



PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO  
**EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO**  
O SEMEAR DA CIÊNCIA

## III SIAN *Simpósio de Alimentos e Nutrição*

Alimentos funcionais, saudáveis e sustentáveis - Desafios da Ciência de Alimentos

# O USO DA PROTEÔMICA NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ALIMENTOS

Caroline Mellinger Silva  
Embrapa Agroindústria de Alimentos  
Maio / 2017



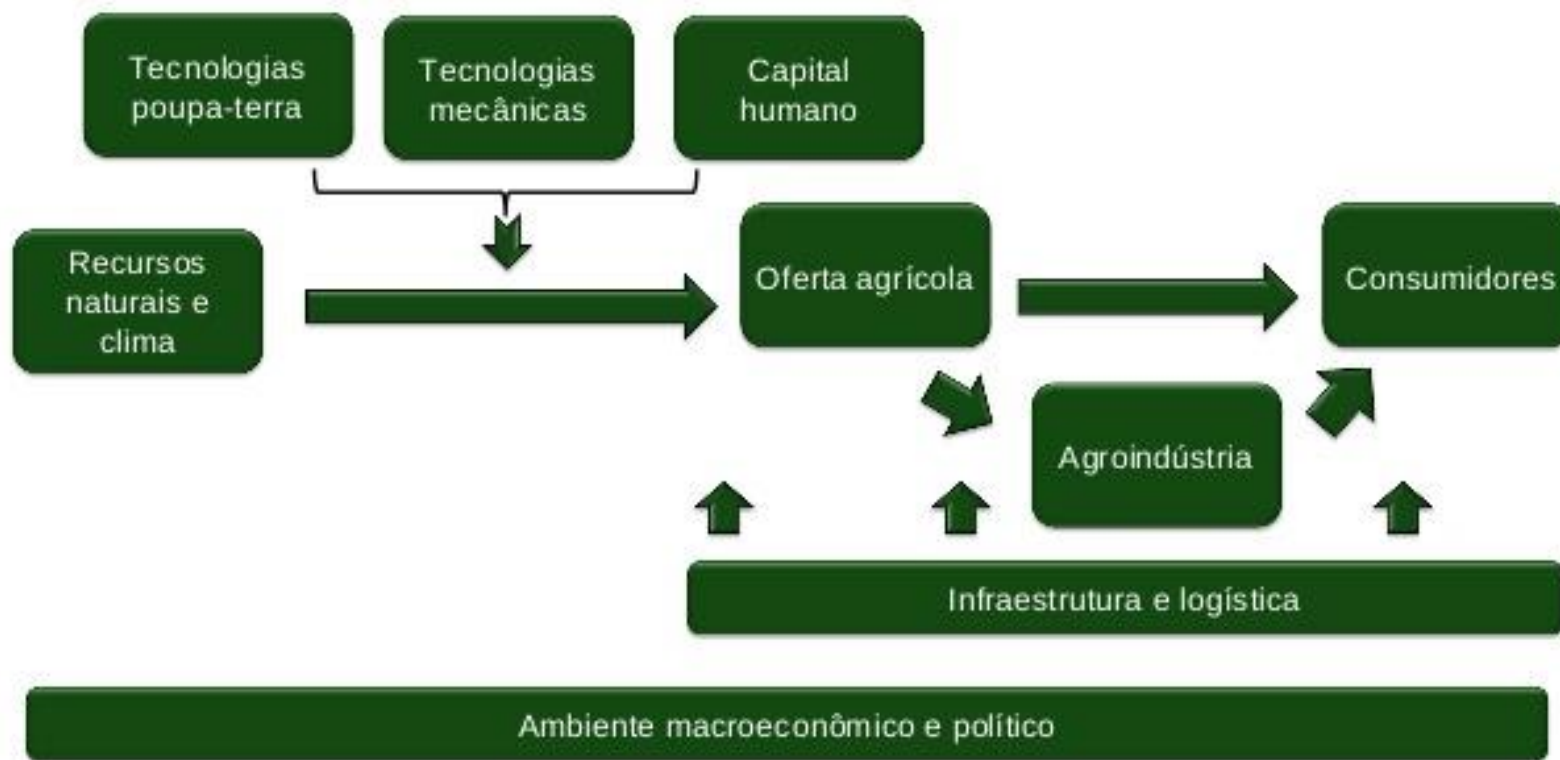
## » Introdução

- Cadeia de suprimentos de alimentos
- Qualidade dos Alimentos
- Ferramentas Proteômicas

