

# Superexpressão do Precursor de Rubisco para Aumento da Produtividade e Tolerância à Seca em Arroz<sup>(1)</sup>

João Augusto Vieira de Oliveira<sup>2</sup>, Dhiôvanna Corrêia Rocha<sup>3</sup>, Rosana Pereira Vianello<sup>4</sup>, João Antônio Mendonça<sup>5</sup>, Anna Cristina Lanna<sup>6</sup> e Claudio Brondani<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Pesquisa financiada pelo CNPq e pela Capes.

<sup>2</sup> Biólogo, doutorando em Ciências Biológicas pelo PPGCB da UFG, estagiário da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

<sup>3</sup> Bióloga, mestranda em Genética e Melhoramento de Plantas da UFG, estagiária da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

<sup>4</sup> Bióloga, doutora em Biologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

<sup>5</sup> Biólogo, mestre em Genética e Melhoramento de Plantas, técnico da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

<sup>6</sup> Química, doutora em Ciências Agrárias, pesquisadora da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

<sup>7</sup> Engenheiro-agrônomo, doutor em Biologia Molecular, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

**Resumo** - O objetivo deste trabalho foi gerar plantas de arroz geneticamente modificado (GM) superexpressando o gene precursor da subunidade *Large* da enzima Rubisco (*rbcL*), com a finalidade de aumentar a produtividade de grão sob irrigação normal e sob deficit hídrico. Rubisco (ribulose 1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase) catalisa a primeira reação do ciclo de Calvin-Benson (assimilação do CO<sub>2</sub>) por meio da carboxilação do açúcar RuBP e CO<sub>2</sub>. Rubisco é a proteína mais abundante no planeta, entretanto, sua grande abundância é compensada por suas baixas eficiências catalíticas, e a indevida assimilação de O<sub>2</sub> induz uma reação que leva a um desperdício energético, a fotorrespiração. Este trabalho iniciou com a clonagem do gene precursor da Rubisco (*rbcL*) no vetor binário p7i2x-Ubi, o qual foi inserido, via *Agrobacterium*, no genoma da cultivar de arroz de terras altas BRSMG Curinga. Sementes de plantas GM da geração T1 foram semeadas em telado com Certificado de Qualidade em Biossegurança, onde foi promovido o avanço à geração T2 e seleção com o glufosinato de amônio 2% + Tween 20 a 0,1%. Em seguida foi realizado um ensaio na geração T2, o que resultou em diferenciação significativa ( $p < 0,05$ ) para a produtividade de grão entre plantas de arroz GM e plantas de BRSMG Curinga não transformadas (NGM). Os eventos com maior destaque (maior produção em relação ao controle) foram selecionados para análise de presença/ausência do T-DNA inserido (via PCR convencional). As amostras tiveram seus RNAs isolados com o kit comercial RNeasy mini kit (QIAGEN) e foram quantificadas com o equipamento Qubit<sup>®</sup> utilizando o kit RNA HS Assay Kit (Life Technologies). A qualidade do RNA foi visualizada em gel desnaturante de RNA em gel de agarose a 2%. Após esses critérios, as amostras foram transcritas para cDNA, via GoScript<sup>™</sup> Reverse Transcription System (Promega) e diluídas para concentração final de 10ng/μL, estando finalmente aptas à análise de expressão gênica, no aparelho 7500 Real Time PCR Systems (Applied Biosystems<sup>®</sup>), reação essa seguida pela análise com o *Sequence Detection Software* (SDS) v2.0.5, utilizando o sistema de detecção PowerUp<sup>™</sup> SYBR<sup>™</sup> Green Master Mix (Applied Biosystems<sup>®</sup>). Os dados brutos (Ct) foram exportados para o programa LinRegPCR, que fornece valores de concentração inicial (N0) para *amplicons* dos genes analisados, utilizando a fórmula  $N0 = \text{threshold} / (\text{Eff\_mean}^{\text{Ct}})$ . Em seguida, os dados foram normalizados com a média geométrica de três genes de expressão constitutiva (GAPDH, EEF1- $\alpha$  e Actina). A análise de expressão diferencial comprovou que a superexpressão do gene precursor da Rubisco nas plantas transformadas resultou em plantas mais produtivas e tolerantes à seca, quando comparadas com as plantas controle (NGM). No momento esses dados de expressão gênica estão sendo correlacionados com os dados fisiológicos coletados (condutância estomática, taxa fotossintética e de transpiração, massa seca, etc.), a fim de identificar os mecanismos relacionados com o maior potencial produtivo na seca e, com isso, validar o fenótipo favorável para, em seguida, encaminhar o pedido de liberação para testes de campo como primeira etapa visando o lançamento comercial desse arroz GM.