



## Padrão de expressão do gene *bHLH35* durante o desenvolvimento da antera



Marília Felisberti Benites; Márcia Margis Pinheiro;  
Laboratório de Genômica Funcional de Plantas, Departamento de Genética, UFRGS - Brasil

### Introdução

Cultivado e consumido em todo o território brasileiro, o arroz (*Oryza sativa* L.) destaca-se pela produção e área de cultivo, desempenhando papel estratégico tanto no aspecto econômico quanto social. No entanto, a colheita sofre grandes perdas por conta de estresses bióticos e abióticos. Uma estratégia do ponto de vista biotecnológico consiste em avaliar a função de genes responsivos a estresses, visando a identificação de genes candidatos que possam vir a ser manipulados em programas de melhoramento ou por meio de transgenia. Dessa forma, o projeto visa o estudo e caracterização do gene *OsbHLH35*, responsivo ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio em arroz. Este gene codifica um fator de transcrição pertencente a família bHLH (*basic helix-loop-helix*), uma das mais numerosas famílias de fatores de transcrição em plantas. Eles estão relacionados ao desenvolvimento de plantas e flores, controle de crescimento sob condições de estresse e regulação da longevidade das plantas.

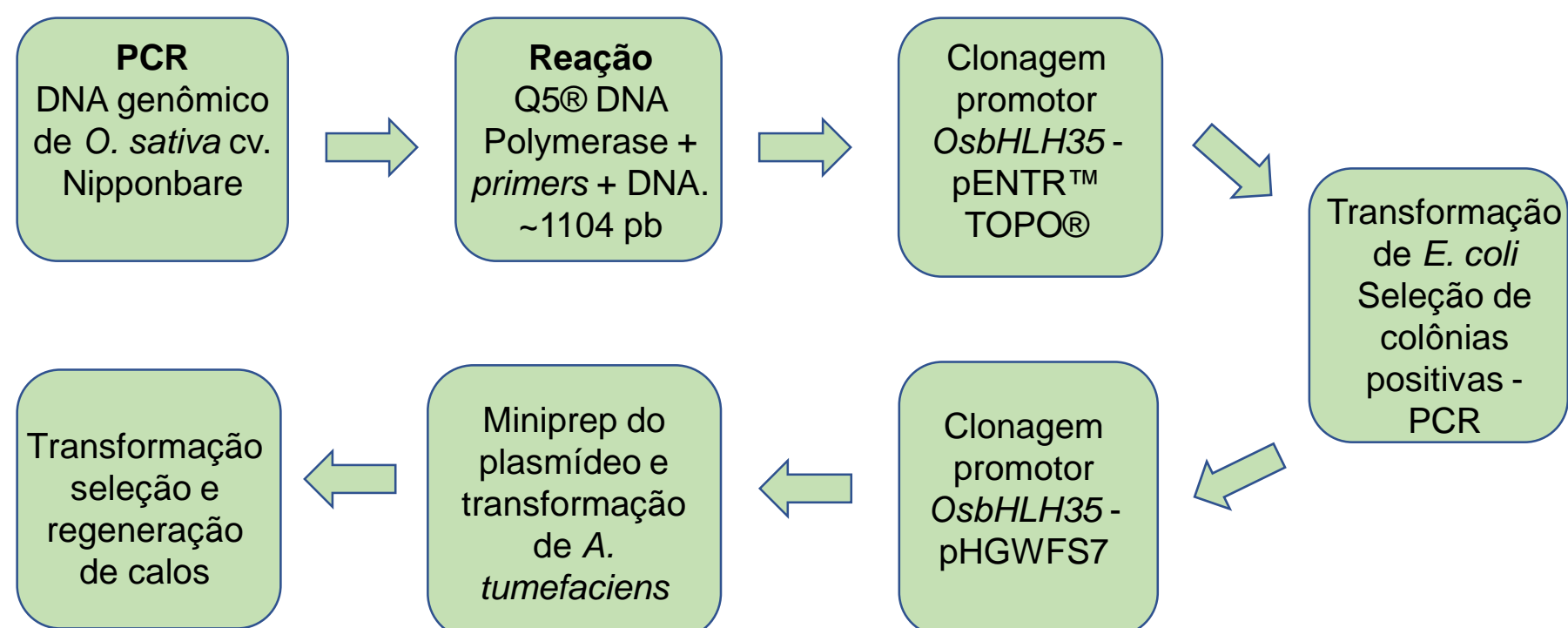
### Objetivos

O objetivo deste trabalho é a caracterização do gene *OsbHLH35* em plantas de arroz expressando o gene repórter GUS sob o controle do promotor *OsbHLH35*.

1. Avaliar a expressão de *OsbHLH35* analisando plantas de arroz transgênicas que expressam o gene repórter de  $\beta$ -glucuronidase (GUS) sob o controle da sequência do promotor de *OsbHLH35*;
2. Avaliar a responsividade de *OsbHLH35* a diferentes regimes analisando plantas de arroz transgênicas que expressam GUS sob o controle da sequência do promotor de *OsbHLH35*;

### Materiais e Métodos

- Clonagem do promotor de *OsbHLH35*



- Ensaio histoquímico de coloração GUS

Para análise da coloração de GUS, foi realizado um ensaio histoquímico em diferentes tecidos, como folhas, raízes e panículas. As amostras foram incubadas na solução X-Gluc no escuro a 37 °C, entre 24-48h. A solução X-Gluc consistiu em 100 g de X-Gluc; 2,79 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 4 mL de EDTA 0,5 M (pH 7,0); 192  $\mu$ L de Triton X-100; 0,12 g de K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>; 40 mL de metanol PA e 145 mL de H<sub>2</sub>O destilada, pH ajustado para 7,0 com NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

### Resultados

As plantas em fase reprodutiva apresentaram coloração de GUS nas panículas em diversos estágios de desenvolvimento. Especificamente nas anteras (Fig. 1A, 1B, 1C, 1D), colmo (Fig. 1E), ovário (Fig. 1F), na pálea e lema (Fig. 1G), primórdios florais (Fig. 1H) e calos (dados não mostrados). A coloração de GUS foi observada em pelo menos duas linhagens independentes. Não foi observada a coloração em folhas, raízes e plântulas de 15 dias.

