

## Perfil transcricional dos genes de Glutaciona Peroxidase (Gpx) de arroz (*Oryza sativa*) sob condições de estresses abióticos e durante o desenvolvimento da planta

### INTRODUÇÃO

O metabolismo aeróbico leva à produção e ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO), as quais podem ser tóxicas para a célula. Para neutralizar esses compostos, os organismos aeróbios desenvolveram vários sistemas enzimáticos, dentre eles, enzimas da família Glutaciona peroxidase (GPx), que além de protegerem as plantas dos efeitos nocivos das ERO, participam de cascatas de sinalização indispensáveis para a célula.

Cultivado e consumido em todos os continentes, o arroz se destaca pela produção e pela área de cultivo, desempenhando papel estratégico tanto em nível econômico quanto social para os povos das nações mais populosas da Ásia, África e América Latina. A caracterização funcional de genes cujos produtos podem proteger as plantas contra danos oxidativos pode colaborar com o desenvolvimento de cultivares mais resistentes e adaptadas ao meio ambiente, e assim, aumentar sua produtividade.

Para contribuir com a elucidação das funções dos produtos gênicos dessa família, foi determinado o padrão de expressão dos genes de GPx presentes no genoma do arroz durante a fase vegetativa da planta e em resposta a frio, seca, radiação UV, alumínio e variações no fotoperíodo.

### METODOLOGIA

O padrão de expressão dos transcritos foi determinado através da metodologia de PCR quantitativa em tempo real (RT-qPCR), utilizando primers específicos para os genes de glutaciona peroxidase de arroz. As reações de RT-qPCR foram normalizadas pelos níveis de expressão de genes constitutivos, FDH, EF1 $\alpha$  e Ubi nos experimentos de estresse (Figura 1), e FDH e EF1 $\alpha$  nas análises ao longo do desenvolvimento (Figura 2). Os resultados foram analisados utilizando o método  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  (Livak & Schmittgen, 2001).

### RESULTADOS

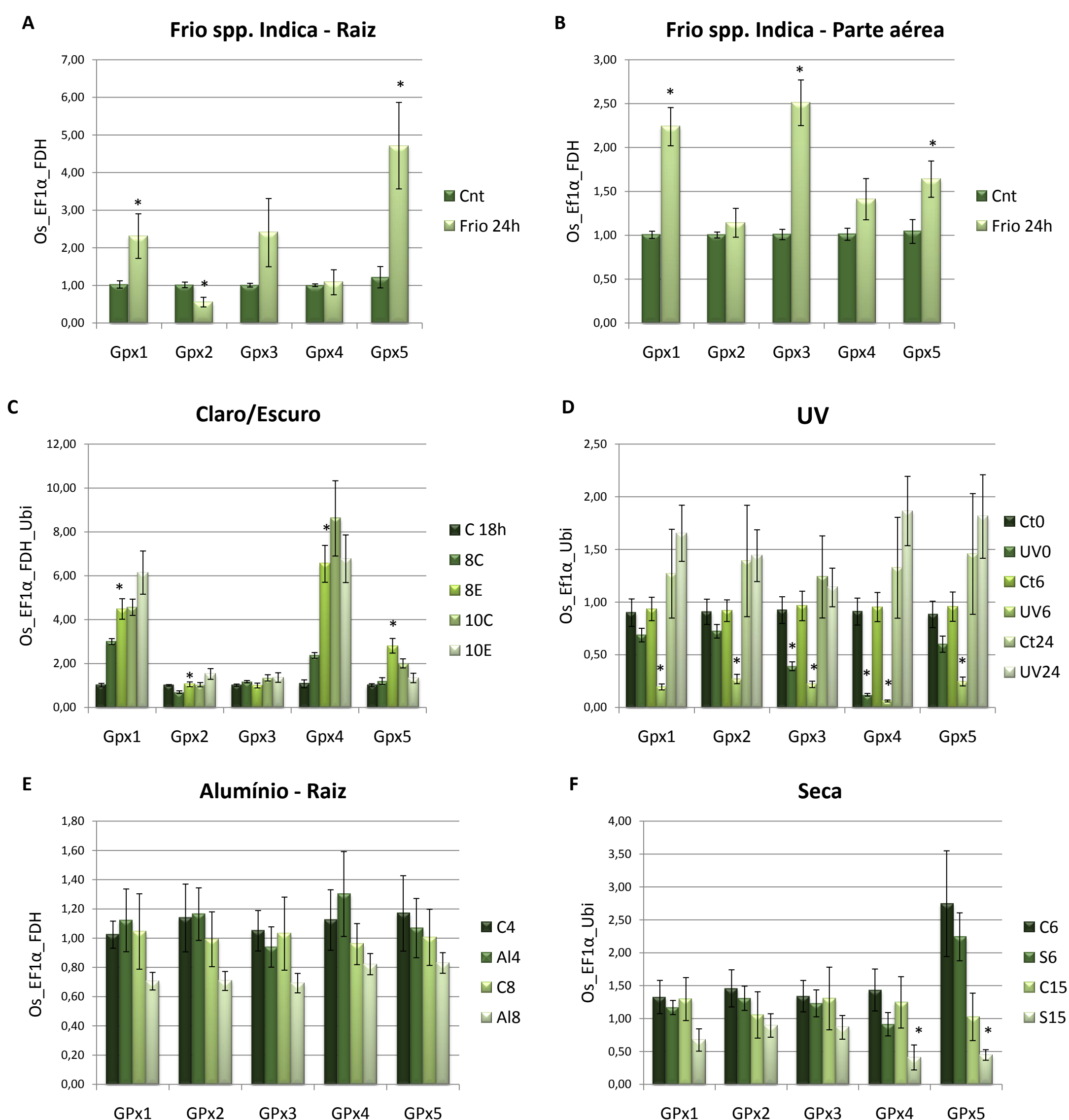
Ao avaliar a expressão dos genes da família da glutaciona peroxidase após a exposição das plantas durante 24 horas ao frio de 10°C, os genes *OsGPx1* e *OsGPx5* foram induzidos na raiz e na parte aérea; o gene *OsGPx3* foi induzido na parte aérea e o gene *OsGPx2* foi reprimido na raiz (Fig. 1A e 1B).

