

## ANÁLISE PROTEÔMICA DIFERENCIAL DE GENÓTIPOS DE ALGODÃO NATURALMENTE COLORIDO SUBMETIDO À RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA-B

### DIFFERENTIAL PROTEOME ANALYSIS OF NATURALLY COLORED COTTON GENOTYPES SUBMITTED TO ULTRAVIOLET-B RADIATION

Rocha, GMG<sup>1</sup>; Silva, FAC<sup>1</sup>; Pena, EPN<sup>1</sup>; Lima, LM<sup>2</sup>; Calsa Júnior, T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Departamento de Genética, Laboratório de Genômica e Proteômica de Plantas, Recife, PE, Brasil. [geisenilma@hotmail.com](mailto:geisenilma@hotmail.com); [fabiana.acs@gmail.com](mailto:fabiana.acs@gmail.com); [eltonnunes1@yahoo.com.br](mailto:eltonnunes1@yahoo.com.br); [terciliojr@yahoo.com.br](mailto:terciliojr@yahoo.com.br)

<sup>2</sup>Embrapa Algodão, Laboratório de Biotecnologia, Campina Grande, PB, Brasil. [liziane.lima@embrapa.br](mailto:liziane.lima@embrapa.br)

#### RESUMO

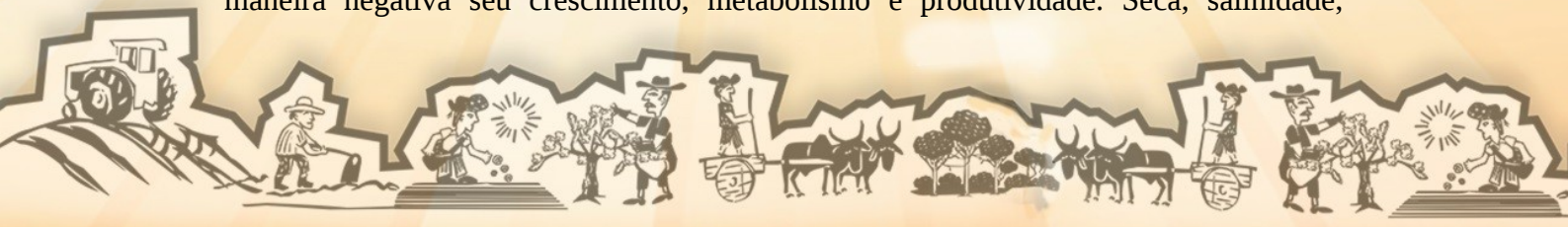
A demanda por fibras de algodão colorido tem crescido em nível internacional, motivada especialmente pelo apelo ecológico que o manejo proporciona, além da geração de emprego e renda. No entanto, o aumento na incidência de radiação ultravioleta-B (UVB) promove diversas respostas mediadas por processos fotomorfológicos nas plantas. Contudo, as plantas respondem a radiação UVB por meio de adaptações morfológicas e fisiológicas, mas os mecanismos celulares e moleculares que controlam essas adaptações são pouco conhecidos. Objetivou-se com este trabalho identificar proteínas produzidas diferencialmente em folhas de duas cultivares de algodão colorido submetidas à radiação UVB. Plantas com 60 dias após a germinação foram submetidas aos seguintes tratamentos: I- BRS Rubi com UV ambiente; II- BRS Rubi com UV ambiente + UVB adicional; III- BRS Verde com UV ambiente; IV- BRS Verde com UV ambiente + UVB adicional. Após seis dias, folhas foram coletadas e maceradas em N<sub>2</sub> líquido. A extração de proteínas totais foi realizada utilizando o método com TCA 10% e fenol modificado. As amostras foram quantificadas pelo método de Bradford e separadas em gel SDS-PAGE (12%). As bandas foram excisadas, submetidas à digestão com tripsina e em seguida analisadas em espectrômetro de massas. Foram identificadas proteínas envolvidas no metabolismo de carboidratos e de proteínas, fotossíntese, relacionadas com o crescimento, defesa e proteção contra fatores de estresse oxidativo. Os resultados obtidos poderão ser úteis como biomarcadores funcionais auxiliares na seleção de variedades com maior tolerância à radiação UVB, contribuindo com o programa de melhoramento genético do algodoeiro.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Malvaceae*; *Gossypium hirsutum*; UVB; SDS-PAGE; Estresse abiótico.

