

Ciências Biológicas

Ausência de atividade centromérica em fragmentos cromossômicos gerados pela expressão de sítios frágeis em espécies de *Lolium*

Gabrielle Avelar Silva - 10º módulo de Engenharia Florestal, UFLA, iniciação científica Fapemig

Laiane Corsini Rocha - Doutoranda em Genética e Melhoramento de Plantas, UFLA.

Raphaella Aparecida Duarte Silveira - 8º módulo de Ciências Biológicas, UFLA.

Vânia Helena Techio - Orientadora DBI, UFLA.

Andrea Mittelman - Pesquisadora EMBRAPA CLIMA TEMPERADO.

Resumo

As espécies de *Lolium perenne* e *Lolium multiflorum* apresentam a expressão de sítios frágeis nos genes ribossomais 45S (rDNA 45S), que levam à formação de quebras e lesões cromossômicas. Essas quebras podem gerar fragmentos, e se não forem reparadas, resultam na perda de material genético e podem ter efeitos deletérios. A formação de neocentrômeros nos fragmentos poderia ser uma forma de prevenir a perda do fragmento decorrente da quebra, pois permitiria a ligação das fibras do fuso e segregação normal do mesmo durante a divisão celular. O objetivo deste trabalho foi investigar a atividade neocentromérica em fragmentos cromossômicos gerados pela expressão de sítios frágeis em espécies de *L. perenne* e *L. multiflorum*. Para isso, as raízes foram coletadas, bloqueadas em água gelada por 24hs, fixadas em paraformaldeído 4% e submetidas à digestão enzimática. Posteriormente, as lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento e submetidas à imunolocalização indireta para histonas modificadas usando o anticorpo primário contra H3S10f (Histona H3 fosforilada na serina 10, que marca a região pericentromérica) e CENH3 (Histona H3 centromérica, para marcação da região centromérica). Para ambas espécies, foi observado que alguns sinais da H3S10f, na região pericentromérica, estavam divididos em duas partes. Observações prévias feitas com FISH mostraram que os sítios frágeis de rDNA 45S se localizam próximo ao centrômero, mostrando que esta região é, em parte, coincidente com os locais em que há fosforilação da H3 na serina 10. Os sinais da CENH3 foram observados somente nos cromossomos intactos e nos cromossomos fragilizados. Os fragmentos não apresentaram sinais da CENH3, demonstrando não haver atividade centromérica. Desta forma, se as quebras não forem reparadas por algum mecanismo, pode haver perda de fragmentos cromossômicos nas células, com impacto sobre a organização do genoma das espécies. A análise da presença de micronúcleos poderá contribuir para a observação desse comportamento.

Palavras-Chave: neocentrômero, quebras cromossômicas, 45S rDNA.

Instituição de Fomento: FAPEMIG