



UFRRJ



PROPPG
Pró-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 ¹, OLIVEIRA; Clenya Carla Leandro de ², NOGUEIRA; André Luis da Silva Parente ³, MELO; Maria Eduarda Pimentel de ⁴, SANTOS; Leandro Azevedo ⁵

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*

¹ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, juliasilvarj13@gmail.com

² Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, clenya.carla1@gmail.com

³ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, andre_nogueira18@hotmail.com

⁴ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, mariaeduardafrjr@yahoo.com

⁵ 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⁻¹), indução de parte aérea com meio rico em Cinetina (500 mg L⁻¹), 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