



Realização:



Apoio:

**XVII CIC
X ENPOS**Conhecimento sem fronteiras
XVII Congresso de Iniciação Científica
X Encontro de Pós-Graduação
11, 12, 13 e 14 de novembro de 2008

EXPRESSÃO TRANSCRICIONAL DA ENZIMA Pectinametilesterase (PME) EM MORANGOS cv. CAMAROSA

Autor(es): TIECHER, Aline; SEVERO, Joseana; SANTOS, Railson S.; MONTE, Fernanda; CASARIL, Jardel; SILVA, Jorge Adolfo; ROMBALDI, Cesar Valmor.

Apresentador: Aline Tiecher

Orientador: Jorge Adolfo Silva

Revisor 1: Lírio Hass

Revisor 2: Roberta Manica

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Resumo:

O morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) é considerado o fruto de maior importância comercial entre as pequenas frutas, sendo consumido em grande quantidade na forma in natura como processada. É um fruto delicado e altamente perecível devido a sua intensa atividade metabólica e grande suscetibilidade ao ataque de microrganismos causadores de podridões. O estudo das enzimas envolvidas no metabolismo deste fruto é de grande importância, porque elas estão diretamente envolvidas na sua rápida senescência. Diante disso, objetivou-se calibrar primers para o gene da PME em morangos cv. Camarosa para estudos de expressão transcricional através da técnica de RT-PCR. Os frutos foram colhidos em lavoura localizada no município de Pelotas/RS. As amostras foram coletadas em outubro de 2007 e imediatamente armazenadas em ultrafreezer (-80°C) até o momento das avaliações. Os primers para a PME foram construídos a partir da sequência obtida no NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov> – GI:62288363), com auxílio do programa Vector (Invitrogen®), Primerforward 5'TTCTTAGCCCGAGACATCACCTTCC3' Primerreverse 5'CACGGCCTTCCCAGGTATGTCTTAA3'. A extração de RNAs dos frutos foi realizada conforme o protocolo do Reagente Concert™ Plant RNA (Invitrogen®). Após as extrações dos RNAs, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro (Ultraspect® 2000 Pharmacia), para verificar a concentração (absorbância a 260nm), e a pureza dos extratos, relação das leituras (ratio) a A260/A280nm. Através de eletroforese em gel de agarose (1,5%), corado com brometo de etídio e visualizado em transiluminador-UV foi possível verificar a presença e integridade das bandas ribossômicas. Para a síntese dos cDNAs foi utilizado o kit SuperScript First-Strand System for RT-PCR (Invitrogen®). Os cDNAs foram amplificados em PCR com os primers para os genes 18S (constitutivo) e da PME. A reação foi otimizada em termociclador PTC-200 (MJ Research, Inc.TM), nas seguintes condições: 2,5 μL Tp 10x; 1,5 μL MgCl; 1,0 μL dNTPs; 1,0 μL primer R; 1,0 μL primer F; 2,0 μL cDNA e 15,7 μL de água U.P. com D.E.P.C, com desnaturação a 95°C/5min; anelamento a 57°C/1:30min e extensão: 72°C/2min, num total de 36 ciclos. Verificou-se as ampliações em gel de agarose para o gene constitutivo 18S, a aproximadamente 400pb, e para o gene da PME a 395pb. Assim, através desse estudo pode-se concluir calibrada, nestas condições, a técnica de RT-PCR para os primers de PME em morangos cv. Camarosa.