



Characterization of callose deposition and analysis of the callose synthase gene expression in soybean embryonic axis during germination

Geovanna Olimpio, Sara Sangi, Clícia Grativol

Callose is a polymer of β -1,3-glucan, found in the cell wall that is synthesized by glucan synthase-like (GSL) genes that are strictly related to intercellular water transport, growth, and the formation of protective barriers in the cell wall. In soybean seedlings, callose influences growth and expansion of cell wall, but the role of this polymer in soybean embryonic axes during germination is unknown. Accordingly, this study aimed to identify the genes involved in callose biosynthesis in the soybean genome and analyze the callose deposition in embryonic axes during germination. To identify GSL genes, the *Glycine max* genome database available in Phytozome v12 was searched through *BLASTp* algorithm using GSL hidden Markov model (HMM) as queries. Twenty-three GSL genes were identified in the soybean genome. To better understand the expansion of the GSL gene family in soybean, we analyzed gene duplication using the *Multiple Collinearity Scan* (MCScanX) toolkit. The analyzes showed that segmental duplication contributed significantly to the expansion of the GSL gene family in the soybean genome, which probably occurred about 7.7 to 190.33 Mya (Million years ago). To investigate expression changes of GSL genes, we used embryonic axis RNA-seq libraries in 0, 3, 6, 12, and 24 HAI available in the *Soybean Expression Atlas*. The data indicate that some genes are required throughout the germination process of the embryonic axis. In particular, the *GmGSL10* gene remained highly expressed throughout germination, while other genes such as *GmGSL18*, *GmGSL14*, *GmGSL17* and *GmGSL22* increased expression as germination proceeds, suggesting specific functions of these genes within 24h of germination. We also measured the callose relative fluorescence in germinated soybean embryonic axes in 3 and 24h of germination. They were cut and stained with aniline blue and analyzed under an *Axioplan* microscopy. Our results show that embryonic axes of 24 HAI have higher callose fluorescence than the 3 HAI, which reinforces what was found in the expression profile of the embryonic axis. The expansion of GSL genes during whole-genome duplication events and their expression in the germination stage demonstrates that their functionality in the soybean genome can be broader. The dynamics of the callose polymer in the cell wall in the stages of germination could influence a viable seedling.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Universidade Estadual Norte fluminense Darcy Ribeiro
 Fomento da bolsa (quando aplicável): CNPq, CAPES e FAPERJ





Análise da expressão de genes da via de biossíntese de calose no eixo embrionário de soja durante a germinação

Geovanna Olimpio, Sara Sangi, Clícia Grativol

Calose é um polímero de β -1,3–glucano, encontrado na parede celular que é sintetizado por genes denominados glucano sintase-like (GSL) que são estritamente relacionados ao transporte intercelular de água, crescimento e formação de barreiras protetoras na parede celular. Em plântulas de soja, a calose influencia o crescimento e a expansão da parede celular, porém o papel desse polímero nos eixos embrionários da soja durante a germinação é desconhecido. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo identificar os genes envolvidos na biossíntese de calose no genoma de soja e analisar a deposição de calose em eixos embrionários durante a germinação. Para identificar os genes GSL, o banco de dados do genoma de *Glycine max* disponível no Phytozome v12 foi pesquisado por meio do algoritmo *BLASTp* usando o modelo oculto de Markov (HMM) como consulta. Vinte e três genes GSL foram identificados no genoma da soja. Para entender melhor a expansão da família de genes GSL em soja, analisamos a duplicação dos genes usando o *kit* de ferramentas *Multiple Collinearity Scan* (MCScanX). As análises mostraram que a duplicação segmentar contribuiu significativamente para a expansão da família gênica GSL no genoma de soja, o que provavelmente ocorreu cerca de 7,7 a 190,33 Maa (milhões de anos atrás). Para investigar as alterações de expressão dos genes, usamos bibliotecas de RNA-seq de eixo embrionário em 0, 3, 6, 12 e 24 HAI disponíveis na plataforma *Soybean Expression Atlas*. Os dados indicam que alguns genes são necessários ao longo do processo de germinação do eixo embrionário. Em particular, o gene *GmGSL10* permaneceu altamente expresso ao longo da germinação, enquanto outros genes como *GmGSL18*, *GmGSL14*, *GmGSL17* e *GmGSL22* aumentaram a expressão conforme a germinação prossegue, sugerindo funções específicas desses genes dentro de 24h de germinação. Também medimos a fluorescência relativa de calose nos eixos embrionários de soja em 3 e 24h de germinação. Eles foram cortados e corados com azul de anilina e analisados no microscópio Axioplan. Nossos resultados mostraram que os eixos embrionários de 24 HAI apresentam maior fluorescência de calose do que os 3 HAI, o que reforça o que foi encontrado no perfil de expressão do eixo embrionário. A expansão dos genes GSL durante os eventos de duplicação do genoma e sua expressão no estágio de germinação demonstra que sua funcionalidade no genoma de soja pode ser ampla. A dinâmica do polímero de calose na parede celular nos estágios de germinação pode influenciar uma futura plântula viável.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Universidade Estadual Norte fluminense Darcy Ribeiro
Fomento da bolsa (quando aplicável): CNPq, CAPES e FAPERJ