



EXPRESSÃO DO GENE DA AAT (*álcool acetil transferase*) EM MORANGOS CV. CAMAROSA DURANTE O ARMAZENAMENTO

MONTE, Fernanda Garcia¹; SEVERO, Joseana²; DOS SANTOS, Railson Schreinert³; CASARIL, Jardel⁴; SILVA, Jorge Adolfo⁵; ROMBALDI, César Valmor⁶.

1 - Acadêmica do curso de Agronomia - UFPEL, bolsista IC/CNPq, e-mail: fe_monte2@hotmail.com

2 - Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos, bolsista CAPES e-mail:

josi_severo@yahoo.com.br

3 – Acadêmico do curso de Agronomia - UFPEL, bolsista IC/CNPq e-mail: rschsan@hotmail.com,

4 – Acadêmico do curso de Agronomia, Bolsista de iniciação científica jardelcasaril@hotmail.com;

5- Prof. Adjunto no DCTA/FAEM/UFPEL, e-mail: ctajorge@ufpel.edu.br;

6 - Prof. Titular no DCTA/FAEM/UFPEL, e-mail: cesarvrf@ufpel.edu.br.

1. INTRODUÇÃO

Sabor e aroma são dois dos principais aspectos determinantes na qualidade e aceitação de frutas frente aos consumidores (Shalit et al, 2001). O gene da AAT (*álcool acetil transferase*) está envolvido na rota metabólica da produção de aromas, através da sua capacidade de catalisar a transferência de um acil do acil-CoA e um acil do acil-CoA, para o correspondente álcool, formando um éster e CoA livre (El Sharkawy et al, 2005).

A AAT (*álcool acetil transferase*) já foi identificada em vários frutos como melão, morango, banana e maçã, segundo Luccheta et al (2007), Ueda et al (1992), Olias et al (1995), Fellmann and Mattheis (1995), respectivamente.

Perez et al (1996), observaram incremento da atividade da AAT em morangos ao longo da maturação, sendo o máximo de sua atividade observada quando os frutos alcançavam a coloração vermelho escuro.

No presente trabalho se visa estudar a expressão do gene da AAT em morangos cv Camarosa submetidos a diferentes tempos de armazenamento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Morangos cv. Camarosa, foram colhidos no ponto de maturação comercial (mais de 75% da epiderme vermelha), em outubro de 2007, no interior do município de Pelotas – RS. Os frutos foram armazenados durante 6 dias em temperatura ambiente (aproximadamente 23°C). Amostras foram coletadas no momento da colheita, no 3º e 6º dia de armazenamento e armazenadas em ultrafreezer, a -80°C, até o momento das análises.

A extração dos RNAs totais foi realizada utilizando o protocolo do reagente comercial *Concert™ Plant RNA Reagent (Invitrogen®)*. Realizou-se a quantificação de RNAs totais em espectrofotômetro (*Ultrospect® 2000 Pharmacia*), com leituras a A_{260nm} e A_{280nm} e de sua razão (indicativo de qualidade dos extratos). Também foi

realizada eletroforese dos RNAs em gel de agarose a 1,0% para verificar a integridade das moléculas.

Após avaliada a pureza dos extratos de RNAs foi realizada a digestão com DNase e a síntese de cDNA, utilizando o *kit* comercial *First-Strand cDNA Synthesis Kit*[®] (*Invitrogen*), para a posterior realização da *PCR* com os *primers* de interesse. No termociclador foram testados diferentes temperaturas de anelamento e ciclos de reação para o gene *AAT*, obtendo-se o melhor resultado nas seguintes condições: desnaturação 95°C/1:50min.; 28 ciclos [95°C/1:30 mi n.; 53°C/1 min.; 72°C/1:45 min.] e extensão final 72°C/10 min. Para a realização da *PCR* foram utilizados os seguintes reagentes: 2,5 µL Tampão 10x; 1,5µL MgCl; 1,0µL dNTPs; 1,0µL *primer* Reverse; 1,0µL *primer* Forward; 2,0µL cDNA e 15,7µL de água ultra pura tratada ao DEPC. Como controle positivo de reação foram realizadas amplificações com *primers* para o gene *18S* (gene constitutivo).

O produto da *PCR* foi analisado por meio de gel de agarose 1,5%, corado ao brometo de etídio e visualizado em transiluminador UV. A eletroforese foi conduzida a 80 V, por 120 minutos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As amostras analisadas em espectrofotômetro apresentaram valores de *ratio* (A_{260nm}/A_{280nm}) entre 1,8 e 2,1, demonstrando que os extratos de RNAs apresentavam boa qualidade.

