



INSTITUTO FEDERAL
RIO DE JANEIRO



CONCURSO PÚBLICO
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO RIO DE JANEIRO
EDITAL Nº 006/2022

PADRÃO DE RESPOSTAS DA PROVA DISCURSIVA REALIZADA DOMINGO, 15 DE MAIO DE 2022.

PADRÃO DE RESPOSTAS OFICIAL

RIO – 02

BIOLOGIA

Virologia Vegetal e Cultura de Tecidos Vegetais

Nº DA QUESTÃO	Espera-se que o candidato(a) desenvolva os aspectos/conteúdos propostos a seguir.
1	<p>O candidato deverá desenvolver o(s) conteúdo(s) com base nos seguintes aspectos:</p> <p>A) Identificar corretamente métodos de micropropagação apresentados na figura. Multiplicação de brotos a partir de gemas axilares (estaquia) e a formação de brotos adventícios e embriões somáticos através das técnicas de organogênese e embriogênese, respectivamente. Na formação de brotos adventícios, quando há formação de brotos diretamente a partir do explante inicial, denominamos organogênese direta e quando embriões são formados diretamente do explante inicial denominamos embriogênese direta. Quando o explante dá origem a calos e posteriormente a brotos ou embriões, denominamos, respectivamente, organogênese indireta e embriogênese indireta (estágio 2). (1,0 ponto)</p> <p>B) Falar da etapa de desinfestação (limpeza superficial). Os explantes serão submetidos à desinfestação e um lote de estacas é transferido para meio de cultura ao mesmo tempo. O material é então incubado e, após um curto período, é avaliado e todas as culturas que apresentem contaminação no explante ou meio são descartadas. (0,5 pontos)</p>

- C) **Diferenciar o tipo de explante inicial para multiplicação de brotos a partir de gemas axilares (estaquia ou *shoot tip culture*) e a formação de brotos adventícios.** Na multiplicação de brotos a partir de gemas axilares o explante inicial são estacas contendo gemas apicais e/ou axilares com aproximadamente 20 mm. Na formação de brotos adventícios, o explante inicial pode ser os mais variados sem conter gemas vegetativas. **(1,0 pontos)**
- D) **Desenvolvimento na estaquia.** Espera-se que as plantas que foram estabelecidas *in vitro* (estágio 1) desenvolvam o meristema axilar formando um novo broto. Este desenvolvimento da gema axilar se deve à quebra da dominância apical (estágio 2). **(0,5 pontos)**
- E) **Regulação hormonal na estaquia.** Em geral, nos estágios 1 e 2 não há necessidade de adição de reguladores de crescimento. O balanço de auxina e citocinina endógenos contidos no explante são suficientes para disparar o crescimento do meristema que então irá iniciar a produção de auxina endógena. Embora para a maioria das espécies não haja necessidade de suplementar o meio com reguladores de crescimento, algumas necessitam de meio de cultura acrescido de regulador de crescimento da classe das citocininas. **(1,0 pontos)**
- F) **Regulação hormonal na formação de brotos adventícios.** Os explantes devem ser colocados em meio de cultura contendo um balanço de auxina e citocinina. Não há uma proporção exata entre auxina e citocinina para a indução de brotos (Organogênese direta) ou calos nas diferentes espécies. Existe uma proporção entre auxinas e citocininas que é responsável pela proliferação celular (formação de calos). A partir deste balanço, uma variação que favoreça citocinina tende a formar parte aérea (aumento de citocinina ou redução de auxina). Quando o explante dá origem a calos é necessário que haja a troca de meio para um meio com uma quantidade menor ou ausência de auxina. Do calo, podem se desenvolver brotos adventícios, sendo a técnica denominada (organogênese indireta (estágio 2)). **(1, 5 pontos)**
- G) **Indução embriões somáticos.** Os explantes devem ser colocados em meio de cultura contendo um balanço auxina:citocinina que favoreça a auxina ou somente auxina. A partir deste explante, podem surgir embriões somáticos de maneira direta (embriogênese direta) ou, mais comumente, calos embriogênicos. Quando o explante dá origem a calos é necessário que haja a troca de meio para um meio com uma quantidade menor ou ausência de auxina. Do calo, podem se desenvolver embriões somáticos, sendo a técnica denominada (embriogênese indireta (estágio 2)). **(1,5 pontos)**
- H) **Ciclos de multiplicação (estágio 2 da micropropagação).** As plântulas desenvolvidas no estágio 2 podem ser usadas como novas matrizes para micropropagação, aumentando assim o número de brotos. **(0,5 pontos)**
- I) **Preparo dos brotos para o crescimento no ambiente natural (estágio 3 da micropropagação).** Os brotos obtidos geralmente são pequenos e não possuem raízes. Desta forma, os brotos precisam se desenvolver e enraizar *in vitro* antes de serem transferidos para o meio externo. Algumas plantas podem enraizar no meio sem reguladores de crescimento. Entretanto, quando isso não ocorre é necessário transferir a planta para o meio de enraizamento que contém auxina em baixa concentração. **(0,75 pontos)**
- J) **Preparo para o ambiente natural (estágio 4 da micropropagação).** As plantas crescidas e com raízes serão preparadas para o ambiente natural (etapa 4). As condições do cultivo *in vitro* (alta umidade nos frascos de cultura, iluminação ineficiente e sacarose no

