



## Plantas de soja com superexpressão de BiP exibem resposta de hipersensibilidade (HR) acelerada afetando o perfil proteico e a via de flavonóides

Rodrigues, Juliano Mendonça<sup>1</sup> ([juliano1515@hotmail.com](mailto:juliano1515@hotmail.com)); Ramos, Humberto Josué de Oliveira<sup>1</sup> ([humramos.ufv.br@gmail.com](mailto:humramos.ufv.br@gmail.com)); Fontes, Elizabeth Pacheco Batista<sup>1</sup> ([bbfontes@ufv.br](mailto:bbfontes@ufv.br)); Oliveira, Maria Goreti de Almeida<sup>1</sup> ([malmeyda@ufv.br](mailto:malmeyda@ufv.br)); Coutinho, Flaviane Silva<sup>1</sup> ([flavianesilvacoutinho@hotmail.com](mailto:flavianesilvacoutinho@hotmail.com)); Gouveia, Angélica de Souza<sup>1</sup> ([angelica.s.gouveia@gmail.com](mailto:angelica.s.gouveia@gmail.com))

<sup>1</sup> Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, BIOAGRO UFV, MG, Brasil

Palavras-chave: Soja, Fitobactéria, Estresse biótico.

Área temática: Bioquímica. Grande área: Ciências Biológicas e da Saúde. Categoria: Pesquisa.

### Introdução

A soja possui grande importância no cenário mundial, sendo o Brasil, maior produtor mundial, e estresses ambientais podem limitar o crescimento, produtividade e qualidade do grão. A chaperona BiP (*Binding protein*), com atividade associada à via *unfolded protein response* (UPR) e à modulação de eventos de morte celular programada (PCD), é alvo de estudos visando tolerância a seca pela manutenção da homeostase celular e retardo da PCD. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst), que provoca a mancha bacteriana em tomate, provoca reação de hipersensibilidade (HR) em soja, prejudicando a qualidade do grão. Por fim, é importante compreender como genótipos contrastantes respondem quando submetidos a diferentes estresses para controle de qualidade.

### Objetivos

O objetivo do trabalho foi identificar as modificações na expressão diferencial de proteínas e metabólitos em folhas de soja quando inoculadas com a bactéria incompatível Pst.

### Material e Métodos

A fim de compreender os mecanismos moleculares envolvidos na interação planta-bactéria em variedades contrastantes à seca (WT, sensível, e C9, tolerante), foi realizado um experimento de inoculação de Pst (dissolvida em solução MgCl<sub>2</sub>) em folhas utilizando uma cuba acoplada a uma bomba a vácuo, sendo coletadas após 36 horas. A descompressão força a entrada de Pst. Plantas não inoculadas receberam inoculação de solução. O extrato proteico foi extraído utilizando PEG e foi submetido a 2-DE em gel de poliacrilamida. Spots foram excisados, tripsinizados e analisados por espectrometria de massas LC/MS Ion Trap. O extrato metabólico foi analisado por LC/MS Q-TOF e os resultados analisados pelas plataformas DataAnalysis, NIST e MetaboAnalyst.

### Resultados e Discussão

Foram observados altos níveis de isoflavonas metiladas em plantas infestadas (Figura 1). Este aumento pode estar associado com as propriedades citotóxicas e antimicrobianas dos metilflavonoides<sup>[1]</sup>. Observamos uma redução da expressão de um maior número de proteínas relacionadas com fotossíntese em C9, ao passo que houve maior atividade de proteínas do metabolismo antioxidativo e especializado que em WT (Figura 2), possivelmente com o intuito de combater os danos provocados pela colonização bacteriana<sup>[2]</sup>. Proteínas do metabolismo dos fenilpropanóides/flavonóides como *Chalcone-flavanone isomerase*, *Caffeoyl coenzyme A ester O-methyltransferase 7* e *Caffeic acid/5-hydroxyferulic acid O-methyltransferase* foram reguladas positivamente em C9, ao passo que *Caffeoyl coenzyme A O-methyltransferase 1* foi regulada negativamente em WT.