## » Exemplos do uso de Proteômica na Qualidade dos Alimentos

## » Estudo de caso: Morangos

## Abordagem: Cadeia produtiva agropecuária



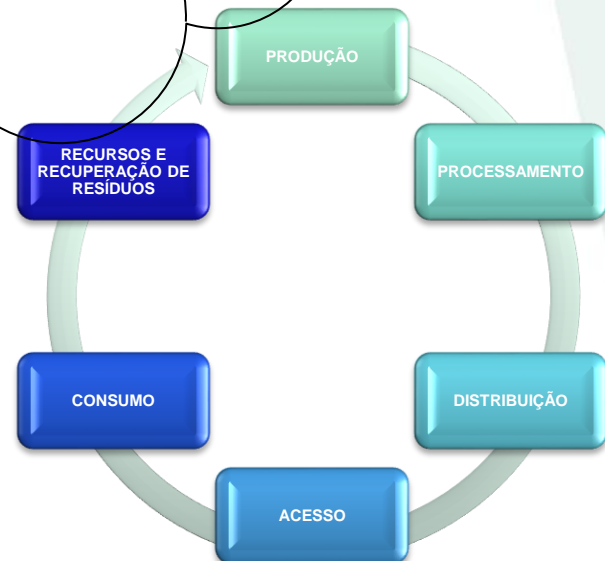


# Qualidade dos Alimentos

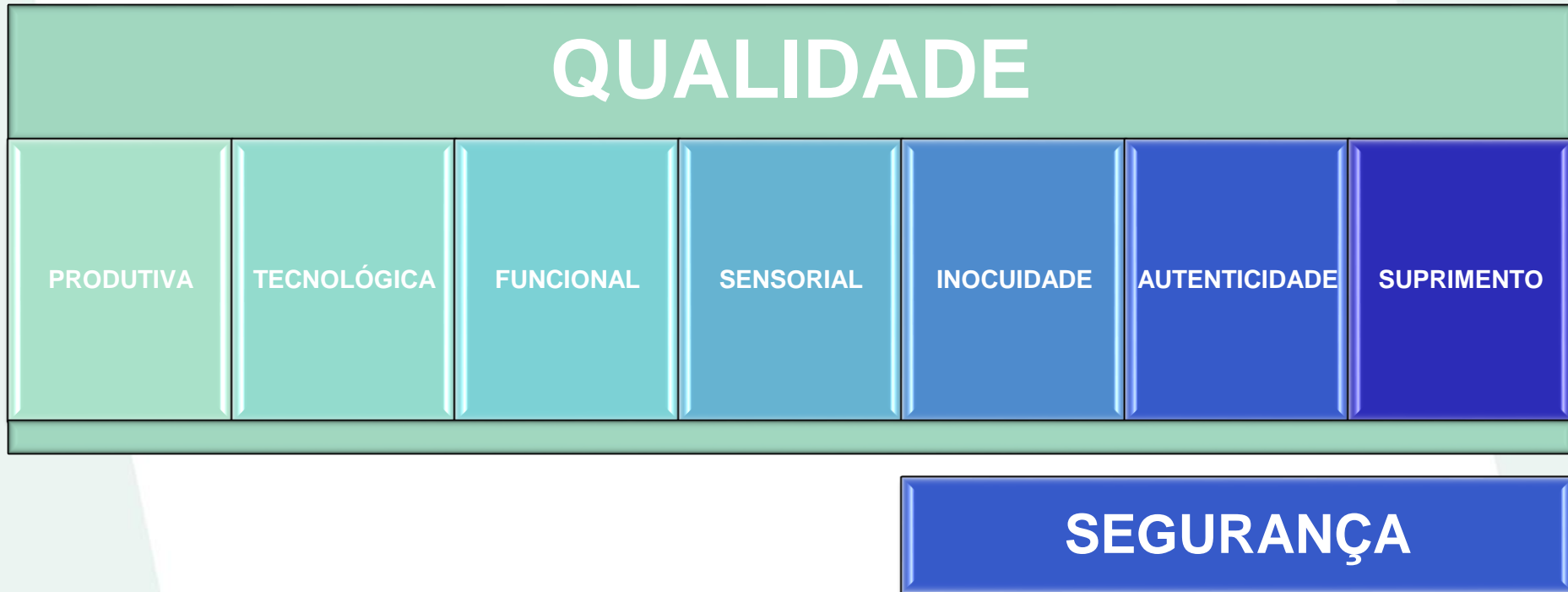
A qualidade de alimentos se refere às suas propriedades ou aos atributos capazes de distingui-los e que permitem a sua aceitação, aprovação ou recusa.



Como empregar o conceito de qualidade dos alimentos nos sistemas alimentares?



## Alguns pilares....



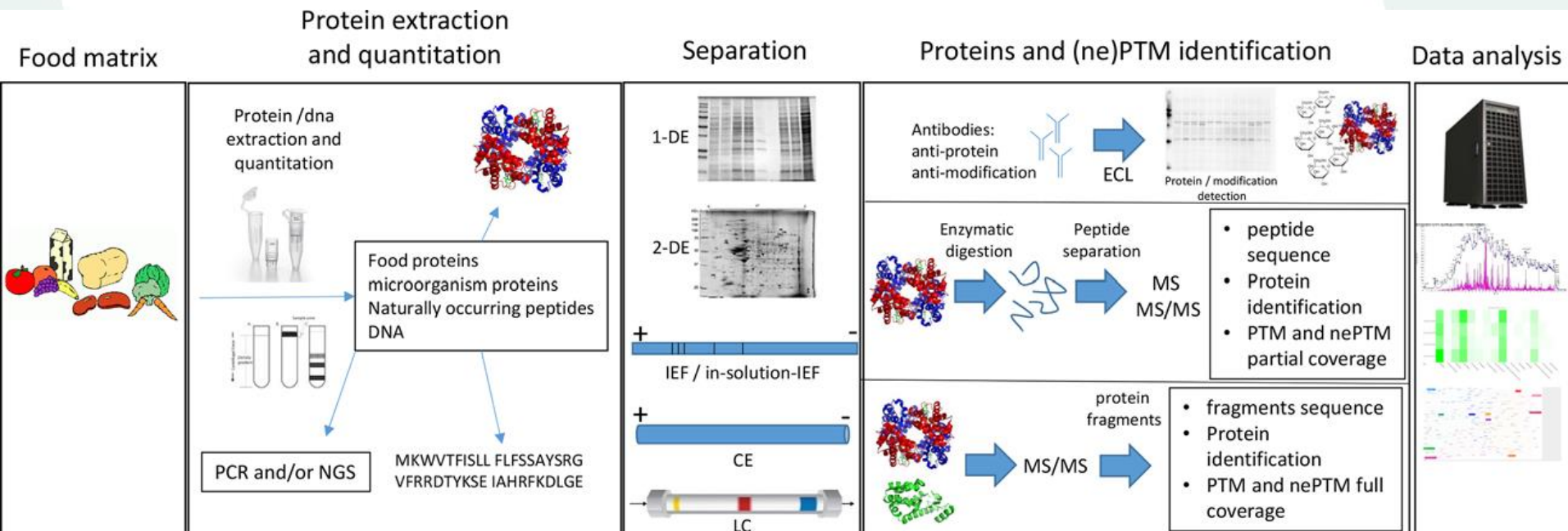
### Cada pilar da qualidade:

- múltiplos desdobramentos e inter-relação
- participação de diferentes segmentos sociais

## Definições básicas...

**PROTEOMA** - “é o conjunto de todas as proteínas expressas em um tecido, célula ou sistema biológico em dado momento ou condição fisiológica”  
(Wilkins et al., 1996)

**PROTEÔMICA** - “é o estudo dos proteomas”



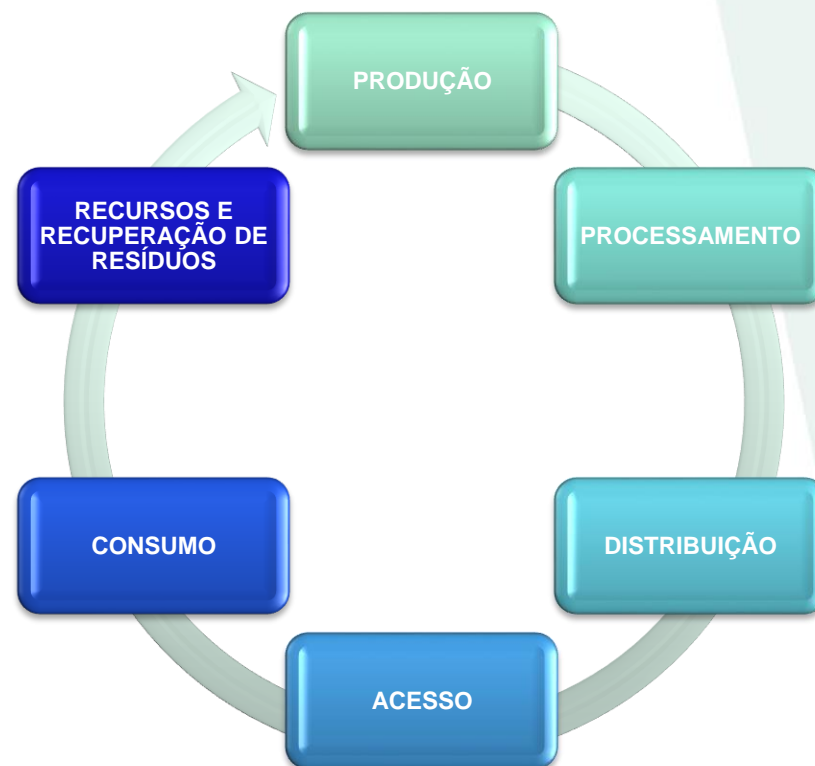
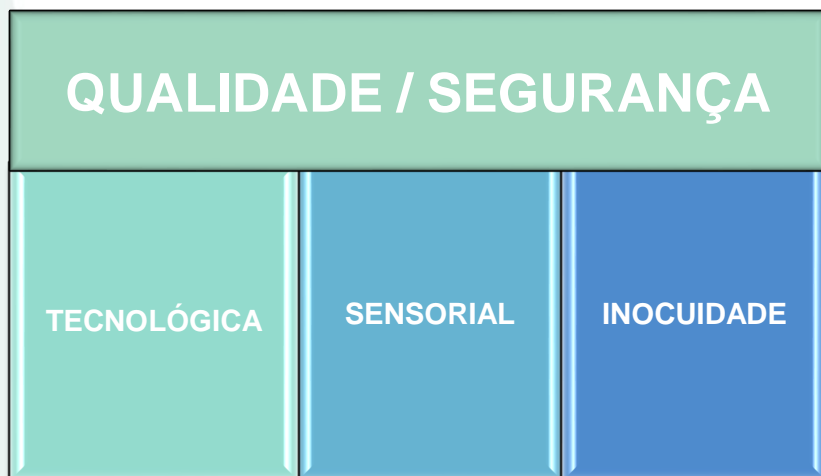
(Piras et. Al. Proteomics in food: Quality, safety, microbes and allergens. Proteomics, 2016)



- » **Vasta aplicação**
  - » **Em todas as fases do ciclo dos alimentos**
  - » **Em alimentos, insumos, etc...**
    - » **De qualquer origem**
  
- » **Proteômica comparativa**

## » Alguns exemplos...

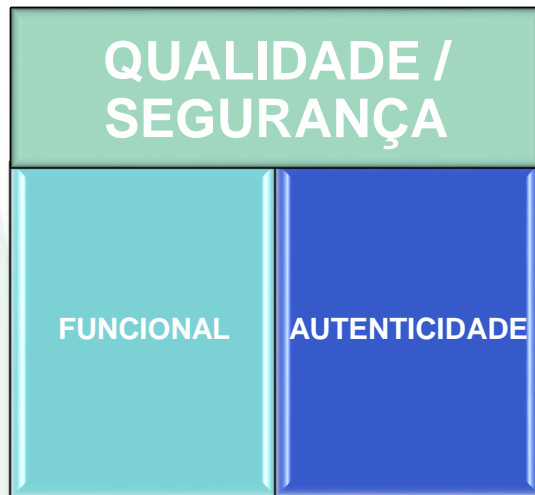
### 1. O uso de alta pressão para o amaciamento de carnes



(Begonya e Mullen. Meat Science, 2014)