meio de cultura) fazem com que as trocas gasosas, o controle da abertura e fechamento dos estômatos e, por fim, a fotossíntese, fiquem prejudicada: Para que a planta possa ser transferida para o ambiente *ex-vitro*, ela deve ser retirada do vidro de meio de cultura e ter suas raízes cuidadosamente lavadas para retirar qualquer resquício de meio de cultura e então transplantada para recipiente contendo substrato adequado. E estes recipientes devem ser cobertos com material transparente para permitir a iluminação e manter a umidade das plantas, que deve ser gradativamente reduzida.

(0,75 ponto)

- K) **Identidade clonal (fidelidade genética).** Em relação à identidade clonal, os brotos obtidos a partir de estacas possuem uma maior identidade clonal, seguido dos métodos de brotos adventícios/embriões somáticos diretos e, por fim, os indiretos possuem menor identidade clonal (estabilidade genética). **(1,0 pontos)**

Total previsto de linhas para a resposta final do(a) candidato(a): **60 linhas.**

O candidato deverá desenvolver o(s) conteúdo(s) com base nos seguintes aspectos:

A) Composição da partícula viral e organização genômica: (2,0 pontos)

O vírus Y da batata (PVY) é composto por uma molécula de ARN de fita simples senso positivo **(0,20 pontos)**, possuindo uma única fase de leitura (*Open Reading Frame - ORF*) **(0,20 pontos)** que é traduzida em uma única poliproteína. Na região 3' terminal possui uma cauda poliadenilada poli (A) **(0,10 pontos)** e na região 5' terminal uma proteína VPg (Viral genome linked protein) **(0,10 pontos)**.

Abaixo as proteínas traduzidas a partir do genoma do PVY:

- a proteína N-terminal (P1) **(0,10 pontos)**,
- a protease competente auxiliar [*Helper component-protease (HC-Pro)*] **(0,10 pontos)**,
- a proteína P3 **(0,10 pontos)**,
- a proteína pequena 6K1 **(0,10 pontos)**,
- a proteína de inclusão citoplasmática [*Cytoplasmic inclusion (CI)*] **(0,10 pontos)**,
- a proteína pequena 6K2 **(0,10 pontos)**,
- a proteína VPg (*Genome-linked Viral Protein*) **(0,10 pontos)**,
- a proteína de inclusão nuclear a [*Nuclear inclusion protein protease a (NIa-Pro)*] **(0,10 pontos)**,
- a proteína de inclusão nuclear b (NIb-Pro) **(0,10 pontos)** e,
- a proteína da capa (capsídeo) (CP) **(0,10 pontos)**.

A partícula do vírus Y da batata (PVY) é composta por proteínas **(0,10 ponto)** e por ARN **(0,10 ponto)**, sendo que a maior contribuição vem das proteínas e os únicos produtos proteicos que fazem parte da partícula viral são a VPg **(0,10 ponto)** e a CP **(0,10 pontos)**.

