



Estudo do envolvimento de flavonóides na sinalização induzida por luz em raízes de *Arabidopsis thaliana*

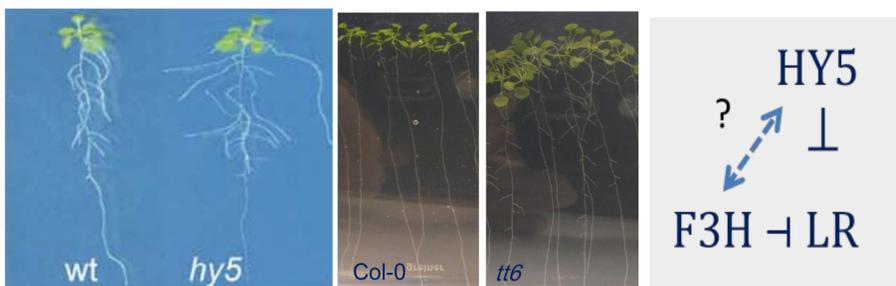
Jonata Alex Ribeiro Christino e Felipe dos Santos Maraschin

Laboratório de Fisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução

Luz é um fator importante no controle do crescimento da planta, o seu efeito pode ser observado pelos resultados do desenvolvimento fotomorfogênico ou do desenvolvimento escotomorfogênico. O fator de transcrição HY5 é considerado um regulador central dos genes envolvidos na fotomorfogênese e um indutor direto da rota metabólica de flavonóides, cuja produção e acúmulo está diretamente relacionada à presença de luz. Plântulas mutantes sem uma enzima chave da rota metabólica de flavonóides, F3H (Flavanona 3- hidroxilase, *tt6-3*), apresentam um fenótipo alterado no desenvolvimento das raízes, com um aumento no número de raízes laterais, fenótipo que também é observado no mutante *hy5*.

O objetivo do trabalho é elucidar como a iluminação na parte aérea promove o desenvolvimento das raízes no solo. E responder se o fenótipo das raízes dos mutantes *hy5* é dependente da biossíntese de flavonoides.



Materiais e Métodos

HY5 foi superexpresso nos mutantes *tt6* e *hy5* utilizando-se o plasmídeo pH7WG2 que possui o promotor constitutivo 35S CaMV. O vetor de expressão foi inserido nas plantas via *Agrobacterium tumefaciens* pela técnica de Floral dip. A confirmação do estado transgênico das plantas foi feita por PCR, verificando a presença do gene que confere resistência ao antibiótico higromicina (HPT) e a avaliação da expressão relativa de HY5 foi analisada por RT-qPCR.

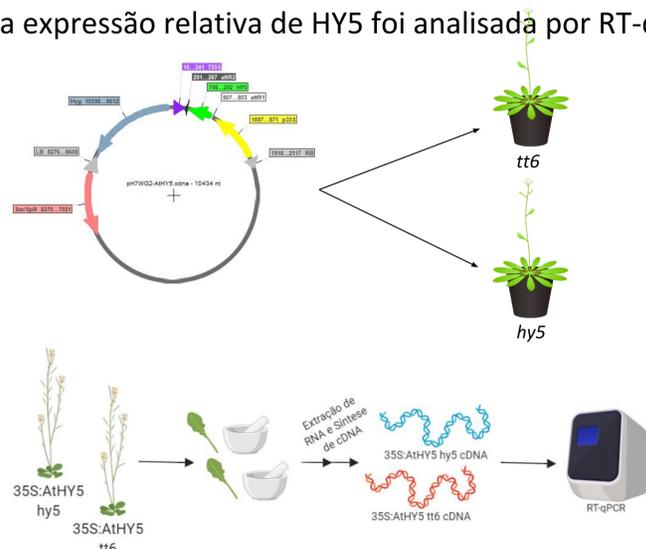


Figura 1: Esquema de transformação via Floral Dip realizada nos backgrounds *hy5* e *tt6* com *Agrobacterium tumefaciens* contendo o vetor de expressão pH7WG2-35S::AtHY5 e esquema para avaliação da expressão relativa de HY5 nas plantas transformadas.

Resultados e Discussão

Nesse trabalho, a sequência codificadora completa do gene *AtHY5* foi clonada no vetor binário pH7WG2 para expressão sob controle do promotor constitutivo 35S CaMV em plantas de *Arabidopsis*. Diferentes genótipos (*hy5* e *tt6*) foram transformados via *Agrobacterium tumefaciens*. Foram obtidas 11 plantas *hy5* e 10 plantas *tt6-3* transformadas com a construção 35S::HY5. A avaliação dos níveis de expressão de HY5 nas plantas T1 através de RT-qPCR, identificou a superexpressão de HY5 em algumas linhagens. O material gerado neste trabalho irá auxiliar na compreensão do papel dos flavonóides como participantes na sinalização fotomorfogênica em raízes dependente de HY5.

Vetor de expressão	35S::AtHY5	
	<i>hy5</i>	<i>tt6</i>
Genótipos		
Eventos de transformação obtidos	11	10

Tabela 1: Plantas obtidas após seleção da T1 com antibiótico (higromicina). Foram obtidos 11 eventos do background *hy5* transformado com o vetor 35S::AtHY5 e 10 eventos de *tt6*.

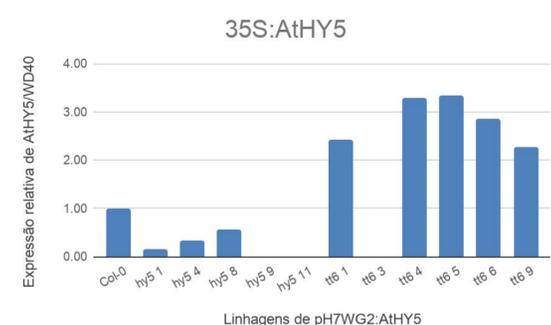


Figura 2: Expressão relativa de AtHY5 em diferentes linhagens transformadas dos mutantes *hy5* e *tt6*. O nível de expressão de Col-0 foi considerado 1. Reações foram conduzidas em duplicatas técnicas para cada linhagem.