

Avaliação de plantas transgênicas de soja superexpressando o gene *AtNCED3* sob estresses hídricos

SILVA, M.H.P.¹; CRUZ, G.E.N.²; FUHRMANN, M.B.³; ANDREATTA, E.C.³; MOLINARI, M.D.C.³; MARIN, S.R.R.⁴; NEPOMUCENO, A.L.⁵; MERTZ-HENNING, L.M.⁵.

¹UNIFIL, Bolsista Embrapa, Londrina, PR, mariaheioizaps@hotmail.com; ²UNOPAR, Bolsista PIBIC/CNPq;

³Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular - Universidade Estadual de Londrina;

⁴Analista, Embrapa Soja; ⁵Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja. Além de abastecer o mercado interno, o grão se constitui no principal produto agrícola de exportação. Na safra 2018/19, projeções apontam para uma estimativa de produção de mais de 114 milhões de toneladas do grão (Conab, 2019). Porém, nos últimos anos, perdas de produtividade da cultura vêm sendo registradas em função de estresses bióticos e abióticos. Entre os estresses abióticos, a disponibilidade hídrica inadequada, seja pelo déficit ou pelo excesso hídrico, é o que mais compromete o rendimento, principalmente pelos danos causados ao longo do desenvolvimento das plantas.

A seca é um dos grandes problemas para a agricultura global e, de acordo com Salekdeh et al. (2009), afeta permanentemente 28% dos solos do mundo, com quase metade de todos os solos intermitentemente limitados devido à falta de profundidade, à baixa capacidade de retenção de água e a outros fatores. O estresse por excesso hídrico, por sua vez, limita a disponibilidade de oxigênio às plantas (Drew, 1997). A deficiência de oxigênio acarreta uma série de distúrbios no metabolismo das plantas que se manifestam por meio de alterações no crescimento e desenvolvimento (Borella et al., 2014). No Brasil, a maior parte das áreas que sofrem com o estresse por encharcamento encontra-se no Rio Grande do Sul, correspondendo a aproximadamente 5,4 milhões de hectares (Emygdio et al., 2017).

Entre as alternativas que podem contribuir para minimizar os efeitos desses estresses na cultura da soja está o desenvolvimento de genótipos mais tolerantes. Trabalhos prévios indicam que plantas de soja superexpressando o gene *AtNCED3* apresentam melhor desempenho sob estresse por déficit hídrico (Ahrazem et al. 2012).

O objetivo do trabalho foi caracterizar plantas de soja superexpressando o gene *AtNCED3* sob condições de déficit e excesso hídrico, por meio da avaliação da atividade da enzima catalase.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, utilizando dois genótipos: a cultivar convencional BRS 184 e o evento geneticamente modificado (GM) denominado 2Ha11 (superexpressando o gene *AtNCED3*). Inicialmente as sementes foram germinadas em laboratório e, após cinco dias, plântulas de tamanho uniforme foram transplantadas para os vasos em casa de vegetação. As plantas foram cultivadas em vasos de 1L, contendo 1 kg de substrato areia: solo na proporção 1:1 e mantidas sob condições ideais de irrigação até atingirem o estágio fenológico V3 (Fehr, 1971). A partir desse estágio iniciou-se o tratamento de estresse, sendo as plantas do tratamento controle mantidas sob condições ideais de irrigação. As plantas do tratamento de seca foram submetidas ao estresse por meio de suspensão da irrigação, e as plantas do tratamento encharcado foram submetidas a uma lâmina de água de 3-5 cm. Essas condições foram mantidas até que as plantas do tratamento de estresse por seca atingissem valores de condutância estomática inferiores a $200 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Foram utilizadas seis repetições para cada tratamento. Ao atingirem essa condição efetuou-se a coleta de tecidos de folha e raiz para determinação da enzima catalase (CAT) a partir de protocolo de Gratão, Carvalho e Monteiro (2014) com adaptações necessárias. Para a determinação da atividade enzimática foram realizados bulks de duas plantas, constituindo 3 repetições biológicas, com 3 replicatas técnicas. Os resultados foram expressos em atividade da enzima por mg de proteína.

Resultados e Discussão

De acordo com os resultados observados para folha (Figura 1) e raiz (Figura 2), não houve diferenças entre os genótipos nas diferentes condições de estresse testadas.

De maneira geral, a raiz apresentou maior atividade da enzima CAT em comparação com a folha. Nas raízes, embora o evento transgênico tenha apre-

sentado maiores valores de atividade dessa enzima em comparação com a cultivar convencional, nas diferentes condições testadas, essa diferença não foi significativa estatisticamente. Nesse estudo, embora o estresse tenha sido detectado por meio da condutância estomática, visualmente não foi possível observar diferenças entre os tratamentos. Assim sugere-se o desenvolvimento de novos ensaios, avaliando períodos maiores de exposição ao estresse.

Quando as plantas são submetidas a condições de estresse, ocorre a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), o que faz com que ocorra a ativação do sistema de desintoxicação enzimática por meio da atividade de diversas enzimas, dentre essas a catalase (CAT) (Vasconcelos et al., 2009). Plantas mais tolerante ao estresse podem apresentar diferenças quando ao mecanismo de controle do estresse oxidativo. No estudo apresentado, não foram observadas diferenças entre os genótipos testados, porém outras enzimas do sistema antioxidante podem estar atuando no controle das ROS.

