

ANÁLISES COMPARATIVAS DE EXPRESSÃO GÊNICA EM DOIS GENÓTIPOS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) CONTRASTANTES QUANTO À TOLERÂNCIA AO FRIO

Introdução

O Rio Grande do Sul cultiva cerca de um milhão de hectares de arroz irrigado por ano, responsáveis por mais de 60% da produção nacional. A grande maioria das cultivares semeadas pertence à subespécie *indica* que, apesar do alto potencial de rendimento e qualidade dos grãos, é extremamente sensível ao frio. Dessa forma, pesquisas que objetivem elucidar mecanismos de tolerância a baixas temperaturas são importantes para auxiliar o melhoramento genético.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a expressão diferencial de genes em duas cultivares de arroz semelhantes geneticamente, porém discrepantes quanto à tolerância a baixas temperaturas.

Materiais e Métodos

Plantas de arroz de 100 genótipos diferentes foram testadas quanto à tolerância ao frio, sendo submetidas à temperatura de 10°C durante dez dias, seguidos de sete dias de recuperação a 28°C (Figura 1). Após esse período, foi avaliada a porcentagem de sobrevivência das plantas, que foram divididas em sensíveis (sobrevivência < 30%), intermediárias (30% < sobrevivência < 70%) e tolerantes (sobrevivência > 70%) (Figura 2).

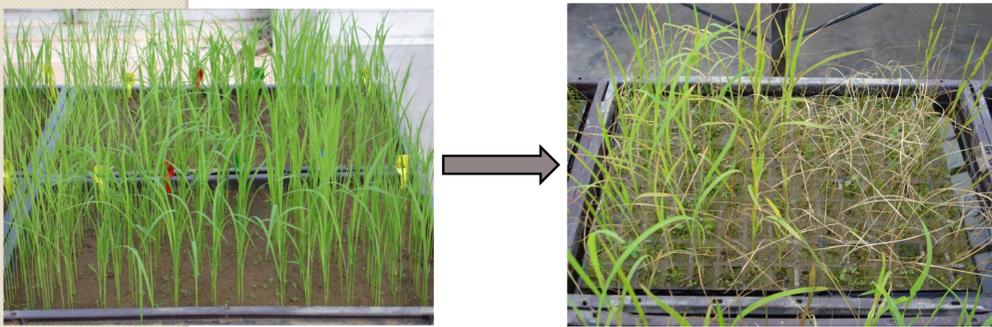


Figura 1. Seleção de genótipos de arroz tolerantes ao frio.

Após etapa de avaliação de proximidade genética – sendo as descendências das linhagens conhecidas – versus porcentagem de sobrevivência, duas linhagens foram escolhidas e expostas ao frio por zero, seis e 24 horas e tiveram seu conteúdo de mRNA extraído, quantificado e equalizado, para posterior análise por qRT-PCR (PCR em Tempo Real). Foram avaliados os seguintes genes previamente descritos na literatura como responsivos ao frio em arroz: *LIP9*, *WCOR413*, *DREB1B*, *ONAC048*, *MAP1*, *MEK1*, *NAC5*, *ASR1*, *CDPK7*, *COIN* e *MYBS3*; além de três outros genes ainda não descritos, porém com expressão diferencial em condições de frio, encontrados com auxílio da ferramenta *Genevestigator* e nomeados *GNV 1-3*.

Resultados

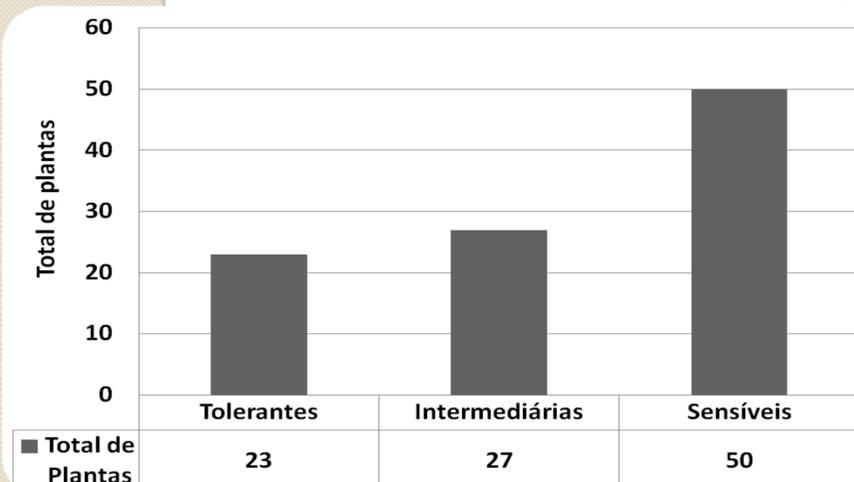


Figura 2. Quantidade de genótipos testados enquadrada em cada uma das categorias de tolerância.

