



Proposta de Projeto de Iniciação Científica – Programa PIBIC

“INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FOTOPERÍODOS SOBRE O METABOLISMO DE CARBONO EM PLANTAS DE SETARIA ITALICA”

Pesquisadora responsável: Dra Marina Câmara Mattos Martins (CTBE)

Introdução

As plantas são submetidas a variações constantes no suprimento de carbono (C), incluindo alternâncias diárias entre a fixação fotossintética de C durante o dia e crescimento e respiração durante a noite. A maioria das plantas tamponam essas mudanças acumulando parte dos fotoassimilados na forma de amido transitório nas folhas, que é remobilizado durante a noite para suportar as atividades metabólicas, principalmente respiração e exportação de C na forma de sacarose para os outros órgãos da planta (Geiger & Servaites 1994, Geiger et al. 2000, Smith & Stitt 2007, Stitt et al. 2007). O padrão aparentemente simples de assimilação, acúmulo e utilização de C no período de 24 h depende de uma complexa e flexível rede de controle, importante não apenas para manter um balanço apropriado de C para sustentar o crescimento durante o ciclo diuturno, mas também para estabelecer novos balanços de C e taxa de crescimento em respostas a alterações impostas por perturbações ambientais (Smith & Stitt 2007). Mudanças ambientais impostas pelo ciclo diuturno alteram a quantidade de C fixado no ciclo de 24 h. Diversos estudos relatam a estimulação da síntese de amido em plantas crescidas em períodos curtos de luz e o fato da degradação de amido ser afetada pelo comprimento do fotoperíodo (Stitt et al. 1978, Chatterton & Silvius 1979, 1980, 1981; Mullen & Koller 1988, Lorenzen & Ewing 1992, Gibon et al. 2004). O controle eficiente do uso das reservas de amido em folhas é um fator importante na determinação do crescimento e da biomassa da planta (Sulpice et al. 2009).

A biomassa vegetal é a matéria prima para a produção de biocombustíveis. Compreender como as plantas crescem em resposta a diferentes estímulos ambientais e como o metabolismo se adequa frente a esses estímulos é de extremo interesse para a conversão de biomassa em biocombustíveis. O presente projeto tem por objetivo estudar a influência de diferentes fotoperíodos no metabolismo de carbono de plântulas de *Setaria italica*, uma gramínea com sistema de fotossíntese C4. Essa espécie tem de destaque como planta modelo devido ao tamanho pequeno do genoma (aproximadamente 515 Mb), ciclo de vida curto e estreita relação com milho e sorgo, espécies de interesse agrônomo para a geração de biocombustíveis (Li & Brutnell 2011, Lata et al. 2012). É esperado que tal abordagem forneça dados para elucidar a dinâmica do metabolismo de C diuturno, bem como a síntese e degradação de amido em *S. italica*.



Metodologia

Cultivo de plantas e coleta

Em um experimento piloto, plântulas de *S. italica* serão crescidas em solo, em condições naturais de fotoperíodo e temperatura (aproximadamente 12 h luz/ 12 h escuro). Experimentos posteriores serão realizados em diferentes fotoperíodos: dias curtos (8 h luz/ 16 h escuro) e dias longos (14 h luz/ 10 h escuro). Após 30 dias de cultivo, amostras serão coletadas ao longo do ciclo diurno (8h-12h-16h-20h-0h-4h e noite estendida por 4 h) em triplicatas, cada uma contendo 3 plântulas.

Análise de carboidratos

Amostras de 20 mg de peso fresco serão extraídas com etanol (Cross et al. 2006) para análise do conteúdo de açúcares solúveis (glicose, frutose, sacarose e maltose) por cromatografia líquida de alto desempenho com detecção de pulso amperométrico (HPLC-PAD), utilizando um aparelho Dionex ICS 3000 e coluna PA 1. O pellet remanescente da extração etanólica será utilizado para determinação de amido através de um ensaio enzimático sensível (Hendriks et al. 2003).

