

De *Arabidopsis* a *Oryza*: identificação de genes ortólogos, transformação e obtenção de plantas de arroz mais tolerantes à seca

Fernanda Raquel Martins Abreu¹, João Augusto Vieira de Oliveira², João Antônio Mendonça³, Ricardo Diógenes Dias Silveira⁴, Rosana Pereira Vianello⁵, Claudio Brondani⁶

A seca, um dos principais problemas para a sustentabilidade do cultivo de arroz no Brasil e no mundo, é responsável por uma série de respostas em plantas, incluindo mudanças na expressão gênica, acúmulo de metabólitos e síntese de proteínas. Um dos caminhos para resolver a redução da produtividade causada pela deficiência hídrica é o desenvolvimento de cultivares de arroz mais tolerantes à seca. Com o objetivo de verificar a expressão dos genes ortólogos *PLDα1* e *CPK5* em arroz, previamente relacionados com a tolerância à seca em *Arabidopsis*, o presente estudo, em uma primeira etapa, analisou em um experimento de tolerância à seca dois genótipos contrastantes de arroz, Douradão, tolerante à seca, e Primavera, susceptível. Níveis diferenciais de expressão estatisticamente significativos (teste Tukey, $p < 0,05$) para ambos os genes em relação aos tecidos foliar e radicular e estádios de desenvolvimento vegetativo e reprodutivo foram observados entre tratamentos com irrigação normal e com déficit hídrico entre os genótipos. Em *Arabidopsis*, *PLDα1* tem sido reportado como possuidor de um papel positivo na sinalização de ácido abscísico (ABA) através da produção de ácido fosfatídico, um importante mensageiro lipídico na sinalização de ABA e com importante papel em resposta a estresse de seca, enquanto que *CPK5* está envolvido com a fosforilação de proteínas, resposta ao ABA e alongação dos pelos das raízes. Neste trabalho, ambos *PLDα1* e *CPK5*, em relação à planta-controle (irrigação normal), aumentaram significativamente a expressão no tecido radicular de plantas do genótipo tolerante (Douradão) submetidas ao tratamento de seca no estádio vegetativo, e no tecido foliar no estádio reprodutivo. A explicação mais aceita para o modo de ação de ABA é que em uma fase inicial de escassez de água no solo ele seja sintetizado nas raízes e transportado ao longo do xilema para a parte aérea como um sinal de estresse para regular o movimento dos estômatos e a expressão de genes relacionados à tolerância à seca. No entanto, quando o adequado transporte de água é impedido, o que pode levar à falta de água na parte aérea ou levar as plantas sofrerem constante estresse, é possível que o ABA possa ser sintetizado na parte aérea e então ser transportado até as raízes. Comportamento similar foi observado na expressão dos genes em estudo. Esses resultados sugerem que *PLDα1* e *CPK5* estão efetivamente atuando em resposta à tolerância à seca em arroz. No entanto, para confirmar a atuação desses genes seguiu-se com a segunda etapa do trabalho em que *PLDα1* e *CPK5* foram clonados no vetor binário p7i2x-Ubi que possui o promotor 35S para o gene marcador Bar (que confere resistência ao bialafos) e o promotor Ubiquitina para o gene de interesse. Posteriormente os genes foram inseridos no genoma da cultivar BRSMG Curinga via *Agrobacterium*. Sementes de plantas da geração T1 derivadas de 5 eventos independentes (4 eventos de *CPK5* e 1 evento de *PLDα1*) foram semeadas em telado com Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB) onde avançaram à geração T2. Posteriormente, após identificação das plantas com os genes de interesse, por meio de PCR, 8 plantas T2 de cada evento foram semeadas em telado com CQB para avanço à geração T3. Paralelamente um experimento de tolerância à seca foi montado em telado com CQB para verificar o comportamento das plantas T2 geneticamente modificadas (GM) em resposta à restrição hídrica. Ainda em 2015 será realizado um ensaio de tolerância à seca em T3 na plataforma SITIS a fim de comparar o nível de expressão gênica das plantas BRSMG Curinga GM e não-GM por meio da análise de PCR quantitativa, e relacionar esse nível de expressão com uma série de parâmetros fisiológicos medidos para avaliar a resposta à seca. Caso sejam identificadas plantas cuja expressão diferencial de um, ou ambos os genes, tenha sido relacionada com o aumento da tolerância à seca, as mesmas poderão resultar em uma nova tecnologia da Embrapa para o aumento da tolerância à seca em arroz.

¹ Estudante de pós-graduação (doutorado) em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, fernanda_rma@hotmail.com

² Estudante de pós-graduação (mestrado) em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, augusto.joao@outlook.com

³ Biólogo, MsC. em Genética e Melhoramento de Plantas, técnico da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, joao.mendonca@embrapa.br

⁴ Biólogo, doutor em Ciências Biológicas, professor do Instituto Federal Goiano, Urutaí, GO, ricardo.silveira@ifgoiano.edu.br

⁵ Bióloga, doutora em Ciências Biológicas, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, rosana.vianello@embrapa.br

⁶ Engenheiro agrônomo, doutor em Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, claudio.brondani@embrapa.br