## » Alguns exemplos...

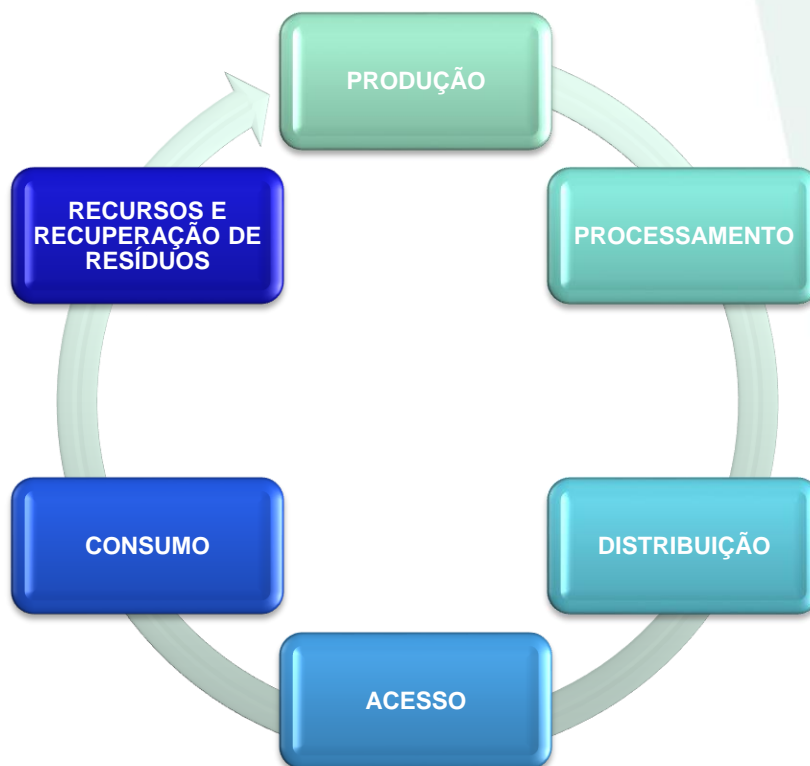
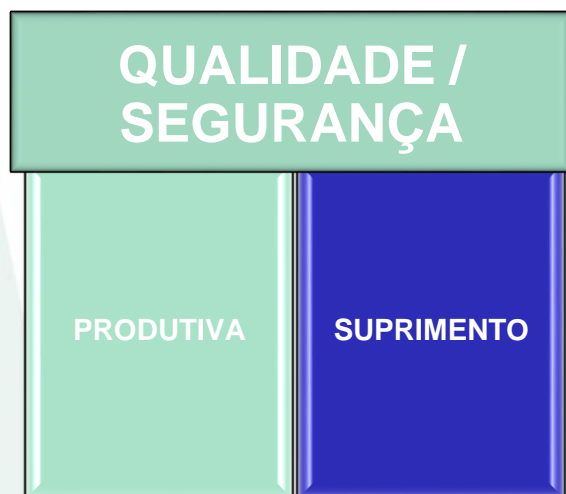
### 2. Adulteração de leite por adição de soro de leite



(Motta et al., Atlanta, 2014)

» Alguns exemplos...

## 3. Uso de indutores de defesa naturais em vegetais



(Mellinger-Silva et al., 2017 - submissão)

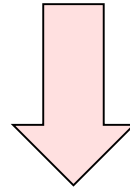
## » Morango

**Amplo consumo no mundo**

**Alta perecibilidade: suscetível à patógenos**

**Baixa vida útil no período pós-colheita**

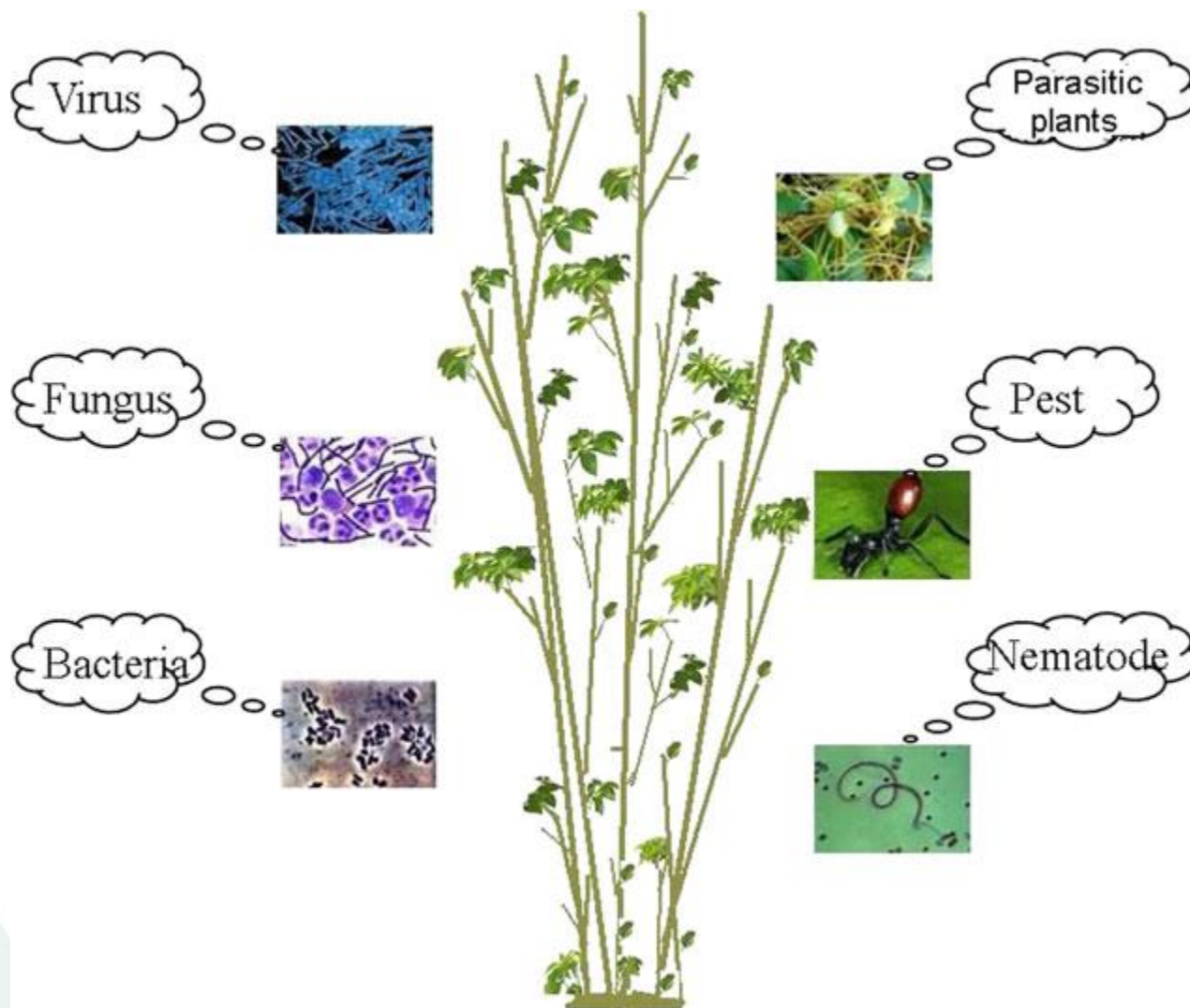
**Uso excessivo de defensivos agrícolas**