#### INTRODUÇÃO

O algodão planta dicotiledônea, pertencente à família *Malvaceae* e gênero *Gossypium* é a cultura de fibra têxtil mais importante do mundo e fornece a maior parte da fibra usada na indústria têxtil (NIU et al., 2018). O algodão naturalmente colorido possui fibra natural, dispensando o processo de tingimento químico e reduzindo os custos e os problemas ambientais acarretados pela deposição de resíduos tóxicos, sendo assim, agrega valor aos produtos da indústria têxtil por atender a uma demanda do mercado agroecológico (CARVALHO et al., 2011; CARVALHO et al., 2014).

No entanto, as plantas estão expostas a vários estresses ambientais que afetam de maneira negativa seu crescimento, metabolismo e produtividade. Seca, salinidade,





**Figura 1.** Esquema da transmissão e bloqueio das radiações UVA, UVB e UVC através dos filtros de poliéster e acetato de celulose.

Após seis dias, folhas foram coletadas e maceradas em N<sub>2</sub> líquido. A extração de proteínas totais foi realizada utilizando o método com TCA 10% e fenol modificado, conforme Hurkman e Tanaka (1986). Os extratos proteicos foram quantificados pelo método de Bradford e separadas em gel SDS-PAGE (12%).

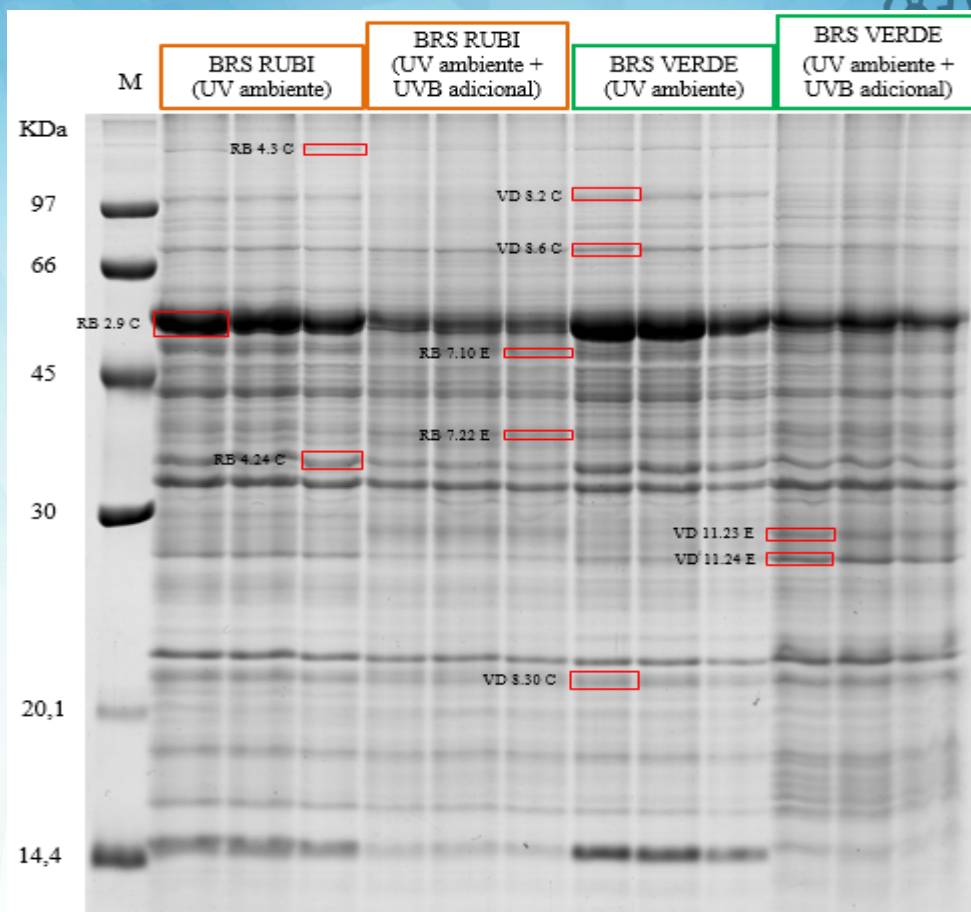
Os géis foram escaneados e as bandas que apresentaram maior variação quantitativa na comparação UV ambiente x UV ambiente + UVB adicional foram excisadas, submetidas à digestão com tripsina e em seguida analisadas em espectrômetro de massas AutoFlex III ToF/ToF (*Bruker Daltonics*, Bremen, Alemanha), baseado na ionização por dessorção a laser assistida por matriz (MALDI/ToF).

