

# Caracterização do gene P5CS (delta 1-pyrrolina- 5-carboxylato sintase) de *Eugenia uniflora* L. e seu perfil de expressão sob tratamento de estresse hídrico

Débora Bublitz Anton<sup>1</sup>, Andreia C. Turchetto-Zolet<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

<sup>2</sup>Departamento de Genética, PPGBM, Núcleo de Genômica e Evolução de Populações Naturais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)



paz no plural



## INTRODUÇÃO

A prolina apresenta importante papel na defesa contra estresses ambientais, conferindo resistência a seca e salinidade, por exemplo. Os genes P5CS (delta 1-pyrrolina-5-carboxylato sintase) em plantas codificam uma enzima bifuncional, responsável por catalisar uma reação limitante da biossíntese de prolina. P5CS já foi caracterizado e relacionado a respostas de estresse por seca e salinidade em diferentes culturas. Entretanto, existem poucos estudos em espécies nativas.

*Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) é uma espécie nativa dos domínios da Mata Atlântica, podendo ser encontrada em ambientes contrastantes (matas ciliares e restinga), com diferenças em termos de clima, composição de solo, aporte de nutrientes e disponibilidade de água.



Figura 1. *Eugenia uniflora* L.

A plasticidade adaptativa a esses ambientes heterogêneos faz desta espécie um modelo natural para o entendimento sobre mecanismos de adaptação. Tais mecanismos podem estar relacionados à presença e regulação de genes de respostas a estresses ambientais como, por exemplo, o gene P5CS.

## OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo caracterizar o gene P5CS em *E. uniflora* e avaliar o padrão de expressão desse gene sob estresse hídrico.

## MÉTODOS

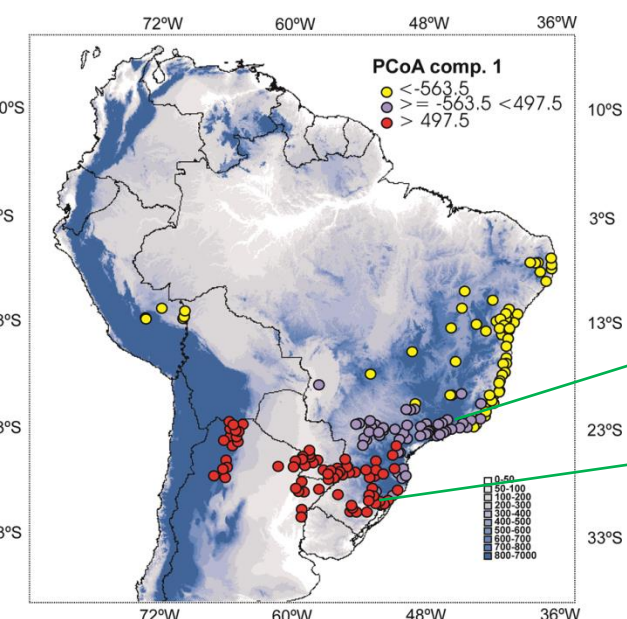
Transcritoma e 1ª versão do genoma de *E. uniflora*

Identificação do gene P5CS através do uso de ferramentas de bioinformática: F-genes, ORFfinder, BLAST e scripts de Perl.

Ancoramento dos reads de uma biblioteca de RNAseq de folha de *E. uniflora* na sequência predita para validação da sequência

Análises comparativas da sequência de P5CS identificada em *E. uniflora*: BLAST no Phytozome, análise da estrutura gênica e proteica e filogenéticas.

Análise do padrão de expressão do gene P5CS sob estresse hídrico:



Sementes de indivíduos provenientes de restinga (RJ) e mata ciliar (RS) foram germinadas em casa de vegetação para a aplicação dos tratamentos de seca.



Figura 2. Em cima: sementes germinadas de *E. uniflora* do RJ; Embaixo: sementes germinadas de *E. uniflora* do RS.

