

ANÁLISE DE EXPRESSÃO DO GENE DA GLUTATIONA PEROXIDASE EM PEIXE-REI (*Odontesthes humensis* DE BUEN, 1953) SOB EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO

LESSA, Ingrid Medeiros; CAMPOS, Vinicius Farias (orientador)

Universidade Federal de Pelotas, Laboratório de Genômica Estrutural, prédio 20, Campus
Universitário, S/N - CEP 96160-000, Capão do Leão, RS – Brasil

* Autor para correspondência: Tel (53) 99150-2203
E-mail: ingridmlessa@hotmail.com



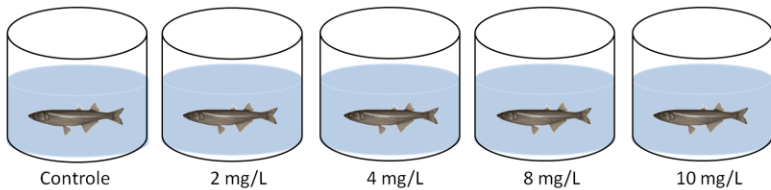
1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

O Rio Grande do Sul é considerado um importante produtor aquícola devido às lagoas da costa Sul do estado. Outra expressiva atividade da região sul é a agricultura, que se destaca devido às plantações de arroz. Nestas plantações produtos compostos por glifosato são comumente utilizados como herbicidas. E por muitas vezes, o escoamento de água dessas plantações acabam por contaminar as lagoas da região, causando diversos problemas ambientais. Visando avaliar os efeitos genotóxicos do glifosato em peixes, o presente estudo teve por objetivo analisar a expressão do gene da enzima antioxidante Glutaciona-Peroxidase (GPx) em peixe-rei (*Odontesthes humensis*), uma das espécies encontradas na região.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Animais

- Aclimação: Laboratório de Piscicultura da UFPel;
- Exposição ao glifosato e controle:



- Período: 24h.

2.2. Extração de RNA

- Anestesia, eutanásia e remoção dos órgãos;
- Extração do RNA com kit comercial baseado em coluna de gel de sílica a partir do hepatopâncreas;
- Quantificação por espectrofotometria de luz UV.

2.3. Clonagem e sequenciamento do gene GPx

- Reação em Cadeia da Polimerase (PCR);
- Desenho de primers: PriFi (<http://cgi-www.daimi.au.dk/cgi-chili/PriFi/main>);
- PCR com gradiente de temperatura;
- Eletroforese em gel de agarose 1,2%;
- Purificação do produto amplificado em colunas com membrana de gel sílica;
- Sequenciamento por método de Sanger automatizado no Laboratório de Genômica Estrutural (UFPel);
- Checagem da identidade da sequência consenso: *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST - <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>);
- Depósito da sequência: GenBank;
- Desenho de primers para *Real Time PCR* (qPCR);
- Análise de expressão do gene da GPx nos grupos experimentais submetidos às diferentes concentrações de glifosato.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Extração de RNA e confecção de cDNA

- Concentração: 620 ± 46 (média \pm desvio padrão) ng/ μ l;
- Relação A260/A280: ≥ 2 nm.

3.2. Desenho de primers

- Primer senso: 19 nucleotídeos;
- Primer antissenso: 22 nucleotídeos.

3.3. Clonagem e purificação

- Temperatura ideal de anelamento: 59°C;
- Fragmento amplificado: 260 bp (pares de bases).

3.4. Sequenciamento

- Identidade da sequência consenso: $\geq 90\%$ ao gene GPx em outras espécies de peixes como: *Stegastes partitus*, *Lates calcarifer*, *Siniperca chuatsi*, *Fundulus olivaceus* e *Oreochromis niloticus*;
- Depósito da sequência: fragmento parcial (254bp) do gene GPx de *O. humensis* no GenBank (número de acesso KX060036.1).

3.5. Expressão gênica

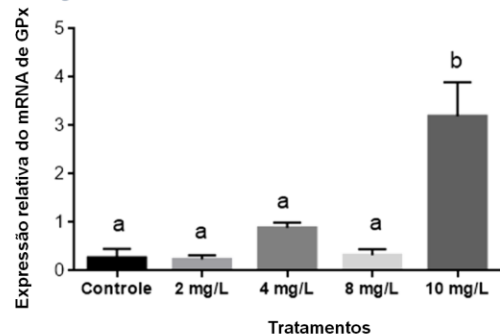


Figura 1. Perfil de expressão do gene GPx no hepatopâncreas de peixes submetidos às concentrações de 2mg/L, 4mg/L e 8 mg/L e 10 mg/L de glifosato. Letras diferentes representam diferença estatística ao nível de $p < 0,05$.

4. CONCLUSÕES

Não houve diferença na expressão do gene GPx no hepatopâncreas de peixes submetidos às concentrações de 2mg/L, 4mg/L e 8 mg/L, uma vez que o padrão de expressão foi igual ao observado no grupo controle. No entanto, foi observado um aumento significativo na expressão gênica na concentração de 10 mg/L de glifosato. Buscando complementar os resultados obtidos, nosso grupo de pesquisa visa analisar a expressão de outros genes relacionados a toxicologia nos demais tecidos coletados dos animais amostrados.

5. BIBLIOGRAFIA

- MODESTO, Kathya A.; MARTINEZ Cláudia BR. "Effects of Roundup Transorb on fish: hematology, antioxidant defenses and acetylcholinesterase activity." *Chemosphere*. 81.6 (2010): 781-787.
- JASPER, Raquel; LOCATELLI, Gabriel Olivo; PILATI, Celso; LOCATELLI, Claudriana. Evaluation of biochemical, hematological and oxidative parameters in mice exposed to the herbicide glyphosate-Roundup®. *Interdisciplinary toxicology*. 5.3 (2012): 133-140.