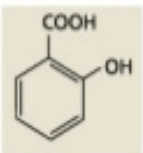
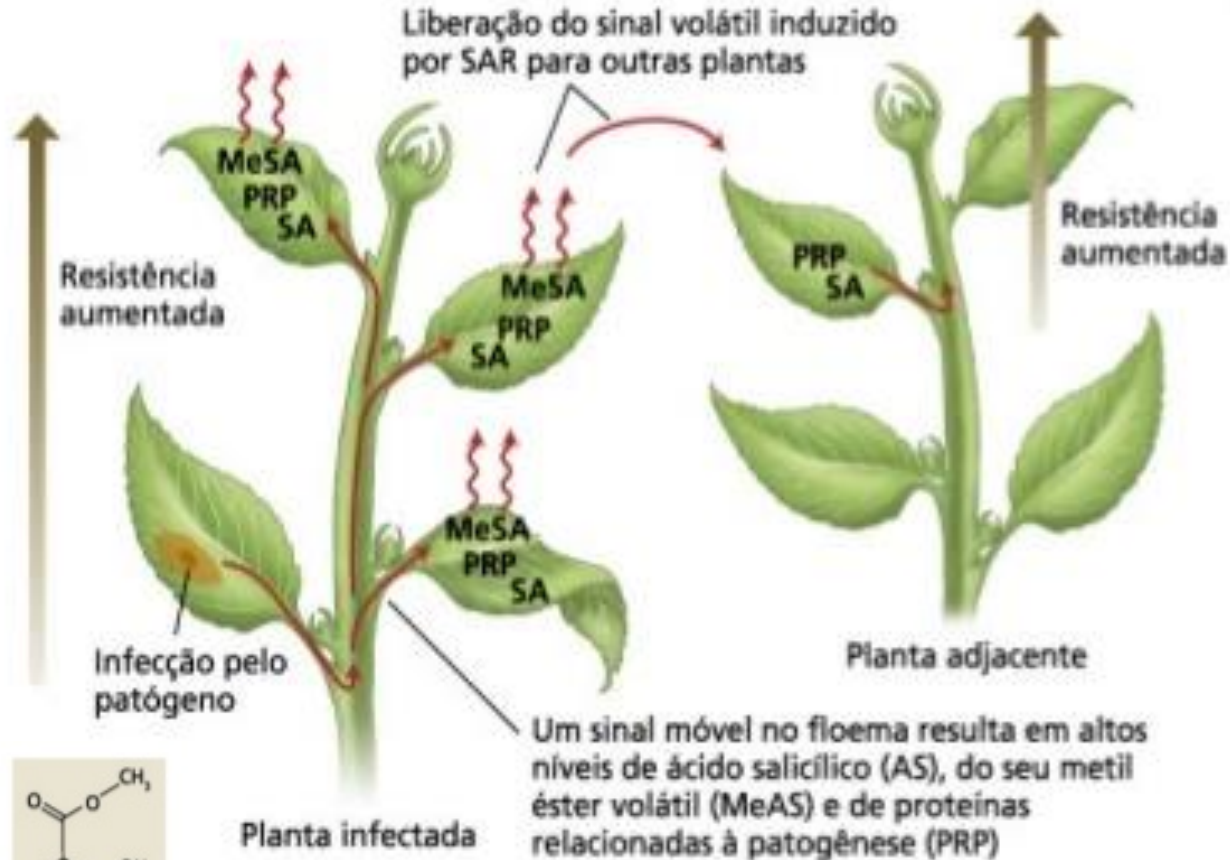
**Alternativas para tornar a planta  
mais resistente à patógenos**



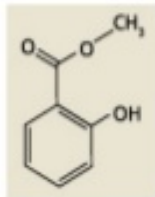
## » Defesa Vegetal: estresse biótico



## » Resistência Sistêmica Adquirida (SRA)



Ácido salicílico (AS)



Metil salicilato (MeAS)