Três meses após germinação

Submetidas à seca por três períodos de tempo

Folhas das plantas controle e tratadas foram coletadas e o RNA foi extraído para avaliar o perfil de expressão através da técnica de RT-qPCR.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir das análises realizadas, foi identificado e validado um gene P5CS no genoma de *E. uniflora* com uma estrutura gênica de 20 éxons, similar a estrutura observada no P5CS de *Eucalyptus grandis* e *Arabidopsis thaliana* (Figura 3).

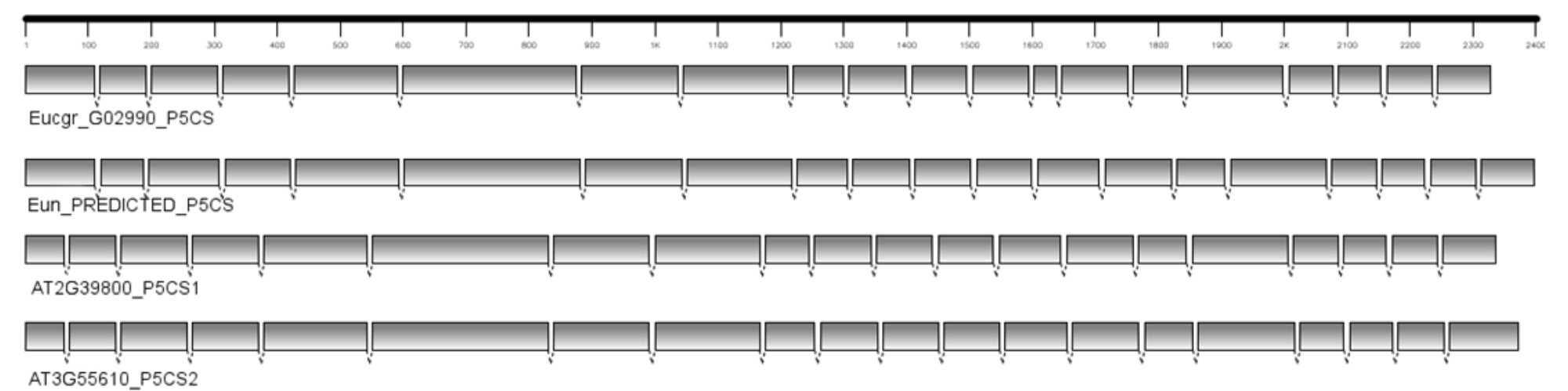


Figura 3. Estrutura e organização dos genes P5CS de *Eugenia uniflora*, *Eucalyptus grandis* e *Arabidopsis thaliana*. Retângulos cinza representam os éxons.

A sequência predita da proteína expressa pelo gene P5CS de *E. uniflora* tem um comprimento de 734 aa e apresenta os domínios PF00171 (aldehyde dehydrogenase family) e PF00696 (amino acid kinase family), os quais estão conservados e presentes no P5CS de outras espécies de plantas (Figura 4).