B) Ciclo replicativo viral e o papel das proteínas envolvidas neste processo: (4,0 pontos)

Uma vez que entra na célula vegetal, o vírus Y da batata (PVY) desmonta a sua estrutura capsídica liberando o seu genoma composto por ARN fita simples polaridade positiva iniciando assim a replicação viral. Embora a maioria dos produtos proteicos estejam envolvidos de algum modo ao processo de replicação dos potívirus, existem um grupo central de proteínas associadas à replicação que não podem deixar de ser mencionados, como é o caso da CI, da 6K2, da NIa, da VPg e da NIb.

- CI → Helicase e Sítio de ligação ao ARN **(0,25 pontos)**
- 6K2 **(0,25 pontos)** → A proteína 6K2 associa-se a grandes estruturas vesiculares derivado do retículo endoplasmático (ER).
- NIa → VPg (Região N-terminal) **(0,25 pontos)** e protease (Região C-terminal) **(0,25 pontos)**.
A proteína VPg associada a NIa iria estimular a atividade de RNA polimerase associada ao NIb. **(0,25 pontos)**
A VPg interage com o aparato traducional eucariótico, por meio da interação com o eIF4E. **(0,25 pontos)**
A proteína VPg está envolvida no início do processo de síntese de ARN. **(0,25 pontos)**
- NIb → RNA polimerase dependente RNA (RdRp). **(0,25 pontos)**

Lembrar das interações entre as proteínas durante o processo de replicação viral: 6K-NIa **(0,25 pontos)**, NIa-NIb etc. **(0,25 pontos)**

O mRNA traduzido resulta em uma poliproteína, que é processada por três (03) proteases virais [P1, NIa e HC-Pro] **(0,25 pontos)** em dez proteínas diferentes que apresentam múltiplas funções (P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, VPg, NIa-Pro, NIb-Pro e CP) **(0,25 pontos)**. Essas proteínas, em conjunto com proteínas do hospedeiro, formam o complexo replicativo (complexo de replicação viral), que realiza a síntese de moléculas de ARN polaridade negativa tendo como molde o genoma viral **(0,25 pontos)**. Uma vez que as cópias adicionais de ARN tenham sido produzidas, elas codificam a síntese das várias proteínas, como por exemplo as proteínas da capa (Capsídeo) (*Coat protein - CP*). Essas proteínas de capa agora incluirão os genomas recém-formados para dar origem a novos vírions **(0,25 pontos)**. Tem sido sugerido que a montagem dos vírions recém-formados é iniciada pela interação das proteínas da capa a partir da região 5' terminal da proteína da capa em direção a região 3' terminal **(0,25 pontos)**. Todo o processo de replicação viral ocorre dentro do retículo endoplasmático e conta com a apoio da proteína 6K2 **(0,25 pontos)**.

C) Sintomatologia comum às diversas plantas hospedeiras, causada por diversos isolados, citando pelo menos duas espécies infectadas por este vírus: (2,0 pontos)

É sabido que o vírus Y da batata (PVY) infecta muitas espécies vegetais economicamente importantes, que incluem diversas Solanáceas, como a batata (*Solanum tuberosum*) **(0,10 pontos)**, o tabaco (*Nicotiana tabacum*) **(0,10 pontos)**, tomate (*Solanum lycopersicum*) **(0,10 pontos)** e a pimenta (*Capsicum spp.*) **(0,10 pontos)**, cabe pontuar que o nível de dano à cultura é determinado pelo isolado do vírus Y de batata infectando a cultura em questão **(0,10 pontos)**, a carga viral, o momento em que a infecção ocorre, bem como a tolerância que o hospedeiro possui em relação ao vírus. Diante disso, a infecção com isolados de PVY podem ocasionar diversos sintomas como: lesões necróticas foliares **(0,20 pontos)** e/ou de tubérculos **(0,20 pontos)**, lesões cloróticas **(0,20 pontos)**, mosqueado **(0,20 pontos)**, mosaico **(0,20 pontos)**, clareamento das nervuras **(0,20 pontos)**, além da própria combinação dos sintomas mencionados **(0,30 pontos)**.