## » Experimento em campo – Marcos Fonseca e equipe

Replicatas biológicas



Concentração de SA

SA-  
SA+1  
**SA+2**  
SA+3  
SA+4

Seleção do material para proteômica

\* folhas do morangueiro

- Maduras e centrais
- Colhidas com frutos em mesmo grau de maturação



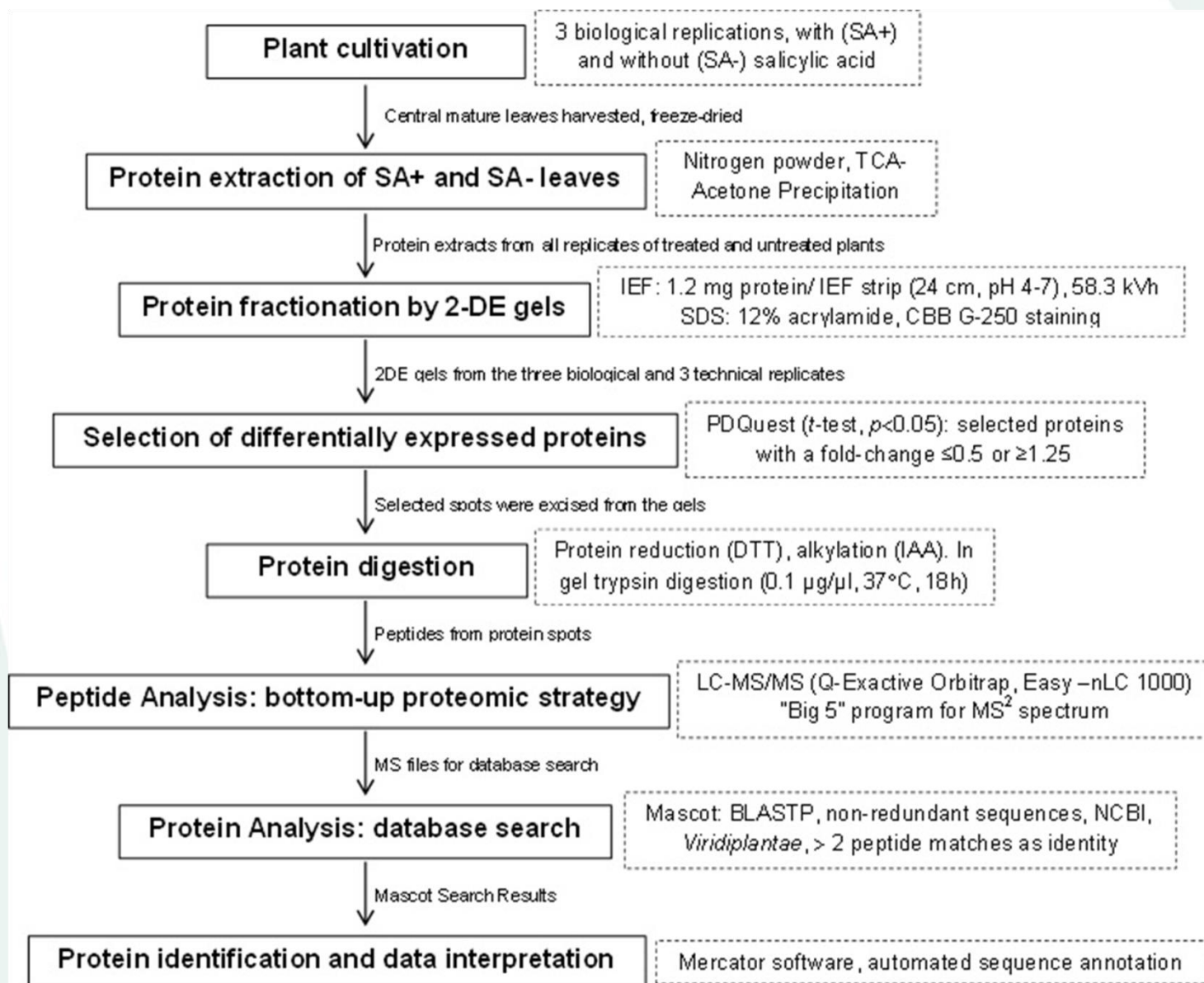


Fig 1. Experimental flowchart.

## 1. Geis 2-DE: PDQuest- BioRad

(3 rep. biológicas + 3 rep. técnicas)  
Master Gel

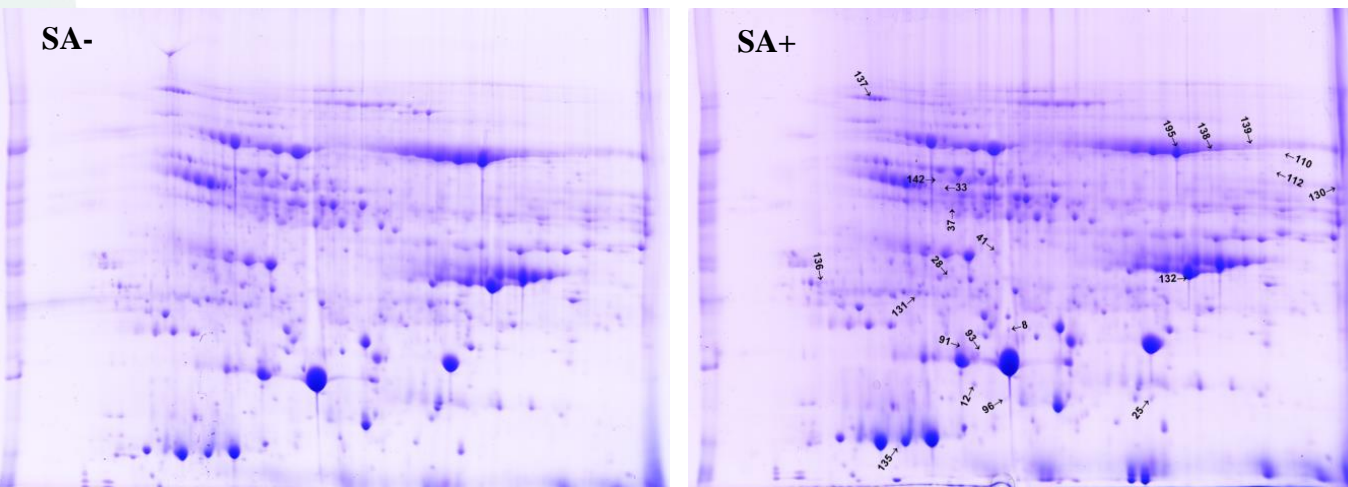


Fig 2. Representative 2-DE gel images of control (SA-) and salicylic-acid-treated (SA+) strawberry leaves. Numbers indicate the proteins that are shown in table 1, which are part of the significantly altered spots.