A identificação das proteínas foi realizada pela análise dos espectros através do *software* Mascot ([matrixscience.com](http://matrixscience.com)) contra base de dados *Swissprot* e unidade taxonômica *Viridiplantae*. Após a identificação das proteínas, os acessos foram submetidos ao banco de dados Uniprot (<http://www.uniprot.org/>) para definição de sua função molecular e processo biológico.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, observou-se no gel SDS-PAGE bandas definidas em todos os tratamentos. A análise da intensidade de bandas entre tratamentos permitiu identificar diferenças quali-quantitativas que podem refletir variações no proteoma em resposta à radiação UVB (Figura 2).





**Figura 2.** Gel SDS-PAGE de dois genótipos (BRS Rubi e BRS Verde) de algodão naturalmente colorido submetidos à radiação UVB. Marcador de proteínas de baixo peso molecular (GE Low Marker).

A anotação presumível permitiu a identificação de proteínas associadas a respostas da planta à radiação UVB. Foram identificadas proteínas envolvidas com diversos processos biológicos, tais como: metabolismo de carboidratos e de proteínas, fotossíntese, relacionadas com o crescimento, defesa e proteção contra fatores de estresse oxidativo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Identificação das proteínas diferencialmente expressas em folhas de algodão naturalmente colorido (BRS Rubi e BRS Verde) através de gel SDS-PAGE e espectrometria de massas.

Banda*	Identificação	Score	Proteína	Localização Subcelular	Função
RB 2.9 C	AAL92882.1	83	Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase	Cloroplasto	Fotorrespiração
RB 4.3 C	DF257_ARATH	32	Defensina 257	Parede celular	Defesa
RB 4.24 C	CDPKG_ORYSJ	52	Quinase dependente de cálcio 16	Membrana	Transdução de sinal
RB 7.10 E	H2B9_ORYSI	34	Histona H2B.9	Núcleo	Ligação de



						DNA
RB 7.22 E	YCF4_AEGTA	44	Ycf4 fotossistema I	Cloroplasto	Fotossíntese	
VD 8.2 C	GRC13_ORYSJ	34	Glutaredoxina-C13	Citoplasma e núcleo	Transporte de elétrons	
VD 8.6 C	PPO_VICFA	38	Polifenol oxidase A1	Cloroplasto	Processo biossintético de pigmento	
VD 8.30 C	GT643_ARATH	55	Glicosiltransferase 64 C3	Membrana	Glicosilação de proteínas	
VD 11.23 E	YCF4_IPOPU	46	Ycf4 fotossistema I	Cloroplasto	Fotossíntese	
VD 11.24 E	CLPP3_ARATH	43	Protease dependente de ATP	Estroma de cloroplasto	Hidrólise de proteínas	

RB – BRS Rubi; VD – BRS Verde; C – Controle (UV ambiente); E – Estresse (UV ambiente + UVB adicional).