D) Transmissão natural e experimental, enfatizando os vetores e tipo de transmissão por vetores: (1,0 ponto)

No caso do vírus Y da batata (PVY), a transmissão ocorre de três formas:

- i) transmissão por diferentes espécies de pulgões da família *Aphididae* (Natural). A forma mais comum de infecção PVY no campo se dá via pulgão, mesmo que a transmissão do PVY por pulgões ocorra de forma não persistente e não circulativa **(0,50 pontos)**. Em outras palavras, significa que a replicação viral não ocorre dentro do vetor pulgão e que, a menos que o pulgão se alimente de plantas infectadas, ele perde sua capacidade de infectar plantas após duas a três alimentações;
- ii) inoculação mecânica a partir de extratos de plantas infectadas (Experimental) **(0,25 pontos)** e,
- iii) inoculação por meio de enxertia (Experimental) **(0,25 pontos)**.

E) Possíveis formas de controle: (1,0 ponto)

As medidas profiláticas estão focadas na prevenção ou desaceleração da propagação de vírus em populações vegetais pelo emprego de variedades resistentes **(0,20 pontos)**, pelo uso controlado de material de propagação saudável **(0,20 pontos)**, da erradicação de plantas infectadas **(0,20 pontos)**, pelo controle do vetor de transmissão **(0,20 pontos)**, ou ainda pelas práticas de manejo cultural empregadas no campo (Rotação de cultura, limpeza de maquinário etc.) **(0,20 pontos)**.

Total previsto de linhas para a resposta final do(a) candidato(a): **60 linhas**.

O candidato deverá desenvolver o(s) conteúdo(s) com base nos seguintes aspectos:

1) Culturas de células em suspensão: (7,0 pontos)

a) Estabelecimento (3,0 pontos)

- Segmento de folha (limbo e/ou pecíolo) → **(0,3 ponto)**
- limpeza superficial do explante com soluções germicidas (desinfestação) → **(0,4 ponto)**
- transferência para meio de cultura SÓLIDO ... **(0,3 ponto)**
 - ... que estimule formação de calos FRIÁVEIS ... **(0,4 ponto)**
 - ... (provavelmente com auxina e citocinina) → **(0,3 ponto)**
- transferência para meio de cultura LÍQUIDO **(0,3 ponto)**

- ... que estimule proliferação celular ... **(0,4 ponto)**
- ... (provavelmente com auxina e citocinina) e ... **(0,3 ponto)**
- ... incubação sob agitação orbital **(0,3 ponto)**

b) Avaliação do crescimento: **(1,0 ponto)**

Parâmetros que podem ser citados: **(0,5 ponto)**

- peso fresco e peso seco (combinados),
- *packed cell volume* (centrifugação),
- sedimentação da cultura a um ângulo fixo,
- contagem de células em câmara de Neubauer

Para construção da curva de crescimento: **(0,5 ponto)**

- todos podem ser usados, mas quanto menos afetarem a cultura melhor (pela retirada de alíquotas, manipulação, etc.)

c) Baixa produção de metabólitos secundários: **(3,0 pontos)**

Características responsáveis:

- **desdiferenciação: (1,5 pontos)**
 - É possível que algumas vias metabólicas do metabolismo secundário estejam associadas a algum nível de diferenciação **(0,75 ponto)**
 - e, portanto, não existem nas culturas de células em suspensão desdiferenciadas **(0,75 ponto)**
- **alta taxa de proliferação (divisão celular): (1,5 pontos)**
 - Há competição entre as vias dos metabolismos primário e secundário... **(0,5 ponto)**
 - ... por precursores, **(0,5 ponto)**
 - ... levando à baixa acumulação de determinados metabólitos secundários nas culturas com alta taxa de proliferação celular. **(0,5 ponto)**

2) Influência da variação sazonal e geográfica na produção de metabólitos secundários: (3,0 pontos)

O metabolismo secundário está relacionado à interação do indivíduo (planta) com seu ambiente (biótico e abiótico). **(1,5 pontos)**

A principal característica responsável por isso é sua plasticidade genética: as vias metabólicas secundárias são oriundas de genes cuja expressão tem controle com alta plasticidade (genes que controlam funções sujeitas a pressão de seleção do ambiente). **(1,5 pontos)**

Total previsto de linhas para a resposta final do(a) candidato(a): **60 linhas**

