

# **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 20**

## **Isolamento e caracterização de cDNAs codificadores para proteínas musculares do nematóide do cisto da soja, *Heterodera glycines***

Patrícia Messemberg Guimarães  
Soraya Cristina de M. Leal Bertioli  
David J. Bertioli

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Serviço de Atendimento ao Cidadão

Parque Estação Biológica, Av. W5 Norte (Final) - Brasília, DF

CEP 70770-900 - Caixa Postal 02372

PABX: (61) 448-4600

Fax: (61) 340-3624

<http://www.cenargen.embrapa.br>

[e.mail:sac@cenargen.embrapa.br](mailto:e.mail:sac@cenargen.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias

Secretária-Executiva: Miraci de Arruda Camara Pontual

Membros: Antônio Costa Allem

Marcos Rodrigues de Faria

Marta Aguiar Sabo Mendes

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares Campos Carneiro

Suplentes: Edson Junqueira Leite

José Roberto de Alencar Moreira

Supervisor editorial: Miraci de Arruda Camara Pontual

Revisor de texto: Miraci de Arruda Camara Pontual

Normalização bibliográfica: Sérgio Souza Santos

Tratamento de ilustrações: Alysso Messias da Silva

Editoração eletrônica: Alysso Messias da Silva

**1ª edição**

1ª impressão (2001): tiragem 150 exemplares.

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

---

GUIMARÃES, P. M.; BERTIOLI, S. C. de M. L.; BERTIOLI, D. J.  
Isolamento e caracterização de cDNAs codificadores para  
proteínas musculares do nematóide do cisto da soja,  
*Heterodera glycines*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos  
e Biotecnologia, 2001. 22p. (Embrapa Recursos Genéticos e  
Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 20).  
ISSN 1676-1340

1. Biologia molecular. 2. Nematóide - cisto da soja.  
3. *Heterodera glycines*. 4. Soja. 5. Proteínas musculares. I. Título  
II. Guimarães, P. M. III. Bertioli, S. C. de M. L. VI. Bertioli, D. J.

CDD 633.34

# Sumário

Resumo .....	5
Introdução .....	6
Materiais e Métodos .....	7
Varredura da biblioteca .....	7
Seqüenciamento e análise de dados .....	8
Resultados e Discussão .....	8
Seleção dos anticorpos policlonais .....	8
Varredura da biblioteca de expressão .....	8
Análise das seqüências .....	8
Discussão e Conclusão .....	9
Referências Bibliográficas .....	11

## Introdução

Desde sua introdução no país em 1991/92 (Mendes & Machado, 1992), o nematóide do cisto da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe constitui um dos maiores problemas fitossanitários da cultura no Brasil, tendo infestado cerca de 2 milhões de hectares, com perdas de cerca de 130 milhões de dólares (Silva, 1999; Wrather et al., 1997). Na fase juvenil, os nematóides invadem as raízes da planta e escolhem uma única célula na qual injetam secreção com seu estilete. Esta secreção induz a célula a crescer e se fundir com as células adjacentes, formando o sítio de alimentação do nematóide (SAN). Este sítio torna-se metabolicamente ativo, com mudanças citoplasmáticas (Jones, 1981) sendo a única fonte de alimentação dos nematóides durante o seu ciclo de vida. A resistência de plantas a nematóides é freqüentemente mediada por uma resposta hipersensitiva nos SAN (Kim et al., 1987), sendo que a morte dos SAN automaticamente leva à morte do nematóide.

Até o momento, conhece-se muito pouco da bioquímica da interação do NCS com seu hospedeiro. Poucos genes foram isolados, e somente alguns deles estão relacionados com a interação nematóide-hospedeiro, como genes que codificam para as proteínas de secreção beta-1,4-endoglucanases (Smant et al., 1998) e proteases serínicas (Lilley et al., 1997; Urwin et al., 1997). Além disso, são poucos os genes estruturais já identificados em nematóides, especialmente os fitoparasitas, incluindo aqueles que codificam para proteínas envolvidas na sua locomoção dentro e fora da planta.

No nematóide de vida livre *Caenorhabditis elegans*, mostrou-se que a hipoderme contém feixes de diferentes filamentos como parte da estrutura das células (Francis & Waterson, 1985). Proteínas da superfamília de filamentos intermediários (IF) são parte desta estrutura e têm sido mencionadas no contexto da transmissão de tensão das células musculares para a cutícula (Francis & Waterson, 1991). Os citoesqueletos da maioria das células animais são compostos de três sistemas fibrosos que podem ser distintos por microscopia eletrônica: microfilamentos (5-6nm em diâmetro), filamentos intermediários (7-11nm) e microtúbulos (20-25nm) (Pruss et al., 1981).

Já a contração muscular ocorre quando actina e miosina, as principais proteínas dos filamentos finos e grossos respectivamente, escorregam uma sobre a outra em uma reação enzimática ATP-dependente. A tropomiosina, é uma proteína