

DINÂMICA TRANSCRICIONAL DE GENES RELACIONADOS À SÍNTESE E PROTEÍNAS LIGANTES DE CALOSE DURANTE A MATURAÇÃO DE SEMENTES DE SOJA

TRANSCRIPTIONAL DYNAMICS OF GENES RELATED TO CALLOSE SYNTHESIS AND CALLOSE-BINDING PROTEINS DURING SOYBEAN SEED MATURATION

Laura Monteiro Pedrosa⁽¹⁾
Perla Novais de Oliveira⁽²⁾
Edvaldo Aparecido Amaral da Silva⁽³⁾

Resumo: Este estudo analisou a dinâmica transcricional de genes relacionados à síntese e à modulação de calose durante a maturação de sementes de soja nos estádios R7, R8 e R9, importantes para a aquisição da qualidade fisiológica da sementes de soja (vigor e longevidade). A metodologia consistiu em uma análise *in silico* a partir de dados públicos de sequenciamento de RNA, onde os valores de expressão gênica de 10 genes da família Sintase de calose e 9 genes das Proteínas ligantes de calose foram calculados em médias temporais, escalonados por Z-score e expressos em gráficos de agrupamento térmico (heatmaps). Os resultados demonstraram que ambas as famílias gênicas apresentam um padrão de expressão consistente, caracterizado por uma elevada atividade transcricional no estágio R7 (Z-score próximo ou superior a 1.0) e uma redução progressiva nos estádios R8 e R9. Essa oscilação indica que o ápice da expressão em R7 coincide com o período de intenso fluxo de fotoassimilados via rotas simplásticas. Por outro lado, a repressão gênica subsequente reflete à deposição de calose e à aparente redução metabólica no final do processo da maturação. Conclui-se que a regulação da calose é um processo dinâmico e essencial na transição da semente de soja para o final da maturação, ligada diretamente ao controle do fluxo de nutrientes e à redução da atividade metabólica.

Palavras-chave: Expressão Diferencial. Regulação Gênica. Sequenciamento de RNA. Transporte Simplástico.

Abstract: This study analyzed the transcriptional dynamics of genes related to the synthesis and modulation of callose during soybean seed maturation at stages R7, R8, and R9, which are important for the acquisition of physiological quality in soybean seeds (vigor and longevity). The methodology consisted of an *in-silico* analysis based on public RNA sequencing data, in which the gene expression levels of 10 genes from the Callose synthase family and 9 genes from the Callose-binding proteins were calculated as time-averaged values, normalized by Z-score, and visualized in heatmaps. The results demonstrated that both gene families exhibit a consistent expression pattern, characterized by high transcriptional activity at the R7 stage (Z-score close to or greater than 1.0) and a progressive reduction at the R8 and R9 stages. This fluctuation indicates that the peak of expression at R7 coincides with the period of intense photoassimilate flux via symplastic pathways. On the other hand, the subsequent gene repression reflects callose deposition and the apparent metabolic reduction at the end of the maturation process. It is concluded that callose regulation is a dynamic and essential process in the transition of the soybean seed toward the end of maturation, directly linked to the control of nutrient flux and the reduction in metabolic activity.

Keywords: Differential Expression. Gene Regulation. RNA sequencing. Symplastic Transport.

¹Doutoranda em Agronomia (Agricultura), UNESP/FCA, laura.pedrosa@unesp.br; ²Pesquisadora no Centro de Raízes e Amidos Tropicais, CERAT/UNESP, perla.oliveira@unesp.br; ³Professor Doutor em Agronomia (UNESP/FCA), Departamento de Produção Vegetal, amaral.silva@unesp.br

1 Introdução

A maturação de sementes constitui uma importante fase do desenvolvimento vegetal, marcada por mudanças físicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares, responsáveis por conferir às sementes viabilidade, vigor e longevidade (FINCH-SAVAGE; BASSEL, 2016). Em soja (*Glycine max* (L.) Merrill), os estádios reprodutivos, R7 a R9, correspondem às fases importantes do desenvolvimento da semente, iniciado em R7, com o estabelecimento da maturação fisiológica, seguido da redução progressiva da atividade metabólica, culminando no ponto de colheita, no estágio R9 (PEREIRA LIMA *et al.*, 2017).

Durante esse processo, o transporte de fotoassimilados entre os tecidos maternos e embrionários ocorre via floema por rotas simplásticas no funículo, utilizando os plasmodesmos como canais de conexão intercelular (BRUNKARD; ZAMBRYSKI, 2017; FAULKNER, 2018). Essas pontes citoplasmáticas permitem a passagem de moléculas essenciais, como hormônios, açúcares e RNAs, a curtas e longas distâncias (BAYER; BENITEZ-AFONSO, 2024; LI *et al.*, 2021).

A permeabilidade dos plasmodesmos é regulada dinamicamente pela deposição e remoção de calose, um β -1,3-glucano, cujo acúmulo estreita o canal e reduz a comunicação celular (AMSBURY *et al.*, 2018). Esse processo é mediado por enzimas da família *Callose synthase* (*CalSs*), que sintetizam a calose, e por proteínas *Plasmodesmata callose-binding proteins* (*PDCBs*), envolvidas na sua estabilização e regulação (ZAVALLIEV *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2024).