Após as plantas permanecerem na ausência ou presença de luz, observou-se uma tendência de aumento do nível de expressão das cinco isoformas quando as plantas permaneceram no escuro, em pelo menos um dos tempos avaliados (Fig. 1C).

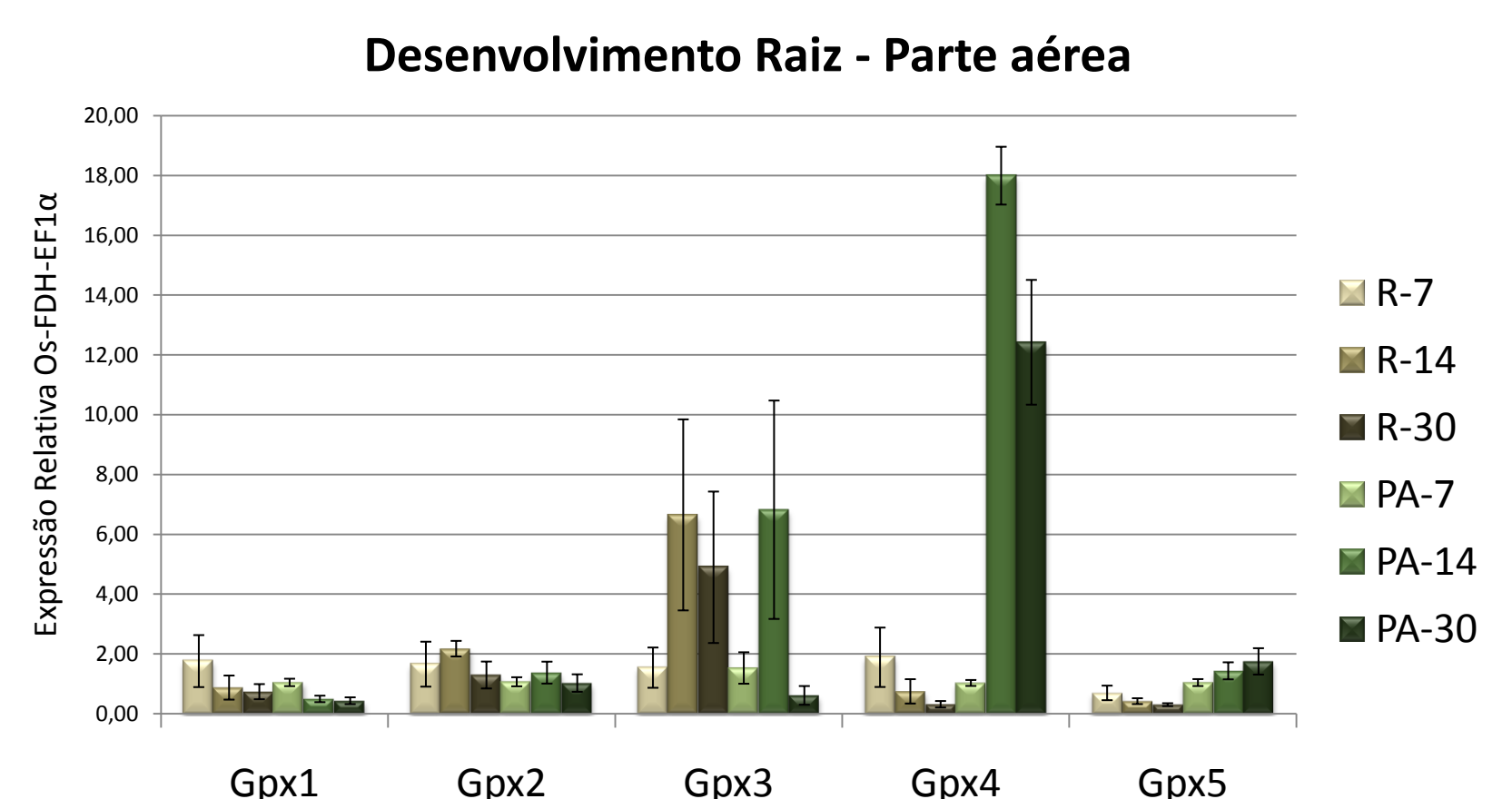
Os genes *OsGPx1*, *OsGPx3* e *OsGPx4* tiveram sua expressão diminuída após exposição de 4 horas à luz UV. A expressão dos genes *OsGPx2* e *OsGPx5* também foi reduzida, mas apenas seis horas após a suspensão do estresse (Fig. 1D).

