

Expressão dos transportadores de aminoácidos *Os01g65670*, *Os07g04180* e *Os01g66010* em variedades de arroz adaptadas a flush de nitrogênio ⁽¹⁾.

Cassia Pereira Coelho⁽²⁾; Andressa Fabiane Faria de Souza⁽³⁾; Rafael Passos Rangel⁽⁴⁾; Leandro Azevedo Santos⁽⁵⁾; Sonia Regina de Sousa⁽⁶⁾; Manlio Silvestre Fernandes⁽⁷⁾

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos da CAPES, CNPQ e FAPERJ.

⁽²⁾ Estudante de doutorado do Curso de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ; Seropédica, Rio de Janeiro; cassiapcoelho04@gmail.com; ⁽³⁾ Estudante de Graduação em Agronomia; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ; ⁽⁴⁾ Estudante de Mestrado em Agronomia – Ciência do Solo; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ; ⁽⁵⁾ Professor Adjunto II, Dpt de Solos; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ ⁽⁶⁾; Professora Associada IV, Dpt de Química; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ; ⁽⁷⁾ Professor Emérito; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ

RESUMO: O estudo de genes que codificam para proteínas envolvidas na remobilização de N durante o período de enchimento dos grãos em arroz, em especial os transportadores de aminoácidos, é de grande importância para identificar os mecanismos envolvidos na Eficiência de Remobilização de N nessas plantas. O objetivo deste trabalho foi verificar a expressão de genes relacionados ao transporte de aminoácidos em plantas de arroz de duas variedades locais do estado do Maranhão-Brasil, adaptadas a solos com baixa disponibilidade de nutrientes e fluxo sazonal de N (flush). *OsAAP6b* parece estar mais associado ao transporte de aminoácidos para o enchimento dos grãos, enquanto os genes *OsAAP7* e *OsAAP15* podem estar mais relacionados ao transporte de aminoácidos a partir de órgãos fonte. A variedade de arroz Revenda apresentou maior expressão do gene *OsAAP6b* em sementes em desenvolvimento, o que corrobora com a maior Eficiência de Remobilização de N apresentada por essa variedade em trabalhos anteriores

Em arroz há uma carencia de estudos sobre a caracterização de genes relacionados a remobilização de N, tornando importante o estudo de genes que codificam para proteínas durante o enchimento dos grãos, em especial os transportadores de aminoácidos, que se constituem na principal forma de remobilização de N orgânico nas plantas no período de enchimento de grãos. A caracterização desses genes pode ajudar a entender os mecanismos envolvidos na remobilização de N na forma de aminoácidos e contribuir para futuros estudos visando o aumento da EUN por plantas de arroz e a produção de grãos com maiores teores de proteína.

O objetivo deste trabalho foi verificar a expressão de genes relacionados ao transporte de aminoácidos em plantas da arroz de duas variedades locais do estado do Maranhão-Brasil (Revenda e Bico ganga) adaptadas à condições de cultivo em solos com baixo suplementação nitrogenada e flush desse nutriente. Em trabalhos anteriores foi verificada que essas variedades apresentam maior Eficiência de Remobilização de N quando comparadas à variedade melhorada IAC-47.

Termos de indexação: *Oryza sativa*, variedades locais de arroz, remobilização de N

INTRODUÇÃO

O aumento da Eficiência de Uso de N em cultivos é uma ferramenta de suma importância para diminuir o uso de fertilizantes nitrogenados e a identificação de genes-chave nesse processo é essencial para programas de melhoramento

Decifrar a função de genes de arroz é um importante passo para a identificação de genes-chave de importância agrônômica para o melhoramento desse e de outros cereais como o milho, o trigo e a cevada, em termos de produção, e valor nutricional (GRECO et al., 2003).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no Departamento de Solos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ. Sementes de arroz das variedades Revenda e Bico-Ganga foram germinadas em vasos plásticos com capacidade de 10 litros que receberam 8 kg de terra fina seca ao ar (TFSA) do horizonte A de um Chernossolo (0-20 cm), que foi peneirada, em peneira de 2mm. A umidade do solo foi mantida entre 80 a 90% da capacidade de campo.

As plantas receberam adubação equivalente a 60 Kg/ha de N. As doses de outros nutrientes necessários ao desenvolvimento das plantas, como

P e K, foram determinadas de acordo com a análise de solo, seguindo as recomendações para atender as necessidades da cultura. Foram realizadas coletas aos 15 dias antes da antese (DAA) e aos 15 dias depois da antese (DDA). Amostras de folhas bandeira e panículas foram retiradas, imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas à 80°C. O RNA total foi extraído segundo Gao et al. (2001) e foi realizada a análise de expressão por RT-PCR dos genes *Os01g65670*, *Os07g04180* e *Os01g66010*. O gene

em folhas jovens de plantas de arroz, mas expressão relativamente alta nos demais órgãos.