Análise da expressão gênica de genes marcadores do ciclo diurno

Genes conhecidos na literatura por apresentarem regulação dos seus níveis de expressão gênica durante o ciclo diurno terão sua expressão monitorada através de PCR por tempo real (Czechowski et al. 2004) para verificar a influência dos diferentes fotoperíodos, como por exemplo genes que codificam proteínas do metabolismo de nitrogênio (nitrato redutase e asparagina sintase), proteínas envolvidas no controle central do relógio biológico (“late elongated hypocotyl”) e enzimas envolvidas na degradação de amido (“disproportionating enzymes” DPE1 e DPE2).

O bolsista de iniciação científica estará envolvido nas diversas etapas da execução deste projeto descritas acima, bem como análise dos resultados e participação na redação de artigos científicos.

Referências

- Chatterton NJ & Silvius JE** (1979) Photosynthate partitioning into starch in soybean leaves. 1. Effects of photoperiod versus photosynthetic period duration. *Plant Physiology* 64: 749-753.
- Chatterton NJ & Silvius JE** (1980) Photosynthate partitioning into leaf starch as affected by daily photosynthetic period duration in six species. *Physiologia Plantarum* 49: 141-144.
- Chatterton NJ & Silvius JE** (1981) Photosynthate partitioning into starch in soybean leaves. 2. Irradiance level and daily photosynthetic period duration effects. *Plant Physiology* 67: 257-260.



- Czechowski T, Bari RP, Stitt M, Scheible W-R, Udvardi MK (2004)** Realtime RT-PCR profiling of over 1400 Arabidopsis transcription factors: unprecedented sensitivity reveals novel root- and shoot-specific genes. *The Plant Journal* 38: 366-379.
- Geiger DR & Servaites JC (1994)** Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in C3 plants. *Annual Review of Plant Physiology* 45: 235-256.
- Geiger DR, Servaites JC, Fuchs MA (2000)** Role of starch in carbon translocation and partitioning at the plant level. *Australian Journal of Plant Physiology* 27: 571-582.
- Gibon Y, Bläsing OE, Palacios-Rojas N, Pankovic D, Hendriks JH, Fisahn J, Höhne M, Gunther M, Stitt M (2004)** Adjustment of diurnal starch turnover to short days, depletion of sugar during the night leads to a temporary inhibition of carbohydrate utilization, accumulation of sugars and post-translational activation of ADP-glucose pyrophosphorylase in the following light period. *Plant Journal* 39: 847-862.
- Hendriks JHM, Kolbe A, Gibon Y, Stitt M, Geigenberger P (2003)** ADP-glucose pyrophosphorylase is activated by posttranslational redox-modification in response to light and to sugars in leaves of Arabidopsis and other plant species. *Plant Physiology* 133: 838-849.
- Lata C, Gupta S, Prasad M (2013)** Foxtail millet: a model crop for genetic and genomic studies. *Critical Reviews in Biotechnology* (doi: 10.3109/07388551.2012.716809)
- Li P & Brutnell TP (2011)** *Setaria viridis* and *Setaria italica*, model genetic systems for the Panicoid grasses. *Journal of Experimental Botany* (doi:10.1093/jxb/err096)
- Lorenzen JH & Ewing EE (1992)** Starch accumulation in leaves of potato (*Solanum tuberosum* L.) during the first 18 days of photoperiod treatment. *Annals of Botany* 69: 481-485.
- Mullen J & Koller R (1988)** Daytime and nighttime carbon balance and assimilate export in soybean leaves at different photon flux densities. *Plant Physiology* 86: 880-884.
- Smith AM & Stitt M (2007)** Coordination of carbon supply and plant growth. *Plant, Cell and Environment* 30: 1126-1149.
- Stitt M, Bulpin PV, Rees TA (1978)** Pathway of starch breakdown in photosynthetic tissues of *Pisum sativum*. *Biochimica et Biophysica Acta* 544: 200-214.
- Stitt M, Gibon Y, Lunn JE, Piques M (2007)** Multilevel genomics analysis of carbon signaling during diurnal cycles: balancing supply and utilization by responding to changes in the nonlimiting range. *Functional Plant Biology* 34: 526-549.