Embora a dinâmica de deposição de calose esteja associada à regulação da comunicação celular em diferentes processos do desenvolvimento vegetal, dados sobre o comportamento transcricional de genes associados à sua síntese e modulação durante a maturação de sementes de soja ainda são escassos. Assim, este trabalho teve como objetivo analisar, por meio da reanálise de dados públicos de sequenciamento de RNA (RNA-seq) de Pereira Lima *et al.* (2017), o perfil de expressão de genes da família *Callose synthase* e *Plasmodesmata callose-binding proteins* nos estádios R7, R8 e R9 da maturação de sementes de soja.

2 Material e Métodos

Foi realizada uma análise *in silico* utilizando dados públicos de RNA-seq obtidos do estudo de Pereira Lima *et al.* (2017), referentes a genes diferencialmente expressos durante a

maturação de sementes de soja. A partir da Tabela S3 do trabalho, foram selecionados os genes anotados como relacionados à síntese de calose (*Callose synthase*) e à regulação de plasmodesmos (*Plasmodesmata callose-binding proteins*), com base na anotação funcional disponível no SoyBase, Phytozome v14 e na literatura especializada.

Os valores de expressão gênica, previamente normalizados pelos autores por meio do *software* DESeq2 e expressos em escala $\log_2$, foram obtidos para os diferentes estágios de desenvolvimento das sementes (R7.1 a R9b). Para reduzir a variabilidade, foi calculada a média dos subestágios correspondentes aos estágios principais R7, R8 e R9.

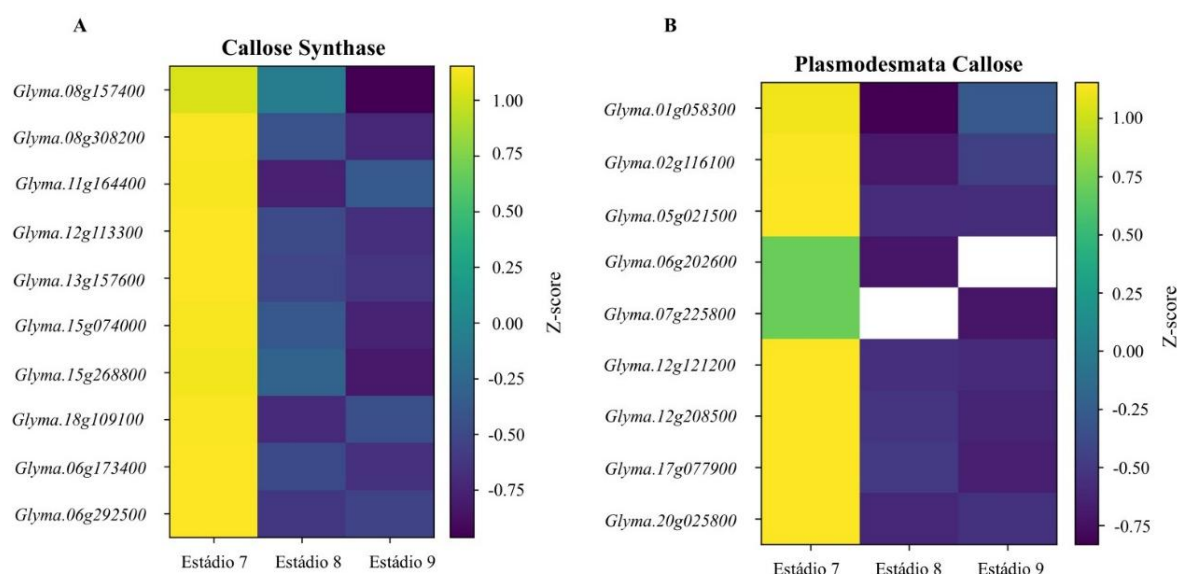
Posteriormente, os valores de expressão média foram analisados no ambiente estatístico R (R Core Team, 2014). Para cada gene, os valores foram escalonados por *Z-score* para evidenciar a variação relativa em cada estágio. Os dados foram plotados em gráficos de agrupamento térmico (*heatmaps*), gerados utilizando o pacote *pheatmap*, visando identificar padrões temporais de coexpressão e selecionar os alvos mais promissores para validação por RT-qPCR e estudos funcionais por edição gênica.

3 Resultados e Discussão

A análise do perfil transcricional dos genes apresentou um padrão consistente durante o processo de maturação das sementes de soja. Para a família das *Callose synthase*, os 10 genes avaliados demonstraram elevada expressão no estágio R7, com valores de *z-score* próximos ou superiores a 1.0, e redução nos estádios R8 e R9 (entre -0.25 e -0.75) (Figura 1A).

