

IDENTIFICAÇÃO DO INIBIDOR DE TRIPSINA KUNITZ EM SOJA, ATRAVÉS DE ELETROFORESE

Sérgio Delmar dos Anjos e Silva

Emídio Rizzo Bonato

Ana Lídia V. Bonato¹

Objetivo

Caracterizar genótipos de soja quanto à presença ou à ausência do inibidor de tripsina Kunitz e identificar os alelos que a controlam.

Metodologia

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia Molecular da EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, Passo Fundo, RS.

Foram utilizadas sementes de soja de cultivares recomendadas para o RS (CEP 12, CEP 20, BR-4, BR-16, BR-32, Davis, EMBRAPA 19, FT-Abyara, IAS 5, IPAGRO 21, Cobb, Ivorá e OCEPAR 14), das linhagens BRM 92-5262, BRM 92-5297 e BRM 92-5381 e das cultivares Aoda, Clark, Jefferson e Kunitz, servindo estas como testemunhas para a identificação dos alelos presentes. A presença ou a ausência do inibidor foi detectada através de eletroforese em gel de poliacrilamida 10 %, sistema descontínuo. Para a extração da proteína, foram usados, aproximadamente, 12 mg de grão e os tampões TSI-a (0,092 M trishidróximetilaminometano e 0,023 M CaCL₂. 2H₂O pH 8,1) e TSI-b (0,4 g/ml de sacarose), na proporção de 3:1, respectivamente, em relação ao peso da

¹ Bolsista DTI-RHAE/CNPq.

amostra. Centrifugou-se a amostra a 2.000 giros/min, durante 10 minutos. Retirou-se o sobrenadante, que foi mantido de 0 a 2°C até a aplicação no gel.

Foram aplicados 25 µl de amostra no gel, que foi submetido a 25 mA durante a corrida. O gel foi corado em uma solução contendo comassie blue (0,1 %), metanol (50 %), ácido acético (14 %) e água, durante 4 h, sob agitação. Para a descoloração, usou-se uma solução contendo metanol (30 %), ácido acético (10 %) e água, sob agitação.

Resultados

Todas as 13 cultivares de soja recomendadas para o RS apresentaram o inibidor controlado pelos alelos "*T^aT^a*", e as linhagens BRM 92-5262, BRM 92-5297 e BRM 92-5381, pelos alelos "*iii*". As testemunhas Aoda, Clark, Jefferson e Kunitz apresentaram, respectivamente, "*T^bT^b*", "*T^aT^a*", "*T^bT^b*" e "*iii*". A EMBRAPA-CNPT está conduzindo um projeto para a criação de cultivares de soja livres do inibidor de tripsina Kunitz, utilizando essa metodologia.