- ✓ 424 spots identificados
- ✓ 100 spots foram tidos como significativamente alterados: 23% de alteração
- ✓ 7 spots: down-regulation
- ✓ 4 spots: exclusivos de uma condição
- ✓ 89 spots: up-regulation

## 2. Regulação da expressão proteica após tratamento (SA+)

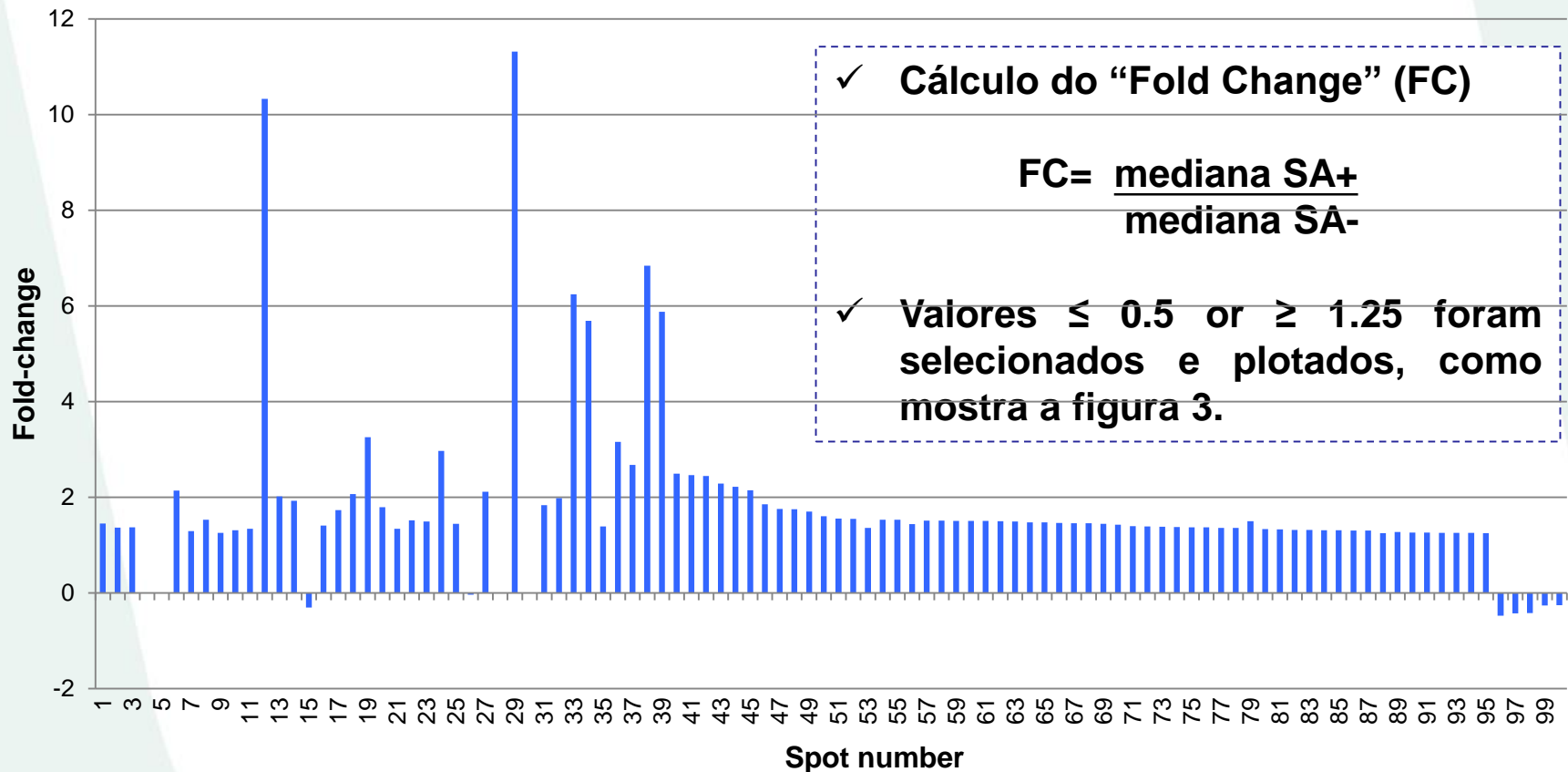
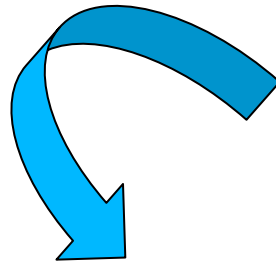
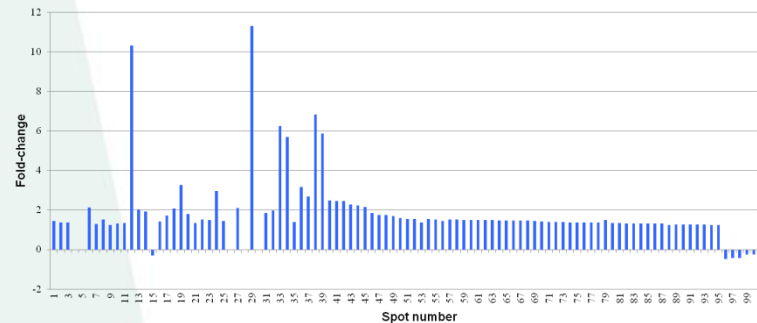


Fig 3. Fold-change of differentially expressed protein spots from SA-treated and non-treated strawberry leaves.