As linhagens IRGA 959-1-2-2F-4-1-4-A e IRGA 959-1-2-2F-4-1-4-D-1-CA-1, apesar de serem linhagens irmãs e, portanto, muito próximas geneticamente, mostraram-se muito discrepantes em relação à tolerância ao frio, sendo a primeira tolerante e a segunda sensível. Sendo assim, essas foram as linhagens escolhidas para prosseguir com as análises.

Dos 14 genes testados, apenas *LIP9*, *WCOR413* e *DREB1B* mostraram expressão diferencial entre os dois genótipos. O gene *LIP9* (Figura 3a) apresenta maior expressão no genótipo tolerante após 6 horas de exposição ao frio, enquanto que a expressão do gene *WCOR413* (Figura 3b) é constitutivamente maior no genótipo tolerante e fortemente inibida em ambos os genótipos e o gene *DREB1B* (Figura 3c) tem sua expressão bastante aumentada após 6 horas de frio, principalmente no genótipo tolerante.

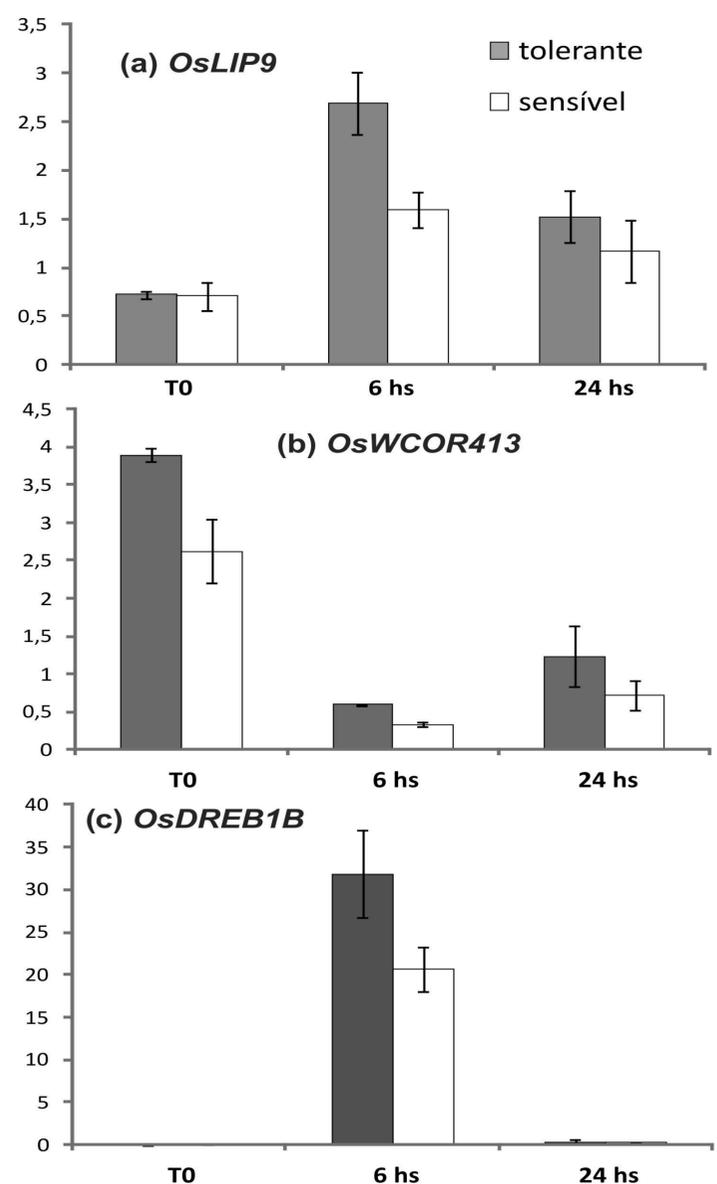


Figura 3. Expressão gênica em plantas de dois genótipos de arroz submetidos a frio (10 °C) por zero, seis e 24 horas.

Conclusões

Dos 14 genes testados, três apresentaram modificação na expressão (entre os genótipos) após tratamento a baixas temperaturas, sendo que dois deles apresentaram maior expressão no genótipo tolerante após seis horas de tratamento (10°C).

Perspectivas

Está sendo realizada análise por *deep sequencing* (sequenciamento em grande escala) de quatro bibliotecas de cDNA (sementes em germinação a 13°C e folhas na fase vegetativa a 10°C, de ambos os genótipos) utilizando-se o sistema Illumina® HiSeq 2000, oferecido pela empresa Fasteris, que permitirá a análise do padrão global de expressão gênica dessas plantas.