atividade ureásica não é influenciada pelo Os tratamento com os fitormônios, herbivoria e dano mecânico provocado MecWorm, não alteram a atividade ureásica.

Ácido jasmônico aumentou a expressão da urease ubíqua, mas o ácido salicílico diminuiu sua expressão.

Herbivoria, mas não mecânico, aumentou a expressão do gene da urease ubíqua, e ambos os tratamentos reprimiram o gene da *UreG*

A *UreG* é reprimida nos tratamentos com MecWorm, *Spodoptera littoralis* e aplicação exógena de ácido giberélico.

A urease pode ter regulada a sua expressão, independente da maquinaria de ativação, em resposta à diferentes fontes de estresse.