ANÁLISE DA EXPRESSÃO DOS GENES FATOR DE RESPOSTA A AUXINA 1 (ARF) E DO INDOL-3-ÁCIDO ACÉTICO AMIDO SINTETASE GH3.5-LIKE E SUA IMPLICAÇÃO NA MATURAÇÃO DO MELÃO

Daniele Santos Domingues (PIBICCNPQ), Calistene Aparecida Pinto, Prof. Dr Ricardo Antonio Ayub (Orientador),
daniisdomngues22@gmail.com, rayub@uepg.br.
Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Departamento de Fruticultura

Fitotecnia; Fruticultura

Palavras-Chave: *RNA-seq, fisiologia da maturação, ácido indol-acético*

Resumo

O melão (*Cucumis melo* L.), pertence à família Cucurbitaceae, é uma das principais olerícolas produzidas no Brasil. O melão contém várias correntes de estudo sobre seus processos fisiológicos, dentre estes destaca-se a maturação de frutos, processo responsável pelo amolecimento de polpa, produção de açúcares, mudança de cor e aroma dos frutos. Dentro deste processo observa-se componentes de transdução da auxina como fatores de resposta a auxina 1 (ARF) e do Indol-3-ácido acético amido sintetase GH3.5-like.

Introdução

Em relação aos processos de maturação, estes são baseados em frutos climatéricos e não-climatéricos, sendo o melão Amarelo pertencente ao segundo grupo (FUENTES et al., 2019). Nesse contexto, um dos fatores que podem estar envolvidos no processo de maturação são os componentes de transdução da auxina. A auxina é um hormônio vegetal que atua no desenvolvimento dos frutos, influenciando a sua maturação, ocorrendo através de regulação de uma série de atividade enzimática na transdução de sinais. Em vista disso, é observado a ação dos fatores de resposta a auxina 1 (ARF) e do Indol-3-ácido acético amido sintetase GH3.5-like.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado com Melão Eldorado do grupo Inodorus, com frutos colhidos em diferentes estágios de maturação, sendo os tratamentos o controle verde (30 DAP), controle do fruto maduro (completa maturação), tratamento com auxina de 60 milimolar (mM) via pasta de lanolina, aplicado aos 30 dias, realizando ainda análises de pós colheita. O mesocarpo dos frutos foi cortado e congelado em nitrogênio líquido e acondicionado à -80°C para as análises moleculares. O RNA Total foi extraído do mesocarpo de pelo menos três frutos para cada estágio de maturação (triplicata biológica), utilizando o método do perclorato de sódio, descrito para melão por Campos et al. (2017)

Os pares de primers foram desenhados pelos softwares programados para RT-qPCR, PrimerBlast e Beacon Designer, e testado todos os iniciadores em gradiente de temperatura em PCR convencional para ajuste, analisando a eficiência dos primers desenhados, assim como a especificidade deles através de curva de Melting. Sendo que o nível de expressão gênica é dado por quantificação relativa através dos valores normalizados dos genes alvo comparados aos de genes de referência. A partir disso, é obtido o valor de *fold change* para cada gene nos diferentes estágios dos frutos. Para análise dos dados foi utilizado cálculos pelo método de livak e teste de Tukey.

Resultados e Discussão

Para os testes de primers, para gradiente de temperature, realizado antes deles serem utilizados nas amostras, a temperatura que mais se adequou foi de 64ºC como ideal para ambos os genes. Para assim, serem rodados com as amostras na q-PCR. Após a extração das amostras, e testes dos primers, estes foram utilizados nas amostras, sendo observado através da curva de Melting a amplificação dos genes. O gene ARF, da família de genes ARF, em geral, são essenciais na regulação da frutificação, entre outros processos vegetativos e reprodutivos. Os ARFs individuais atuam como fatores de transcrição com propriedades distintas e sobrepostas. Pelo método de livak, o gene ARF, em relação ao controle, apresentou-se 10 vezes mais no método de livak, entretanto ao realizar o teste de Tukey, o resultado foi não significativo. Em relação ao gene GH3, durante as extrações estavam apresentando erro, não sendo obtido material genetico suficiente para uso do primers, sendo possivel que as amostras de melão estivesem antes já comprometidas.

Conclusões

A análise do gene Indol-3-ácido acético amido sintetase GH3.5-like, na parte de extração, estava dando erro, sendo provavel que as amostras estavam comprometidas. Mesmo sendo um gene significativo e de interesse nos frutos em geral, ele se encontra em baixas concentrações, para ambos os tratamentos, já o gene fator de resposta a auxina 1 (ARF), não apresentou diferença significativa entre os três tratamentos

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq, ao professor Ricardo Antonio Ayub, e a todos envolvidos na realização deste trabalho.

FUENTES, Lida; FIGUEROA, Carlos R.; VALDENEGRO, Monika. Recent advances in hormonal regulation and cross-talk during non-climacteric fruit development and ripening. **Horticulturae**, v. 5, n. 2, p. 45, 2019.

SCHEMBERGER, Michelle Orane et al. Transcriptome profiling of non-climacteric 'yellow'melon during ripening: insights on sugar metabolism. **BMC genomics**, v. 21, p. 1-20, 2020.