

Plantas de arroz geneticamente modificadas com genes homólogos relacionados à tolerância à seca em Arabidopsis

Fernanda Raquel Martins Abreu¹, João Augusto Vieira de Oliveira², Rosana Pereira Vianello³, Claudio Brondani⁴

A seca é um problema recorrente para a sustentabilidade do cultivo do arroz. Um dos caminhos para resolver a redução da produtividade causada pela deficiência hídrica é o desenvolvimento de cultivares de arroz mais tolerantes à seca. Dessa forma, este estudo teve como objetivo selecionar dois genes homólogos de arroz, previamente relacionados à tolerância à seca em Arabidopsis, que apresentaram expressão diferencial entre genótipos tolerante e suscetível à seca e, a partir deles, obter plantas GM mais tolerantes a essa condição. Cinco genes de Arabidopsis (*CPK6*, *PLD α 1*, *GluR2*, *CesA8*, e *EIN2*) foram identificados em arroz (*CPK5*, *PLD α 1*, *GluR2*, *CesA4*, e *EIN2*, respectivamente) por homologia da sequência de aminoácidos. Para verificar a expressão diferencial dos genes foram avaliados tecidos de folhas e raízes, nos estádios vegetativo e reprodutivo, dos genótipos Douradão (tolerante à seca) e Primavera (susceptível à seca) antes e após serem submetidos a estresse de seca e um experimento de restrição hídrica, no delineamento em blocos casualizados, realizado em casa de vegetação da Embrapa Arroz e Feijão. Os dados de quantificação relativa (RQ) foram obtidos por meio da técnica de qPCR, método do $\Delta\Delta C_t$, utilizando *GAPDH* e *ACT* como genes de referência e o software DataAssist[®] para obtenção de valores brutos de RQ. Para confirmar a atuação em resposta à seca, dois genes, *PLD α 1* e *CPK5*, ambos diretamente relacionados ao ABA, foram clonados em vetor binário p7i2x-Ubi. Os genes foram inseridos no genoma da cultivar BRSMG Curinga, moderadamente tolerante à seca, via *Agrobacterium*. Sementes de plantas da geração T1 derivadas de cinco eventos independentes (quatro eventos de *CPK5* e um evento de *PLD α 1*) foram semeadas em telado com Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB) onde foi promovido o avanço à geração T2 e depois à T3. Foi realizado um ensaio de tolerância à seca em T3 na plataforma de fenotipagem SITIS, na Embrapa Arroz e Feijão, a fim de comparar dados de produtividade de plantas BRSMG Curinga GM e não-GM. Os resultados de quantificação relativa mostraram que os cinco genes homólogos foram expressos em arroz, que é uma indicação de que estes genes podem preservar a função putativa como uma resposta à seca. Os cinco genes homólogos mostraram níveis diferenciais de expressão (teste Tukey, $p < 0,05$) em ambos os genótipos submetidos a estresse de seca em comparação aos respectivos tratamentos controle (sem restrição hídrica). No genótipo Douradão, a expressão de *PLD α 1* aumentou significativamente em ambos os tecidos avaliados como resposta à seca nos estádios vegetativo e reprodutivo, enquanto que no genótipo Primavera este gene foi suprimido em ambos os tecidos e estágios sob tratamento de restrição hídrica. Para os demais genes em estudo os níveis de expressão variaram de acordo com os tratamentos. Os níveis de todos os genes observados no genótipo Douradão apresentaram expressão diferencial frente à seca, o que sugere que eles poderiam estar de fato agindo em resposta à seca em arroz. Dessa forma, é factível a hipótese de que a clonagem e a superexpressão destes genes em arroz GM, ou a piramidação do melhor alelo de cada gene por meio de seleção assistida poderia, potencialmente, permitir o desenvolvimento de cultivares de arroz mais tolerantes à seca. Assim, foram obtidos eventos *PLD α 1* e *CPK5*, com os quais foi realizado ensaio de seca na geração T3. A partir dos resultados de produtividade foi possível observar que não houve diferenças estatisticamente significativas entre plantas GM e não-GM não submetidas a restrição hídrica, uma evidência de que a inserção dos genes não afetou negativamente os mecanismos regulatórios de produtividade em plantas GM. A diferença estatística foi observada apenas comparando-se tratamentos (irrigado versus seca). Um novo experimento está sendo conduzido na SITIS com o objetivo de aplicar um tratamento de seca mais severo, de modo que possam ser observadas diferenças no desempenho produtivo de plantas GM e não-GM submetidas 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 (doutorado) em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, augusto.joao@outlook.com

³ Bióloga, doutora em Ciências Biológicas, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, rosana.vianello@embrapa.br

⁴ Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, claudio.brondani@embrapa.br