Assim sugere-se a realização de novos estudos, incluindo outras avaliações fisiológicas e a determinação da atividade de outras enzimas além da CAT, que possam explicar as diferenças observadas nos estudos prévios, os quais indicaram o genótipo 2Ha11 como mais tolerante em relação a cultivar convencional BRS 184.

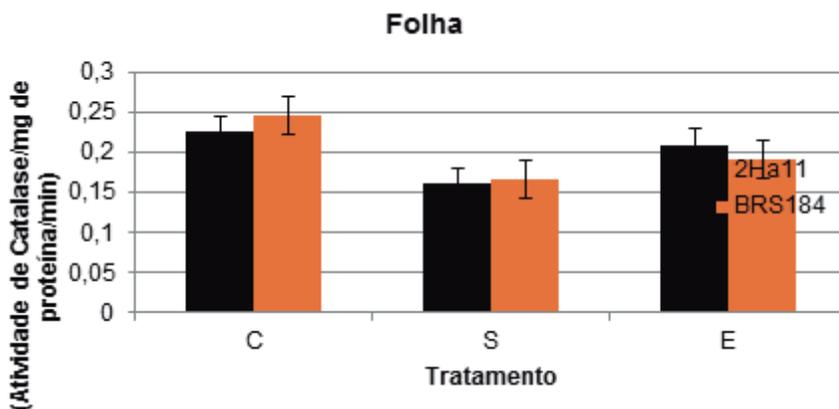


Figura 1. Atividade da enzima catalase em folhas de soja sob os estresses por seca (S), encharcamento (E) e na condição controle (C).

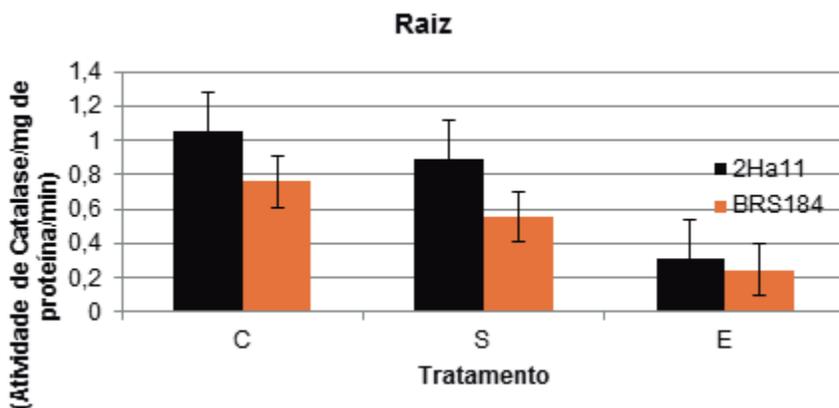


Figura 2. Atividade da enzima catalase em relação a raiz de soja sob os estresses por seca (S), encharcamento (E) e na condição controle (C).

Conclusão

Não foi observada diferença significativa em relação a atividade da enzima catalase, entre o evento GM 2Ha11 e a cultivar convencional BRS 184, nas diferentes condições de disponibilidade hídrica.

Referências

- AHRAZEM, O.; RUBIO-MORAGA, A.; TRAPERO, A.; GÓMEZ-GÓMEZ, L. Developmental and stress regulation of gene expression for a 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, CstNCED, isolated from *Crocus sativus* stigmas. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, p. 681-694, 2012.
- BORELLA, J.; AMARANTE, L. do; OLIVEIRA, D. dos C. de; OLIVEIRA, A. C. B. de; BRAGA, E. J. B. Waterlogging-induced changes in fermentative metabolism in roots and nodules of soybean genotypes. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 6, p. 499-508, 2014.
- CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, oitavo levantamento, maio 2019, safra 2018/19.** 69 p. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/safra-graos/boletim-da-safra-de-graos>>. Acesso em: 10 mai. 2019.
- DREW, M. Effects of flooding on growth and metabolism of herbaceous plants. In: KOZLOWSKI, T. T. (Ed.). **Flooding and plant growth**. Orlando, Florida: Academic Press Inc., 1997. p. 47-128.
- EMYGDIO, B. M.; ROSA, A. P. S. A.; OLIVEIRA, A. C. B. **Cultivo de soja e milho em terras baixas do Rio Grande do Sul**. Brasília: Embrapa, 2017. 336 p.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E.; BURMOOD, D. T.; PENNINGTON, J. S. Stage of development description for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**, v. 11, p. 929-931, 1971.

GRATÃO, P. L.; CARVALHO, R. F.; MONTEIRO, C. C. **Protocolos para avaliação do estresse oxidativo em plantas**. Jaboticabal: UNESP- Laboratório de Fisiologia de Plantas. 2014. 42 p.

SALEKDEH, G. H.; REYNOLDS, M.; BENNETT, J.; BOYER, J. Conceptual framework for drought phenotyping during molecular breeding. **Trends in Plant Science**, v. 14, n. 9, p. 488-496, 2009.

VASCONCELOS, A. C. F. de; ZHANG, X.; ERVIN, E. H.; KIEHL, J. de C. Respostas de enzimas antioxidantes a bioestimulantes em plantas de milho e de soja sob estresse hídrico. **Scientia Agricola**, v. 66, n. 3, p.395-402, 2009.