

A RADIAÇÃO UV-C AUMENTA A EX RESÃO DE BDCS COM A SÍNTese DE CAROTENÓIDES EM T

ZIMMER, G¹; TEGER, A²; LICH, de an³; CROMADEC ea r Vam⁴. or

¹ Universidade Federal de Pernambuco - Faculdade de Engenharia e Arquitetura - Departamento de Engenharia de Materiais - Av. J. Soares de Oliveira, 1305 - Recife, PE - Brasil. E-mail: zimmer@ma.i.com

1 INTRODUÇÃO

Carotenóides são um grupo de metabólitos naturais responsáveis pela coloração amarela, alaraj da em frutos e hortaliças (RODRIGUEZ-AMAYA, 2000). São um tipo de carotenóide encontrado nos cromoplastos (BARAN et al., 2000), o principal deles. As enzimas fitoenossintetizantes (Z-carotenoides sintase e ZDS β-clase) (YLCβ-YB) carotenóide sintase (CRT) são responsáveis pela síntese de carotenóides (TANAKA et al., 2008; FERRAS et al., 2009).

A radiação UV-C, que vem sendo utilizada em alimentos devido principalmente a sua ação germicida (Eaton et al., 2002; STEVENS et al., 1998), pode atuar com o germeletiva maneira nos tecidos vegetais. De acordo com a literatura (FERRAS et al., 2008; LU et al., 2009), a radiação UV-C pode induzir a síntese de compostos antioxidantes como os carotenóides (FERRAS et al., 2010). Assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da radiação UV-C no acúmulo de transcritos de genes à biossíntese de carotenóides no epicarpeio de melão submetido à hipótese de mesma age como um agente estressor e síntese de compostos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a obtenção da cultura viva, foram utilizados frutos de melão da Universidade Federal de Pernambuco, fidede sua coloração a presença dos pigmentos naturais de pigmentação carotenóide dos frutos, estabelecido o protocolo de trabalho após a colheita, o seguinte: os frutos foram submetidos aos seguintes tratamentos: T1 - controle (UV-Ca 3, 7k PerJma o tratamento com radiação UV-C, utilização com quatro lâmpadas germicidas Philips 30W, ficando a uma distância de 60 cm da superfície da radiação emitida foi utilizado um medidor de luz ultravioleta digital (RS232 Modem Infravermelho) - os frutos foram expostos a dose de 3,7 kJ por 10 minutos a cada quatro minutos para dos 90 para que todos os frutos recebessem de forma uniforme em toda a superfície. Depois de tratada, os frutos foram acondicionados em plástico e mantidos no escuro em 3-20°C. A coleta de amostras para a extração de RNAs foi realizada imediatamente após a aplicação da amostra.

O RNA foi sintetizado a partir de um molde de DNA usando o kit *PureLink™ PL* (Invitrogen), e em seguida amplificado por PCR usando primers específicos. O DNA foi sintetizado a partir de um molde de RNA usando o kit *Superscript™ II* (Invitrogen), de acordo com as instruções do fabricante. As reações de PCR foram realizadas no equipamento *Fast Real Time e* (Applied Biosystems), usando 1 µL de cDNA (diluído 5 vezes) e 2 primers forward e reverse, usando o *SYBR Green®* (BioLabs) *Mix (Applied Biosystems)* em um volume total de 20 µL. Os parâmetros de temperatura para a reação de PCR foram: 95°C por 5 minutos, 95°C por 30 segundos; 67°C por 1 minuto; 72°C por 1 minuto, com 40 ciclos de três etapas: 95°C por 30 segundos; 67°C por 1 minuto; 72°C por 1 minuto, a qual segue a curva padrão de dissociação para a especificidade da amplificação. As sequências de nucleotídeos foram obtidas do *Genomics Center for Biotechnology*, usando o *Vector™ InVivoScript* (Invitrogen, CA, EUA) para a produção de transcritos específicos (Tabela 1). Os critérios de seleção foram: tamanho de 100 a 150 pb, temperatura de anneal entre 60 e 70°C, e 60% de homologia das frações de 5' e 3', e não mais de duas bases C ou G entre os dois pontos de ligação. A eficiência de amplificação foi calculada a partir da seguinte equação: $E = 10^{-1/\Delta Ct}$. Para cada amostra, o ΔCt foi calculado e a expressão relativa foi calculada usando o método $2^{-\Delta Ct}$ (Livak & Schmittgen, 2001). A expressão foi avaliada pelo método $2^{-\Delta Ct}$ (Livak & Schmittgen, 2001). A expressão foi avaliada pelo método $2^{-\Delta Ct}$ (Livak & Schmittgen, 2001). A expressão foi avaliada pelo método $2^{-\Delta Ct}$ (Livak & Schmittgen, 2001).

Tabela 1. Primers específicos usados para a análise

Gene	Número de Ações	Forward	Reverse
Biossintese do carotenóide			
Fitoneno (Fts)	SGN-U56	6'9GCAGGCGA	TGGTGAAGA
ζ-caroteno (ZD)	SGN-U56	TCGGGGGCCAAAGCTGAAA	TGCA
Lycopodina (LCY)	GI 1500	14TGGTTCATCCA	TCCACCGGT
β-caroteno (CRT)	SGN-U56	TGGGGGAGATGGGCACAC	T
Controle e clonagem			
Actina (ACT)	GI 471	CGGATGGGAAAGGAT	AAGG

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar os dados acumulados relativos aos genes codificados de enzimas envolvidas no metabolismo da carotenóides observamos as seguintes modificações:

- Há maior acumulo relativo de transcritos com relação UV-C;
- O maior acumulo relativo de transcritos ocorreu;

BARAN, C. I. S. T. I. N. A.; SANCHEZ-ROSSIGNOL, M. C. H. E. L.; KUNTZ, BOUZAYEN, M. O. N. D. H. E. R.; PECH, J. C. H. R. O. M. A. S. T. R. E. V. E. A. L. E. D. Y. P. R. O. C. E. E. D. I. N. G. *Journal of Experimental Botany*, v. 53, p. 213-231, 2010.

ERKAN, M.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y. *Plant and Tissue Culture*, p. 163-171, 2008.

FRASER, P. D.; ENFESSI, E.; MA, A.; BRADY, M. *Journal of Biotechnology*, v. 48, p. 196-204, 2009.

LIU, L. H.; ZHANG, D.; BENNETT, J. L.; WOOD, B. W. *Food Chemistry*, v. 115, p. 455-460, 2009.

LI, V. K. J. L., & SCMITT, G. N. *Journal of Biotechnology*, v. 15, p. 408-412, 2000.

MARQUESE, D. M. C. H. A. E. L. S. C. W.; SOONTJENS, C.; VAN IME, J. F.; NICOLE, A. *International Journal of Food Microbiology*, v. 73, p. 167-196, 2001.

RODRIGUEZ, A. M. Y. *A Guide to Cardemum*. Washington: ILS Press, 2001.

STEVENS, C.; LIU, J.; KIAN, V. A.; NOLAN, J. G.; BEYER, E. C.; KABRE, M. K.; CHAUZ, E.; DEB, Y. S. *Journal of Plant Physiology*, v. 149, p. 212-219, 1998.

TANKA, Y.; SASAKI, N.; CHEN, M. X., A. *The Plant Journal*, v. 51, p. 73-79, 2008.