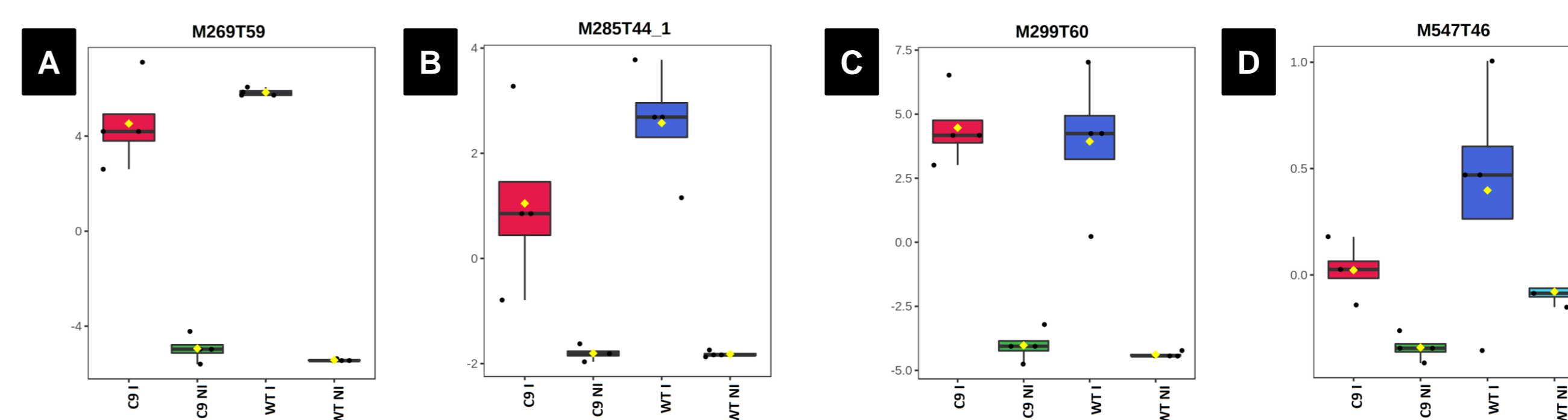


Figura 1. Metabólitos responsivos à HR relacionada com a interação soja-Pst. O eixo X corresponde aos grupos de tratamento, e o eixo Y, à abundância relativa dos metabólitos, expressos em termos de intensidade normalizada utilizando a plataforma MetaboAnalyst. (A) 3-Hydroxy-7-methoxyflavone; (B) 4',7-Dihydroxy-6-methoxyisoflavone; (C) 7-Hydroxy-2',4'-dimethoxyisoflavone; (D) 7-O-(6''-O-malonyl)glucoside-6,4'-dimethoxyisoflavone.