Dentre as várias proteínas identificadas, destaca-se a Rubisco (Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase), uma enzima que está sujeita tanto ao aumento como a diminuição da expressão em condições de estresse (ABREU et al., 2014). Essa enzima atua na fixação do carbono no ciclo de Calvin-Benson. Observa-se que na condição de estresse por radiação UVB, a expressão desta proteína diminuiu tanto para BRS Rubi como para BRS Verde (Figura 2).

Segundo Qureshi e colaboradores (2007), estudos com proteômica são importantes para a compreensão da expressão gênica, pois a análise proteômica fornece um quadro direto dos processos bioquímicos pela verificação das proteínas que desempenham as funções enzimáticas, de sinalização e de regulação codificadas pelo genoma e transcriptoma.

As células vegetais respondem ao estresse desenvolvendo mecanismos de defesa (TAIZ et al., 2017). Essa defesa é provocada pela alteração no padrão de expressão gênica. Isso leva à modulação de certos caminhos metabólicos e defensivos. Devido à expressão gênica alterada sob estresse, ocorre mudanças qualitativas e quantitativas nas proteínas. Estas proteínas podem desempenhar um papel na transdução de sinal, defesa antioxidante, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos poderão ser úteis como biomarcadores funcionais auxiliares na seleção de variedades com maior tolerância à radiação UVB, contribuindo com o programa de melhoramento genético do algodoeiro.

## AGRADECIMENTOS

Embrapa Algodão, UFPE, CAPES e RENORBIO.

## REFERÊNCIAS





contato@sinprovs.com.br  
WWW.SINPROVS.COM.BR  
(83) 3322-3222

ABREU, C.E.B.; ARAÚJO, G.S.; MONTEIRO-MOREIRA, A.C.O.; COSTA, J.H.; DEBITE, H.B.; MORENO, F.B.M. B.; PRISCO, J.T.; GOMES-FILHO, E. Proteomic analysis of salt stress and recovery in leaves of *Vigna unguiculata* cultivars differing in salt tolerance. **Plant cell reports**, v.33, p.1289- 1306, 2014.

CARVALHO, L.P.; ANDRADE, F.P.; SILVA FILHO, J.L. Cultivares de algodão colorido no Brasil. **Revista Brasileira de Oleaginosas e fibrosas**, v.15, p.37-44, 2011.

CARVALHO, L.P.; FARIAS, F.J.C.; LIMA, M.M.A.; RODRIGUES, J.I.S. Inheritance of different fiber colors in cotton (*Gossypium barbadense* L.). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.14, p.256-260, 2014.

HOSSAIN, Z.; NOURI, M.Z.; KOMATSU, S. Plant cell organelle proteomics in response to abiotic stress. **Journal of Proteome Research**, v.11, p.37-48, 2012.

HURKMAN, W. J; TANAKA, C. K. Solubilization of plant membrane proteins for analysis by two-dimensional gel electrophoresis. **Plant Physiology**, v.81, p.802-806, 1986.

NIU, J.,; ZHANG S.; LIU, S.,; MA, H.; CHEN, J.; SHEN, Q.; GE, C.; ZHANG, X.; PANG, C.; ZHAO, X. The compensation effects of physiology and yield in cotton after drought stress. **Journal of Plant Physiology**, v.224-225, p.30-48, 2018.

QURESHI, M.I.; QADIR, S.; ZOLLA, L. Proteomics-based dissection of stress-responsive pathways in plants. **Journal of Plant Physiology**, v.164, p.1239-1260, 2007.

RODRIGUES, J. D.; SILVA, C. R. C.; PEREIRA, R. F.; RAMOS, J. P. C.; MELO FILHO, P. A.; CAVALCANTI, J. J. V.; SANTOS, R. C. Characterization of water-stress tolerant cotton cultivars based on plant growth and in activity of antioxidant enzymes. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, p.3763-3770, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.M.; MURPHY, A. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6a ed. Artmed, 888p, 2017.

