



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

ISOLAMENTO DE RNA TOTAL EM FRUTOS DE GOIABA NA MATURAÇÃO

Autor(es): CAMPELO, Janice Garcia; PEGORARO, Camila; MANICA-BERTO, Roberta; DOS SANTOS, Railson Schreinert; SILVA, Jorge Adolfo; ROMBALDI, Cesar Valmor

Apresentador: Janice Garcia Campelo

Orientador: Cesar Valmor Rombaldi

Revisor 1: Luciano Lucchetta

Revisor 2: Silon Junior Procath da Silva

Instituição: Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel - UFPel

Resumo:

A goiaba (*Psidium guajava*) é um fruto climatérico, em que o processo de maturação é marcado por um pico respiratório e de produção de etileno, onde aumenta a degradação e das paredes celulares resultando em mudanças na textura (Giovannoni et al, 2001). O amadurecimento é um processo catabólico dependente de energia que é fornecida através da respiração, a qual tem como substrato açúcares e ácidos orgânicos dos frutos. O processo da maturação ocorre por uma série de eventos dependentes e consequentes da expressão de genes e ação das correspondentes enzimas. Os frutos utilizados neste experimento foram classificados quanto ao estágio de maturação: verde, maturação ideal e senescente. O objetivo foi identificar prováveis variações que poderiam ocorrer na expressão de mRNA de acordo com o estágio de maturação. A extração de RNA total foi realizada a partir de 0,1g de polpa triturada em nitrogênio líquido, com a utilização do reagente Pure Link Plant RNA Reagent (Invitrogen) seguindo as recomendações do fabricante. O RNA foi re-suspendido em 30µL de água ultra-pura livre de RNase, e em seguida 10 µL da amostra foram submetidos à eletroforese em gel de agarose corado com brometo de etídeo e visualizado em transluminador UV. As amostras foram submetidas à reação da transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) utilizando primers para o gene constitutivo 18S (Forward: 5'TGACGGAGAATT3', Reverse: 5'AGGGTTCG3'). Para a síntese dos cDNAs foi utilizado o kit comercial SuperScript First-Strand System for RT-PCR (Invitrogen). Os cDNAs foram amplificados em PCR tradicional, semi-quantitativa, em aparelho termociclador PTC-200 (MJ Research, Inc.), sendo utilizados na reação, os seguintes componentes: 2,5 µL Tp 10x; 1,5 µL MgCl₂; 1,0 µL dNTPs; 1,0 µL primer R; 1,0 µL primer F; 2,0 µL cDNA e 15,7 µL de água ultra-pura. As condições de amplificação foram: desnaturação a 95°C/5min; anelamento a 54°C/1:30min e extensão: 72°C/2min, num total de 36 ciclos. A qualidade e a quantidade de RNA total dos frutos na maturação ideal foram superiores aos demais estádios, demonstrando um "pool" de expressão de genes nesse período na síntese de RNA para o amadurecimento e na senescência, onde os processos de degradação superam os de síntese. A técnica de RT-PCR rendeu amplificação nos testes com oligonucleotídeos do 18S em todos os estágios de maturação, comprovando a eficiência do método utilizado para a extração do RNA totais.