## 2. Regulação da expressão proteica após tratamento (SA+)



✓ 89 spots foram up-regulated



✓ 69 spots: FC < 2.0 (77.5%)

✓ Somente 20 spots foram maior que 2.0

**SA promoveu aumento da expressão proteica, mas não alterou o metabolismo da planta para o modo de defesa!**

**Plantas mais saudáveis, maiores e mais produtivas!**

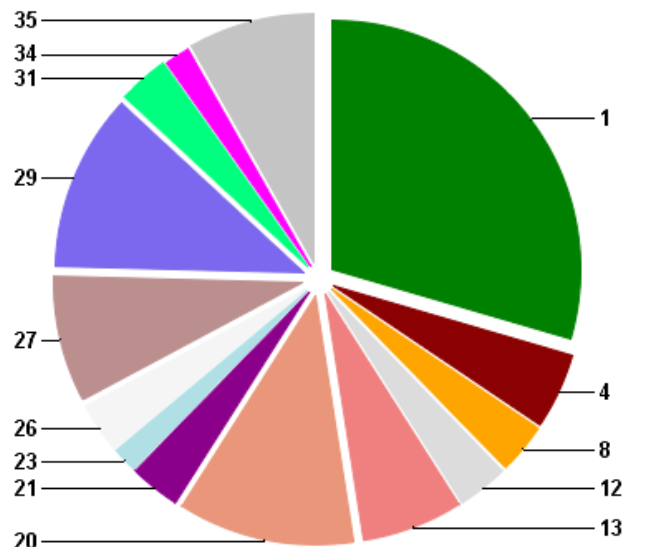
## 3. Identificação Proteica: Mascot

✓ Dos 100 spots: 74 proteínas já caracterizadas por LC-MS/MS

Table 1. Most intense differentially expressed proteins identified by LC-MS/MS in strawberry leaves in response to SA treatment. Yellow lines represent proteins related to stress-defense responses.

Fold-change	Spot #	Protein Name	Mascot Score	Peptides Matches	Coverage	Organism	NCBI acc. no.	T. Mr (kDa)
11.32	110	glutamate-glyoxylate aminotransferase 2	69	2	7%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004309987	53610
10.33	25	Major strawberry allergen Fra a 1-B	663	16	76%	Fragaria x ananassa	CAJ85639	17858
6.84	135	pathogenesis-related protein 1A-like	325	7	25%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004289697	18075
6.24	130	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase A, chloroplastic	957	28	48%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004304578	43404
5.88	136	28 kDa ribonucleoprotein, chloroplastic	174	4	21%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004299163	32467
5.69	131	carbonic anhydrase 2	144	3	12%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004304623	36528
3.25	41	soluble inorganic pyrophosphatase 6, chloroplastic	52	2	5%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004290321	32970
3.16	132	chlorophyll a-b binding protein of LHCl type 1	157	2	24%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004293579	28012
2.97	91	ATP synthase delta chain, chloroplastic	59	2	11%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004290445	26767
2.49	137	stromal 70 kDa heat shock-related protein, chloroplastic-like	421	13	40%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004307167	75070
2.46	138	glutamate-glyoxylate aminotransferase 2	371	8	29%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004309987	53610
2.44	139	NADP-dependent glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	205	4	13%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004287120	54101
2.14	142	glutamine synthetase leaf isozyme, chloroplastic	320	8	32%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_011462784	47978
2.14	12	MLP-like protein 43	319	10	22%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004297382	17950
2.11	96	glycine-rich RNA-binding, abscisic acid-inducible protein-like isoform X1	109	3	27%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004289673	17217
2.07	37	photosystem II stability/assembly factor HCF136, chloroplastic	409	13	40%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004297743	44122
2.01	28	probable plastid-lipid-associated protein 6, chloroplastic	788	18	56%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004296384	30615
-0.04	93	apolipoprotein D	113	2	8%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004287111	21137
-0.31	33	succinyl-CoA ligase [ADP-forming] subunit beta, mitochondrial	1485	40	71%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004289972	45390
-0.48	195	chloroplast stem-loop binding protein of 41 kDa a, chloroplastic	93	2	11%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004290655	43908
SA+ only	8	photosystem I reaction center subunit II, chloroplastic-like	176	4	33%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004296896	22647
SA+ only	112	aminomethyltransferase, mitochondrial	58	2	24%	F. vesca, subsp. Vesca	XP_004293305	44516

## 4. Caracterização funcional das proteínas: Mercator



✓ Principais alterações na expressão proteica: fotossíntese, metabolismo proteico e resposta de defesa-estresse

✓ Mais de 10% das alterações estão relacionadas à estresse e defesa!

Fig 4. Functional groups of 74 differentially expressed proteins according to Mercator Pipeline using automated sequence annotation from NCBI, PBLAST.

**- uso do SA induziu a expressão de proteínas em folhas de morangueiros, dentre as quais 11.5% estão relacionadas à mecanismos de estresse e defesa vegetal.**

**Baseando-se nesses resultados, em conjunto com os dados agronômicos e fisiológicos previamente obtidos, entende-se que o uso exógeno de SA no período pré-colheita pode ser um candidato em substituição ao uso de pesticidas convencionais, melhorando a qualidade dos frutos e a saúde da planta; além de ser uma alternativa segura para a saúde humana e amiga do meio ambiente.**

## ✓ Submissão: Postharvest Biology and Technology

**Effects of exogenous salicylic acid treatment on the proteome of strawberry leaves**

Caroline Mellinger-Silva<sup>1</sup>, Marília P. Stephan<sup>1</sup>, Marcos Fonseca<sup>1</sup>, [Ursula Fernando](#)<sup>2</sup>, [Christof Rampitsch](#)<sup>2</sup>

## ✓ Submissão: Journal of Proteomics

**Label-free quantitative proteomics to investigate the effect of exogenous salicylic acid treatment on the proteome of strawberry leaves: A comparative study to classic 2DE approach**

Caroline Mellinger-Silva<sup>1</sup>, Marília P. Stephan<sup>1</sup>, Marcos Fonseca<sup>1</sup>, [Ursula Fernando](#)<sup>2</sup>, [Christof Rampitsch](#)<sup>2</sup>

## ✓ Outros cultivos: alface e couve-flor



# Agradeço a atenção de todos!



[caroline.mellinger@embrapa.br](mailto:caroline.mellinger@embrapa.br)



MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO

