

SALÃO DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXIX SIC
**UFRGS**
PROPESQ



múltipla 
UNIVERSIDADE
inovadora  inspiradora

Evento	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2017
Local	Campus do Vale
Título	ANÁLISE DE EXPRESSÃO DO GENE DA GLUTATIONA PEROXIDASE EM PEIXE-REI (<i>Odontesthes humensis</i> DE BUEN, 1953) SOB EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO
Autor	INGRID MEDEIROS LESSA
Orientador	VINICIUS FARIAS CAMPOS

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

O Rio Grande do Sul é considerado um importante produtor agrícola, onde a região Sul do estado a principal produtora de arroz, sendo comum nestas plantações a utilização de herbicidas compostos por glifosato. Outro importante cultivo da região é a aquicultura que se destaca devido às lagoas na costa Sul, que por muitas vezes, acabam por serem contaminadas pelo escoamento de água das plantações locais. Uma das espécies encontradas na região é *Odontesthes humensis* (peixe-rei), caracterizada por possuir um alto poder comercial e grande sensibilidade a alterações de condições fisiológicas e ambientais. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo analisar os efeitos genotóxicos do glifosato em *O. humensis* por meio da clonagem e análise da expressão do gene da enzima antioxidante Glutationa-Peroxidase (GPx). Os peixes obtidos e aclimatados no Laboratório de Piscicultura da UFPel foram expostos a concentrações de 2mg/L, 4 mg/L, 8 mg/L e 10 mg/L de glifosato durante 24h. Após anestesia, eutanásia e remoção dos órgãos, se realizou a extração do RNA por método de coluna a partir do hepatopâncreas dos animais. Após quantificação por espectrofotometria, as amostras de RNA foram utilizadas como base para a confecção do cDNA. A amplificação do gene de GPx em *O. humensis* se deu através da PCR, utilizando *primers* desenhados com o auxílio da ferramenta *online* PriFi (<http://cgi-www.daimi.au.dk/cgi-chili/PriFi/main>), tendo como *template* o alinhamento de sequências do mesmo gene de outras espécies. A definição da temperatura ideal de anelamento dos *primers* se deu por PCR com gradiente de temperatura, seguida de eletroforese em gel de agarose 1,2%, purificação do produto amplificado em colunas com membrana de sílica e eluição em água pura livre de enzimas nucleases. O produto purificado foi submetido ao sequenciamento pelo método de Sanger automatizado no Laboratório de Genômica Estrutural (UFPel) e a sequência consenso obtida teve sua identidade checada utilizando a ferramenta *online* *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST - <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), seguida de depósito no *GenBank*. Com a obtenção desta sequência, foi possível o desenho de *primers* específicos para *Real Time PCR* (*qPCR*), permitindo a análise de expressão do gene da GPx nos grupos experimentais submetidos às diferentes concentrações de glifosato. O alinhamento das sequências de GPx resultou no desenho de *primers* *senso* e *antisenso* com 19 e 22 nucleotídeos, respectivamente. A PCR em gradiente evidenciou como temperatura ideal de anelamento 59°C e o fragmento amplificado apresentou cerca de 260bp (pares de bases), como constatado por eletroforese em gel de agarose 1,2%. Quando purificado, este fragmento apresentou quantidade e qualidade satisfatórias e suficientes para ser submetido ao sequenciamento. A sequência consenso obtida, quando analisada por BLAST, apresentou identidade $\geq 90\%$ com gene GPx de outras espécies de peixes como: *Stegastes partitus*, *Lates calcarifer*, *Siniperca chuatsi*, *Fundulus olivaceus* e *Oreochromis niloticus*, indicando o êxito do sequenciamento e tornando possível pela primeira vez o depósito da sequência parcial (254bp) do gene GPx de *O. humensis* no *GenBank* (número de acesso KX060036.1). 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.