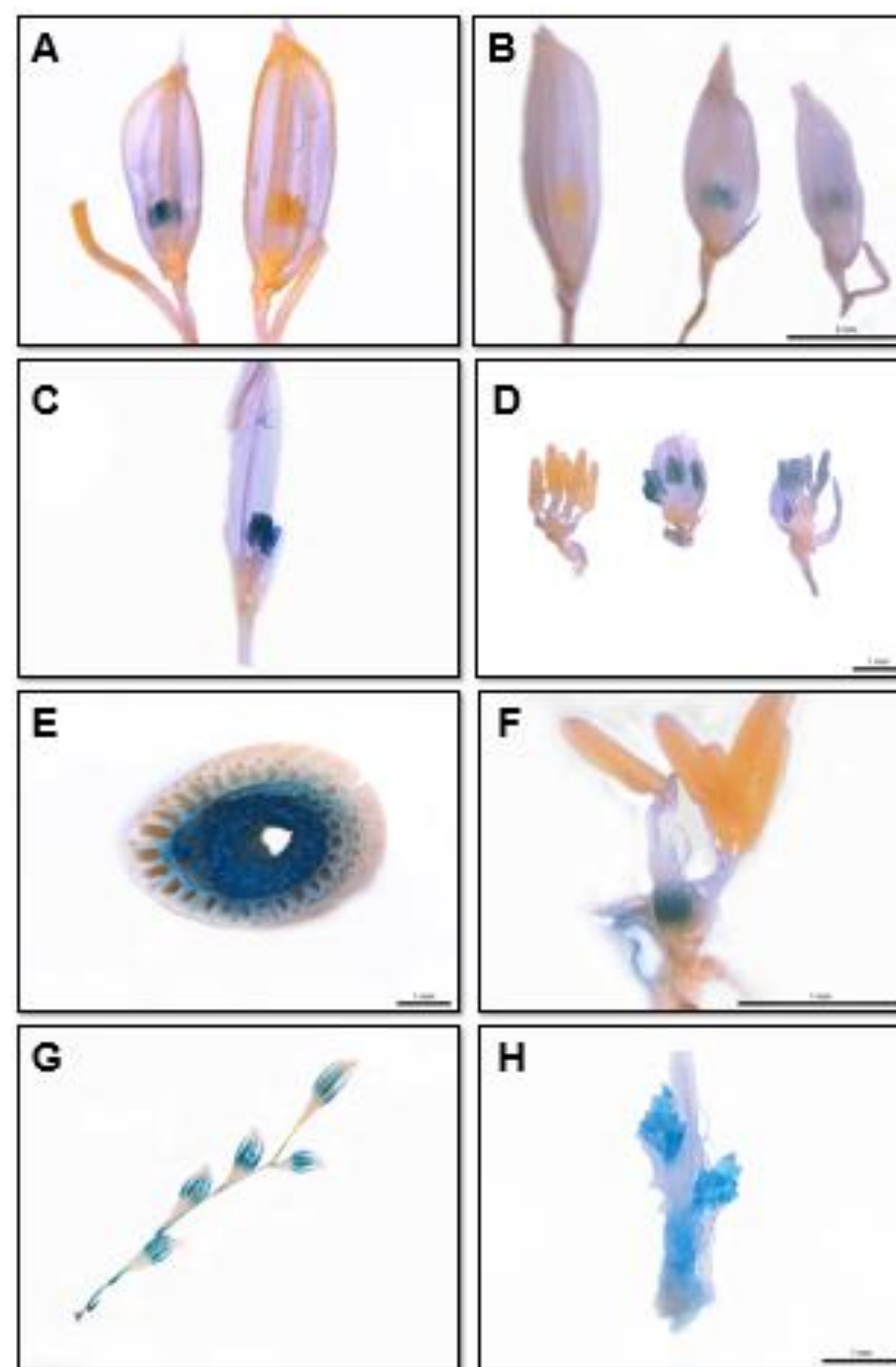


Figura 1. Expressão de *OsbHLH35* do promotor GUS. (A-B-C-D) antera jovem, (E) colmo, (F) ovário, (G) pálea e lema e (H) primórdios florais.

### Conclusão

Através deste estudo, foi possível observar que o gene *OsbHLH35* é expresso de forma muito específica no início do desenvolvimento da antera, e ao longo do desenvolvimento floral. Estes dados estão de acordo com dados prévios obtidos pelo nosso grupo de pesquisa onde foi observado o fenótipo de má-formação da antera e consequente queda da produtividade de sementes em plantas que superexpressam *OsbHLH35*. Futuras análises permitirão avaliar como este padrão de expressão é alterado frente a condições de estresses abióticos.