Os genes GPx não apresentaram modulação da expressão em resposta ao tratamento com 150 $\mu$ M de alumínio (Fig. 1E). No entanto, quando submetidas à seca durante seis e quinze dias, a expressão dos genes *OsGPx4* e *OsGpx5* foi reduzida aos quinze dias de estresse (Fig. 1F).

Analisando o perfil transcricional desses genes durante a fase vegetativa da planta, pode-se observar uma tendência de maior expressão de *OsGPx3* e *OsGPx4* durante os primeiros 30 dias de desenvolvimento. O gene *OsGPx4* teve maior expressão na parte aérea das plantas de 14 e 30 dias e menor expressão na raiz de plantas com 30 dias (Fig. 2). *OsGPx1* foi pouco expresso em raízes de plantas de 14 e 30 dias e as demais isoformas mostraram expressão relativamente baixa nos períodos avaliados.



**Figura 1 - Perfil transcricional dos genes de GPx de arroz em resposta a estresses abióticos.** As análises foram feitas através da técnica de RT-qPCR, utilizando como normalizadores os genes *Os\_Ubi*, *Os\_FDH* e *Os\_EF1 $\alpha$* .  
\* Valores que diferem significativamente em relação ao controle ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 2 - Perfil transcricional dos genes de GPx de arroz durante a fase vegetativa.** As análises foram feitas através da técnica de RT-qPCR, utilizando como normalizadores os genes *Os\_FDH* e *Os\_EF1 $\alpha$* .  
PA - Parte aérea de plantas com 7, 14 ou 30 dias  
RA - Raiz de plantas com 7, 14 ou 30 dias

### CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Foram observados padrões de expressão diferenciais em algumas condições de estresses testados e durante a fase vegetativa das plantas, indicando que esses genes são regulados de maneira complexa.

A análise transcricional dos genes de glutaciona peroxidase durante a fase reprodutiva da planta está em andamento. Após isso, pretende-se realizar a análise dos promotores desses genes através de transformação estável, utilizando fusões dos promotores com genes repórteres tais como *GFP* (Green Fluorescent Protein) e *GUS* ( $\beta$ -glucuronidase) a fim de verificar os tecidos onde esses genes estão sendo expressos.

#### Referências:

LIVAK, K.J. et al. *Methods*, n.25, p. 402-408, 2001.  
MARGIS, R. et al. *FEBS J.*, n.275, p. 3959-3970.

Apoio: CNPq, FAPERGS, ICGEB, UNESCO.