



UFRRJ



PROPPG  
Pro-Reitoria de Pesquisa  
e Inovação  
UFRRJ



**RAIC 21/22**  
IX Reunião Anual de  
Iniciação Científica

**RAIDTEC 21/22**  
III Reunião Anual de Iniciação em  
Desenvolvimento Tecnológico  
e Inovação

# Nossas Cientistas:

mulheres e ciência no Brasil,  
ontem e hoje



1. Carolina Maria de Jesus  
2. Bertha Lutz  
3. Maria Conceição  
4. Lella Gonzales  
5. Mayana Zatz  
6. Sonia Guimarães

## OBTENÇÃO DE LINHAGENS DE PLANTAS MODIFICADAS COM POTENCIAL DE TOLERAR ESTRESSE POR SECA

IX Reunião Anual de Iniciação Científica da UFRRJ (RAIC 2021/2022) e III Reunião Anual de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (RAIDTEC 2021/2022) - UFRRJ, 0ª edição, de 15/05/2023 a 19/05/2023  
ISBN dos Anais: 978-65-5465-041-0

**SILVA; Julia da <sup>1</sup>, OLIVEIRA; Clenya Carla Leandro de <sup>2</sup>, NOGUEIRA; André Luis da Silva Parente <sup>3</sup>, MELO; Maria Eduarda Pimentel de <sup>4</sup>, SANTOS; Leandro Azevedo <sup>5</sup>**

### RESUMO

O arroz (*Oryza sativa* L.) representa um dos cereais mais importantes devido à produção e ao consumo no mundo, estando presente na dieta frequente das classes de menor rendimento econômico e na tradicional culinária brasileira, sendo assim, um alimento acessível e nutricionalmente rico. No entanto, é necessário em média 2500 litros de água para produzir 1 quilo de arroz bruto, consistindo em um cereal sensível à escassez hídrica, um fenômeno que tem e tende a se agravar nas próximas décadas. Nessa perspectiva, surge a necessidade de criação de plantas que possam produzir mais grãos de arroz demandando menos água, dessa forma, também tolerando mais os efeitos do estresse por seca. A edição gênica de plantas se apresenta como uma ferramenta para aumentar a tolerância das culturas à condição de seca e para isso é necessário entender as funções dos genes que estejam relacionados com os mecanismos que levam a esse aumento. Com o propósito de expandir as informações a respeito dos genes regulatórios, o presente projeto tem como objetivo obter plantas geneticamente modificadas potencialmente tolerantes à seca selecionando plantas realmente transformadas de não transformadas. Para isso, avaliando o RNA-seq de genes de duas variedades distintas quanto a tolerância a seca de arroz, chegamos a dois genes, chamados, a princípio de UP e EF, com expressão elevada na variedade tolerante às 2 horas após imposição do estresse induzido por PEG6000. O trabalho foi conduzido no Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas do departamento de solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). A planta de arroz (*oryza sativa*), variedade Nipponbare, modelo para edição gênica, foi a escolhida para a transformação. Foram elaboradas duas construções genéticas para nocaute dos genes selecionados utilizando a tecnologia CRISPR-Cas9, além de outras duas construções para superexpressão dos mesmos genes sob o controle do promotor da ubiquitina do milho. Realizou-se o processo de indução de calos de arroz, infecção deles mediada por *Agrobacterium tumefaciens*

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, juliasilvarj13@gmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, clenya.carla1@gmail.com

<sup>3</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, andre\_nogueira18@hotmail.com

<sup>4</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, mariaeduardafrjr@yahoo.com

<sup>5</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, azevedo.ufrjr@gmail.com

com as construções pRGEB31-gRNA-UP, pRGEB31-gRNA-EF, pIRS-154-UP e pIRS-154-EF; seleção de calos infectados através do antibiótico higromicina (50 mg L<sup>-1</sup>), indução de parte aérea com meio rico em Cinetina (500 mg L<sup>-1</sup>), e em seguida, indução de raiz. Utilizamos sequenciamento Sanger como estratégia de confirmação das plantas pRGEB31-gRNA e amplificação da região codante para a sequência correspondente a região inicial e final de transcrição da construção IRS154 através de PCR, e visualização das bandas através de eletroforese em gel de agarose. O antibiótico higromicina permitiu que ocorresse a eliminação de calos e plantas negativas para a construção que foi inserida. O sequenciamento Sanger permitiu visualizar a mutação de bases de nucleotídeos que ocorreu no DNA das plantas de arroz que foram nocauteadas com a tecnologia CRISPR/CAs9. A amplificação com os oligos relacionados a região de iniciação e terminação do vetor IRS154 permitiram validar as plantas que realmente apresentam a edição gênica com superexpressão, descartando as falsas positivas. O método seguido e a estratégia de seleção e validação permitiram fazer uma triagem entre plantas positivas para as estratégias de edição gênica escolhida.

**PALAVRAS-CHAVE:** CRISPR/Cas9, Oryza Sativa, edição gênica, estresse abiótico