



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	ESTUDO DA REGIÃO PROMOTORA DA ISOFORMA CITOSÓLICA DE ASCORBATO PEROXIDASE DE ARROZ (<i>Oryza sativa</i> L.)
Autor	JULIO DE ANDRADE GARIGHAN
Orientador	MARCIA MARIA A NACHENVENG P MARGIS

Ascorbato peroxidase (APx) é uma enzima fundamental do metabolismo antioxidante, a qual catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio em água, utilizando o ascorbato como doador de elétrons. O peróxido de hidrogênio é uma espécie reativa de oxigênio (ERO) e é produzido constantemente pelo metabolismo aeróbico, e em situações de estresse biótico ou abiótico tem sua produção aumentada, sendo que em grandes quantidades pode causar diversos danos celulares. Em arroz, as diferentes isoformas de APx são codificadas por oito genes, cujos produtos são classificados em função de suas localizações subcelulares em: citosólica, peroxissomal, mitocondrial ou cloroplastidial. A caracterização dos genes codificadores das APxs vem sendo feita e o estudo de promotores é uma ferramenta de grande importância que possibilita analisar o padrão de expressão de genes em plantas. O objetivo deste trabalho foi estudar o padrão de expressão da sequência promotora do gene *OsAPx1* (citosólico) de ascorbato peroxidase. Para esta análise foi isolada uma sequência nucleotídica de aproximadamente 2kb anterior ao sítio de iniciação da tradução, clonado no vetor de entrada pENTR e recombinado no vetor para estudo de promotores pHGWFS7. O vetor contendo a sequência promotora, denominado pPROM1, foi utilizado para a transformação de calos de arroz via *Agrobacterium tumefaciens*. Os calos transformados foram cultivados em meio de seleção e em seguida regenerados em plantas. Foram obtidas seis linhagens expressando o gene *gus* sob o controle da sequência promotora do gene *OsAPx1*. A confirmação da transgenia foi realizada por PCR utilizando primers específicos para as sequências nucleotídicas dos genes *gusehpt*. Segmentos das plantas transgênicas foram coletados e analisados por ensaios histoquímicos com X-Gluc. Em condição padrão de cultivo, a expressão do gene *Gus* foi verificada em folhas e lígula. Além disso, a expressão foi também observada em regiões nas quais as plantas sofreram injúria, sem visualização aparente de expressão diferenciada temporalmente. Análises *in silico* revelaram a presença de *cis* elementos de resposta a seca, luz e hormônios vegetais, entre outros. Testes preliminares foram feitos adicionando os hormônios 6-benzilaminopurina (BAP) e o ácido abscísico (ABA) na solução nutritiva das plantas crescidas em hidroponia e, posteriormente, analisadas histoquimicamente. Foi possível verificar a coloração de GUS de forma diferencial entre as plantas. No tratamento com BAP, as plantas apresentaram expressão de GUS nas pontas das folhas dos perfilhos novos (menos de 5 cm de tamanho), e no tratamento com ABA, a expressão foi detectada nas raízes novas. Outros ensaios serão feitos e como perspectivas estão as análises histoquímicas com GUS em outros tecidos vegetais, tanto em condições controle quanto em condições de estresse; o teste da funcionalidade dos *cis* elementos da região promotora preditos; a quantificação da expressão do gene *Gus* através de PCR em tempo real e de ensaios fluorimétricos.