Os extratos que mostraram melhor qualidade foram utilizados nos ensaios para reações de RT-PCR.

A expressão da *AAT* em nível de mRNA mostrou-se diferente durante o período pós-colheita. No momento da colheita os frutos demonstraram grande intensidade da expressão da *AAT* e quando mantidos por 3 e 6 dias a temperatura ambiente, tiveram significativa redução na expressão, conforme pode ser visto por meio da intensidade das bandas na figura 1B. Ayala-Zavala et al (2004) estudando a expressão dessa enzima em morangos armazenados a 0°C, observaram a manutenção da qualidade em níveis aceitáveis durante longos períodos de armazenamento. Entretanto, verificaram nos frutos armazenados em temperaturas superiores a 0°C, incremento nos compostos aromáticos e maior expressão desta enzima.

Os produtos das reações de RT-PCR demonstraram amplificação do cDNA com os *primers* dos genes *18S* e *AAT*, com tamanho de aproximadamente 400pb a 604pb, respectivamente, conforme a boa integridade de bandas na Figura 1. (A), (B).

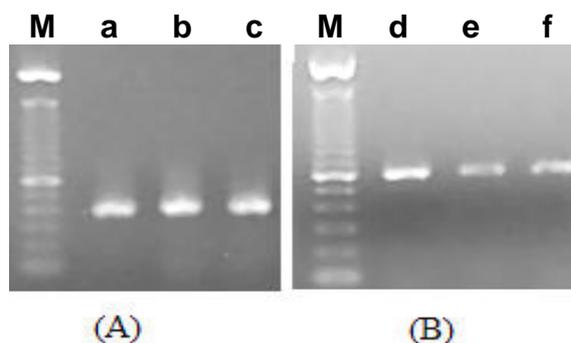


Figura 1: Eletroforese em gel de agarose 1,5%. (A) M: Marcador 100 Kb; a: Amplificação *Gene18S* colheita; b: Amplificação *Gene18S* 3 dias de armazenamento; c: Amplificação *Gene18S* 6

dias de armazenamento. (B) M: Marcador 100 Kb; a: Amplificação *GeneAAT* colheita; b: Amplificação *GeneAAT* 3 dias de armazenamento; c: Amplificação *GeneAAT* 6 dias de armazenamento.

4. CONCLUSÃO

Os morangos cv. camarosa apresentaram redução de expressão do gene da *alcohol acetil transferase (AAT)* durante o período mantido à temperatura ambiente (armazenamento), o que provavelmente significa redução na produção de ésteres, embora não tenha-se quantificado os compostos aromáticos neste trabalho.

5. AGRADECIMENTOS

Apoio financeiro e bolsas de estudo fornecidas pelo CNPq e pela CAPES.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LUCHETTA, L.. **Compostos Voláteis e Expressão do Gene AAT da Álcool Acetil Transferase em Melões cv. Vedrantais**. 2004. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial). Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, UFPel, Pelotas.

EL-SHARKAWY et al., 2005 I. El-Sharkawy, D. Manriquez, F.B. Flores, F. Regad, M. Bouzayen, A. Latche and J.C. Pech, Functional characterization of a melon alcohol acyltransferase gene family involved in the biosynthesis of ester volatiles. Identification of the crucial role of a threonine residue for enzyme activity, **Plant Molecular Biology**. 59 (2005), pp. 345-362. Full Text via CrossRef | View Record in Scopus | Cited By in Scopus (21)

MAHMUDA KHANOM and Ueda -Bioconversion of aliphatic and aromatic alcohols to their corresponding esters in melons (*Cucumis melo* L. cv. Prince melon and cv. Earl's favorite melon), Department of Plant Science, Osaka Prefecture University, 1-1 Gakuen-cho, Sakai, Osaka 599-8531, Japan Received 10 December 2007; accepted 29 February 2008. Available online 24 June 2008.

PEREZ.; OLIAS; SANZ; OLIAS. Furanoses in strawberry: evolution during ripening and postharvest shelf life. **Journal Agriculture Food and Chemistry**, v. 44, p. 3620-3624, 1996.

SHALIT et al. M. Shalit, N. Katzir, Y. Tadmor, O. Larkoy, Y. Burguer, F. Shalekhet, E. Lastochkin, U.Ravid, O.Amarte, M. Edelstein, Z. Karchi and E. Lewinsohn, Acetyl-CoA: alcohol acetyltransferase activity and aroma formation in ripening melon fruit **Journal Agriculture. Food Chemistry**. 49 (2001). Pp 794-799. Full text via Cross Ref | View record in Scopus | Cited By in Scopus (49) Shalit