A família *Plasmodesmata callose-binding proteins* apresentou um perfil similar aos genes das sintases de calose nos 9 genes encontrados (Figura 1B). O padrão observado sugere que genes como *Glyma.01g058300*, *Glyma.12g121200*, *Glyma.12g208500* e *Glyma.17g077900* atingiram o ápice de sua expressão no estágio R7 (valores próximos de 1.0). Já os genes *Glyma.07g225800* e *Glyma.06g202600* apresentaram redução na expressão, com repressão severa nos estádios R8 e R9, sugerindo um silenciamento completo ao longo da maturação das sementes de soja.

FIGURA 1 - *Heatmaps* dos perfis de expressão gênica de (A) *Callose synthase* e (B) *Plasmodesmata callose-binding proteins* durante o desenvolvimento de sementes de soja (estádios 7–9). Os valores de expressão são apresentados como *Z-score*, com base em dados de RNA-seq de Pereira Lima *et al.* (2017).



Os padrões encontrados estão alinhados com as características descritas por Pereira Lima *et al.* (2017) ao estudar a maturação de sementes de soja. A alta expressão dos genes no estágio R7 coincide com o período em que o intenso fluxo de fotoassimilados da planta mãe para a semente ainda está acontecendo, reforçando o papel desses genes na dinâmica do transporte simplástico, via plasmodesmos, para o embrião em desenvolvimento (PEGLER; GROF; PATRICK, 2023). A redução da expressão de genes *CalSs* e *PDCBs* nos estádios R8 e R9 indicam o fechamento dos canais plasmodesmáticos por meio da deposição de calose, interrompendo a comunicação celular via citoplasma (LIU *et al.*, 2025). Esse padrão acompanha a fase final da maturação das sementes, quando o transporte de fotoassimilados e a atividade metabólica encontram-se reduzidos, indicando menor necessidade da regulação ativa da comunicação simplástica entre tecidos maternos e embrionários (PEREIRA LIMA *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2025).

De forma geral, os resultados demonstram que genes relacionados à síntese e regulação de calose apresentam elevada atividade transcricional no início da maturação das sementes de soja, seguida por redução progressiva ao longo do desenvolvimento. Esses dados reforçam a importância da dinâmica plasmodesmática durante a maturação, e sugerem que a modulação da conectividade simplástica constitui um processo altamente regulado durante a maturação e desenvolvimento da semente.

4 Conclusões

Genes relacionados à síntese de calose e à regulação de plasmodesmos apresentaram maior expressão no estágio R7 da maturação de sementes de soja, seguida de redução nos

estádios R8 e R9, indicando que a regulação da conectividade simplástica através da deposição de calose é um evento transcricionalmente ativo e temporalmente associado ao controle do fluxo de nutrientes e à maturação fisiológica das sementes.

Referências

- AMSBURY, S.; KIRK, P.; BENITEZ-ALFONSO, Y. Emerging models on the regulation of intercellular transport by plasmodesmata-associated callose. **Journal of Experimental Botany**, v. 69, n. 1, p. 105-115, 2018.
- BAYER, E.M.; BENITEZ-ALFONSO, Y. Plasmodesmata: Channels Under Pressure. **Annual Review of Plant Biology**, v. 75, p. 291–317, 2024.
- BRUNKARD, J.O.; ZAMBRYSKI, P.C. Plasmodesmata enable multicellularity: new insights into their evolution, biogenesis, and functions in development and immunity. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 35, p. 76-83, 2017.
- EQUIPE R CORE. R: Uma Linguagem e Ambiente para Computação Estatística. Viena, Áustria: **Fundação R para Computação Estatística**, 2014. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 18 mai. 2026.
- FAULKNER, C. Plasmodesmata and the symplast. **Current Biology**, v. 28, n. 24, p. R1365-R1381, 2018.
- FINCH-SAVAGE, W.E.; BASSEL, G.W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, p. 567-591, 2016.
- LI, Z.P.; PATERLINI, A.; GLAVIER, M.; BAYER, E.M. Intercellular trafficking via plasmodesmata: molecular layers of complexity. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 78, p. 799-816, 2021.
- LIU, X.; *et al.* Fertilization-dependent phloem end gate regulates seed size. **Current Biology**, v. 35, p. 1-15, 2025.
- PEGLER, J.L.; GROF, C.P.; PATRICK, J.W. Sugar loading of crop seeds – a partnership of phloem, plasmodesmal and membrane transport. **New Phytologist**, v. 239, p. 1584-1602, 2023.
- PEREIRA LIMA, J.J.; BUITINK, J.; LALANNE, D.; ROSSI, R.F.; PELLETIER, S.; SILVA, E.A.A.; LEPRINCE, O. Molecular characterization of the acquisition of longevity during seed maturation in soybean. **PLoS ONE**, v. 12, n. 7, p. e0180282, 2017.
- ZAVALIEV, R.; UEKI, S.; EPEL, B.L.; CITOVSKEY, V. Biology of callose (β -1,3-glucan) turnover at plasmodesmata. **Protoplasma**, v. 248, p. 117-130, 2011.
- ZHANG, H.; XIAO, X.; LI, Z.; CHEN, Y.; LI, P.; PENG, R.; LU, Q.; WANG, Y. Exploring the plasmodesmata callose-binding protein gene family in upland cotton: unraveling insights for enhancing fiber length. **Peer J**, v. 12, p. e17625, 2024.