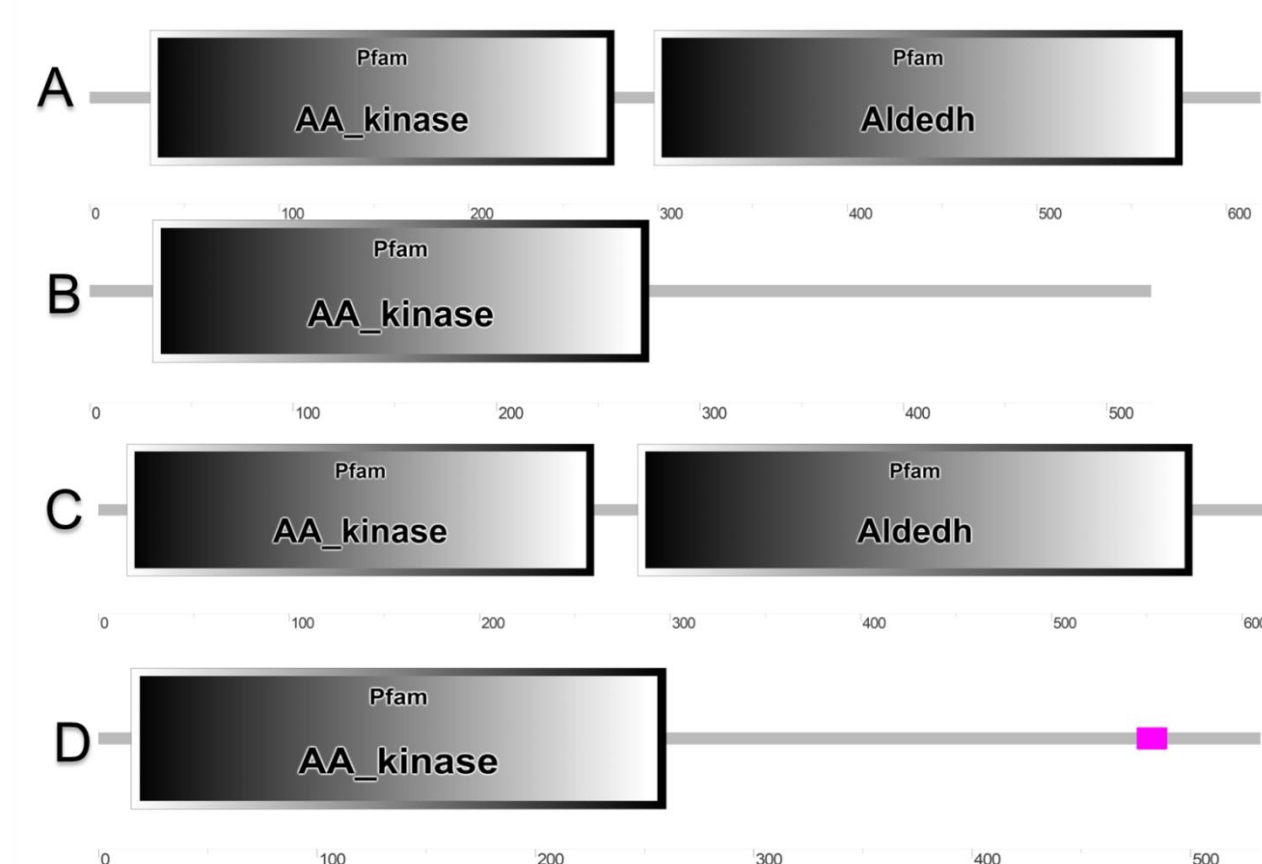
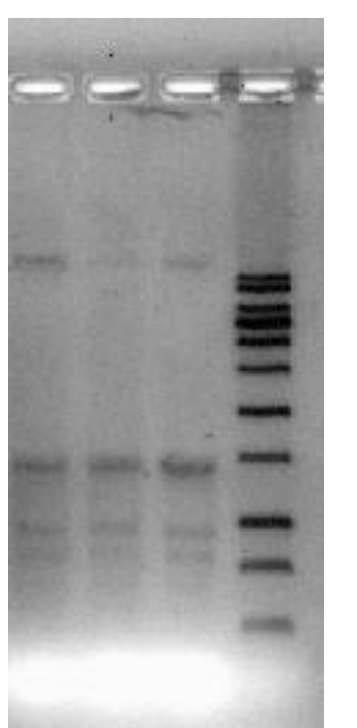


Figura 4. Domínios identificados na sequência proteica dos genes P5CS de (A) *Eugenia uniflora*, (B) *Eucalyptus grandis* (C) P5CS1 de *Arabidopsis thaliana* e (D) P5CS2 de *A. thaliana* utilizando o banco de dados do PFAM.

Extração RNA

Figura 5. Gel de agarose mostrando a extração de RNA de *E. uniflora*



## CONCLUSÕES

A caracterização de P5CS de *E. uniflora* e seu padrão de expressão será de extrema importância e contribuirá na compreensão dos mecanismos adaptativos dessa espécie, bem como nos mecanismos de respostas a estresses abióticos em plantas.