

RESUMO

LUCHO, Simone Ribeiro. Alterações na expressão de genes da rota de biossíntese de glicosídeos de esteviol e no conteúdo de compostos bioativos induzidos por elicitores em *Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae). 2018. 210f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Atualmente, existe uma demanda global por fontes adicionais de edulcorantes naturais e compostos antioxidantes e as plantas de *Stevia rebaudiana*, além de possuírem edulcorantes, chamados de glicosídeos de esteviol (GSs) também apresentam grande quantidade de compostos fenólicos. Diante disso, o presente estudo centrou-se em explorar a ação elicitora de quatro reguladores de crescimento, metil jasmonato (MeJa), espermidina (SPD), ácido salicílico (AS) e paclobutrazol (PBZ) e de diferentes concentrações de NaCl no conteúdo dos GSs (esteviosídeo e rebaudiosídeo A) e compostos fenólicos, bem como, sobre a capacidade antioxidante total e nível de expressão dos genes envolvidos nos três estágios da via de biossíntese dos GSs em *S. rebaudiana*. Para isso, foram realizados quatro estudos, sendo que o primeiro teve por objetivo avaliar a estabilidade da expressão de sete genes candidatos a normalizadores (18S, Actina, Aquaporina, Calmodulina, Fator de Alongamento-1a, Malato desidrogenase e Ubiquitina) para posteriormente serem usados em estudos de expressão gênica. Inicialmente as plantas de estevia foram cultivadas *in vitro* e posteriormente passaram para um sistema hidropônico de fluxo contínuo com raízes flutuantes. Os tratamentos foram compostos pelo controle, somente com solução de Hoagland (50%) e os demais contendo a mesma solução adicionados de 100 μ M de MeJa, SPD e AS. Após 24 h da aplicação dos tratamentos, as folhas destas plantas foram coletadas em um período de cinco dias. Os resultados indicaram que os genes Ubiquitina e Actina podem ser usados para normalizar os dados de expressão gênica em *Stevia rebaudiana*, pois ambos os genes apresentaram alta estabilidade. O segundo estudo visou avaliar o efeito de MeJa, SPD, AS e PBZ sobre os níveis de expressão dos genes relacionados à biossíntese dos GSs e também sobre o conteúdo de esteviosídeo e rebaudiosídeo A. As condições experimentais foram as mesmas do primeiro estudo, exceto o tratamento com PBZ, que neste estudo constituiu mais um tratamento. Os resultados forneceram evidências diretas de que os tratamentos com MeJa e SPD resultaram em aumento na transcrição dos genes relacionados à biossíntese dos GSs, enquanto que o PBZ causou uma diminuição na expressão, principalmente naqueles genes que codificam as enzimas caurenoides (GGDPS, CDPS, KS, KO). O tratamento com AS não afetou a transcrição dos genes UGT85C2, UGT74G1 e UGT76G1 e causou uma diminuição nos níveis de esteviosídeo. O terceiro estudo teve por objetivo avaliar se algum dos compostos elicitores (MeJa, SPD, AS ou PBZ) eram capazes de aumentar o conteúdo de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante das plantas de estevia. As condições experimentais foram as mesmas do segundo estudo. Nossos resultados mostraram que a exposição ao MeJa propiciou maior produção de compostos fenólicos solúveis totais, carotenoides e adicionalmente uma atividade antioxidante aprimorada. Por outro lado, a adição de SPD, AS e PBZ não mostrou aumento significativo em nenhum dos parâmetros avaliados. O quarto e último experimento foi realizado *in vitro* e teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de NaCl

nos parâmetros de crescimento, açúcares solúveis totais, GSs e compostos fenólicos, bem como, na capacidade antioxidante e no nível de expressão dos genes envolvidos na biossíntese dos GSs em *S. rebaudiana*. Para atender este objetivo plantas de estevia foram inicialmente cultivadas in vitro em meio MS (50%) com diferentes concentrações de NaCl. Os resultados mostraram que as maiores concentrações de NaCl diminuíram alguns parâmetros de crescimento (número de raízes, massa seca e fresca) enquanto aumentaram a capacidade antioxidante (ensaio FRAP), ácidos hidroxicinâmicos e teor de açúcares solúveis totais. Além disso, vários genes que codificam importantes enzimas (CMS, CMK, HDR e UGT76G1) da via biossintética dos GSs foram regulados positivamente após o tratamentos com NaCl. Os resultados dos quatro estudos permitiram novos insights sobre os mecanismos de respostas fisiológicas, bioquímicas e moleculares das plantas de estevia após a aplicação de diferentes elicitores e abriu novos caminhos a serem explorados que assegurem o bom uso dessas fontes naturais de compostos, bem como a sobrevivência e sustentabilidade desta espécie.

Palavras chave: estevia; elicitores; metabólitos secundários; capacidade antioxidante; expressão diferencial