



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ



XXXI SIC

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Clonagem e identificação da localização subcelular do EuGene2 de Eugenia uniflora
Autor	GIOVANA FLAVIA ROSIN
Orientador	MARCIA MARIA A NACHENVENG P MARGIS

Clonagem e caracterização funcional do gene *EuGene2* de *Eugenia uniflora*

Giovana Flávia Rosin; Carolina da Silva Silveira; Fernanda Lazzarotto; Márcia Margis-Pinheiro
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

O estresse hídrico é um dos principais obstáculos para a produtividade de culturas de interesse econômico. Devido às mudanças climáticas, foi previsto que as secas se tornem ainda mais intensas e prevalentes nas próximas décadas, e que o aumento de temperatura global resulte em maiores taxas de evapotranspiração. Além disso, a irrigação corresponde a cerca de 70% do consumo mundial de água, compondo um custo para a agricultura e um peso ambiental. Dentre os meios utilizadas para a obtenção de plantas mais tolerantes ao déficit hídrico, a busca por recursos genéticos em espécies naturalmente adaptadas a condições extremas é uma importante estratégia com aplicações biotecnológicas. Nesse contexto, a espécie nativa brasileira *Eugenia uniflora*, conhecida popularmente como pitangueira, é um modelo de estudo promissor. A pitangueira está presente do Nordeste até o Sul do Brasil além da Argentina, Uruguai e Paraguai, abrangendo os ecossistemas tropical, subtropical e temperado. Dependendo das condições do ambiente, pode desenvolver-se como um arbusto na restinga ou uma árvore de até 9 metros na mata ciliar. A plasticidade da espécie em diferentes ecossistemas motivou a busca por novos genes relacionados à adaptação destas plantas a diferentes regimes hídricos. Para tal, foram coletadas amostras de folhas de plantas naturais da restinga e da mata ciliar. Sementes destas plantas foram coletadas e posteriormente germinadas em casa de vegetação, onde foram submetidas a condição de déficit hídrico após seis meses de cultivo. Após análise do transcriptoma do material obtido, foram selecionados 12 genes com potencial aplicação biotecnológica visando a obtenção de plantas mais tolerantes ao estresse hídrico. O objetivo deste trabalho foi caracterizar um destes genes, denominado *EuGene2*, o qual possui 241 pb e não possui similaridade com nenhum outro gene de outras espécies vegetais. As bibliotecas de cDNA geradas para o sequenciamento foram utilizadas como molde para a amplificação da sequência codificadora do gene através da técnica de PCR. O fragmento amplificado foi clonado em vetor de entrada pENTR/D-TOPO, sendo a clonagem confirmada por meio de sequenciamento. Para a identificação da localização subcelular da proteína *EuGene2*, foi realizada recombinação do vetor de entrada com o vetor pART7-YFP. A construção final foi analisada por meio de PCR, digestão com enzimas de restrição, e sequenciamento, além disso foi utilizada para a transformação de protoplastos de *Arabidopsis thaliana*, os quais foram analisados por microscopia confocal. A partir das imagens obtidas, foi observada a localização subcelular da proteína, aparentemente, no citoplasma destas células. Sendo os resultados deste ensaio apenas iniciais, será necessário realizar um experimento de co-localização com marcadores a fim de confirmar o que foi observado. Como perspectivas deste trabalho, a sequência codificadora obtida será clonada em vetor binário de expressão a fim de obtermos plantas de *Arabidopsis thaliana* superexpressando *EuGene2*. Estas plantas serão desafiadas sob diferentes regimes hídricos a fim de avaliarmos sua potencial aplicação biotecnológica.