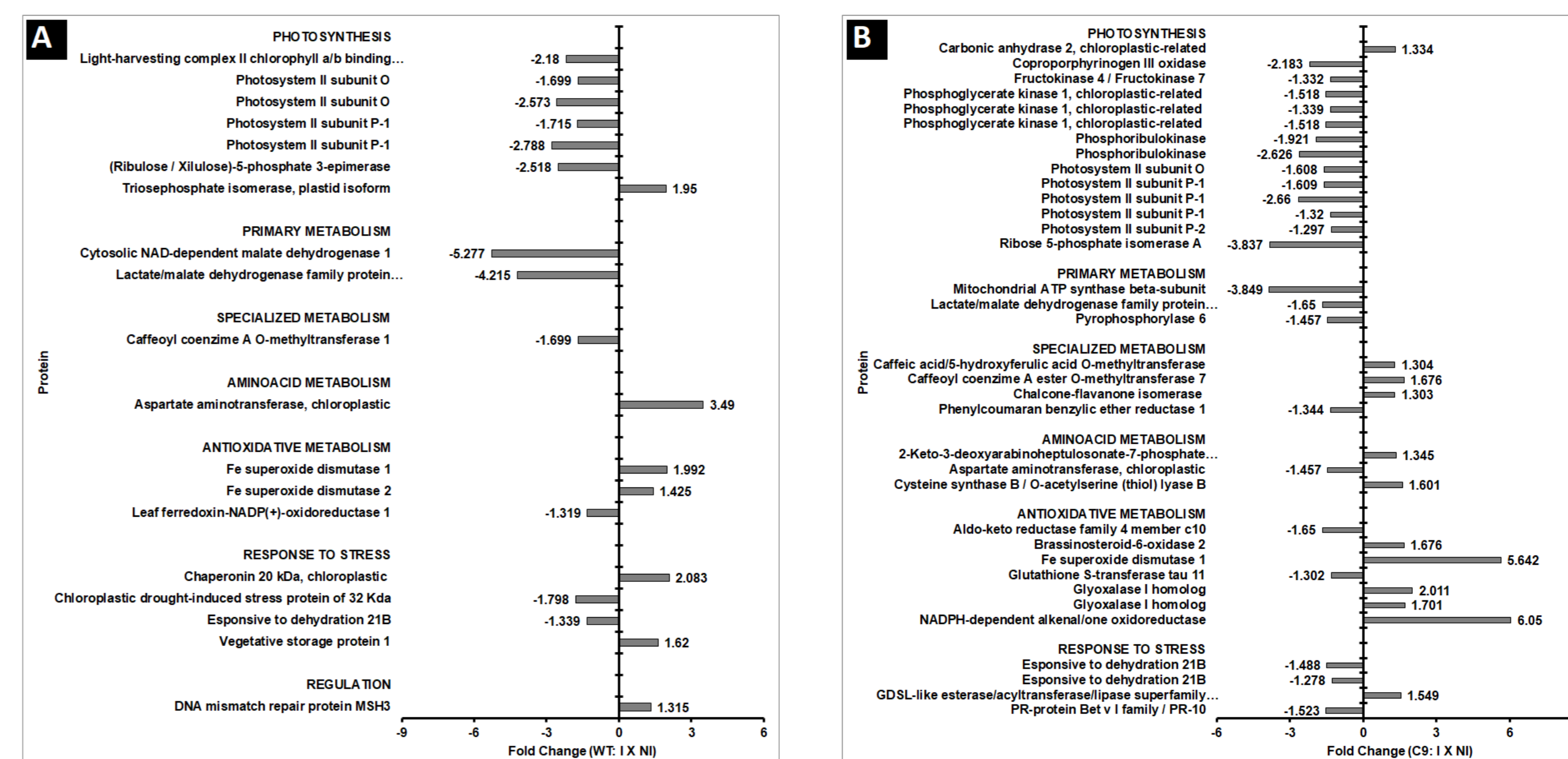


Figura 2. Expressão diferencial de proteínas em resposta à inoculação com Pst em folhas de soja (A) do genótipo sensível à seca WT e (B) tolerante à seca C9.

### Conclusões

Os resultados indicam que o genótipo de soja C9 reage com uma HR mais intensa que em WT quando submetidos à infecção por Pst, produzindo isoflavonas metiladas, diminuindo a abundância de proteínas funcionais de fotossíntese e aumentando as do metabolismo antioxidativo e especializado. O entendimento regulação do metabolismo vegetal constitui uma importante fonte de pesquisa e pode ajudar no desenvolvimento de variedades resistentes aos estresses ambientais e de alternativas ecológicas viáveis ao uso intensivo de fertilizantes e defensivos agrícolas na produção de soja.

### Bibliografia

- [1] Wang T et al. Isoflavones from green vegetable soybeans and their antimicrobial and antioxidant activities. *J Sci Food Agric*. 2018 Mar; 98(5):2043-2047. doi: 10.1002/jsfa.8663.
- [2] Zou, J et al. Expression Profiling Soybean Response to *Pseudomonas syringae* Reveals New Defense-Related Genes and Rapid HR-Specific Downregulation of Photosynthesis. *Molecular Mol Plant Microbe Interact*. 2005 18(11), 1161-1174. doi:10.1094/mpmi-18-1161

### Apoio Financeiro



### Agradecimentos



Laboratório de Enzimologia,  
Bioquímica de Proteínas e Peptídeos