O gene *Os01g66010* apresentou maior expressão nas folhas bandeira do que nas panículas, em ambas as variedades (**Figura 1**). Os resultados para esse gene estão de acordo com a forte expressão observada por Lu et al (2012) em folhas e bainhas de arroz. Esses autores também observaram baixos níveis de expressão para *Os01g66010* em sementes, raízes, panículas e endosperma. Esses resultados podem indicar maior participação desse gene no transporte de aminoácidos na parte aérea, para carregamento de vasos condutores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gene *Os01g65670* apresentou expressão, aproximadamente, 40 vezes maior nas panículas das plantas da variedade Revenda quando comparadas as plantas da variedade Bico-ganga aos 15 dias depois da antese (**Figura 1**). Os resultados observados para *Os01g65670* corroboram os encontrados por Lu et al. (2012), que verificaram padrões de expressão específicos para esse gene em endosperma de sementes de arroz e sugeriram uma importante participação desse gene na aquisição de aminoácidos por sementes em desenvolvimento. Zhao et al. (2012) também observaram alta expressão de *Os01g65670* em sementes em estágios iniciais de desenvolvimento e indicaram que esse gene pode ter um papel crítico para o transporte de nutrientes durante o enchimento dos grãos.

Sanders et al. (2009) demonstraram que um transportador de aminoácido nomeado AtAAP1 media a absorção de aminoácidos pelo embrião e apresenta grande importância para a síntese de proteínas de reserva e produção de sementes. O fato da expressão de *Os01g65670* ter alcançado o maior pico no período após a antese nas panículas (**Figura 1**) pode indicar que esse gene está associado a funções de transporte de aminoácidos para os grãos de arroz.

A maior expressão de *Os01g65670* em plantas da variedade Revenda pode estar associada a sua maior eficiência em remobilização de N para os grãos já observada em trabalhos anteriores quando comparada à variedade Bico-ganga em condições de baixa suplementação nitrogenada (Coelho, 2010). Estes resultados contribuem para a confirmação de mecanismos de adaptação dessa variedade de arroz às condições de cultivo com baixa disponibilidade de nutrientes e flush sazonal de N.

Houve maior expressão do gene *Os07g04180* nas folhas bandeira antes e depois da antese na variedade Bico-ganga (**Figura 1**). Zhao et al. (2012) observaram baixa expressão do gene *Os07g04180*

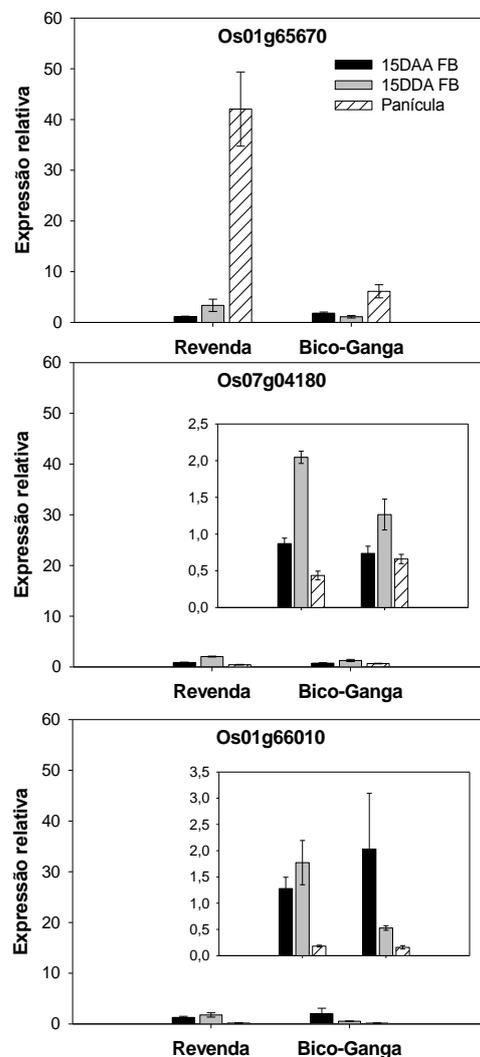


Figura 1. Expressão dos genes *Os01g65670*, *Os07g04180* e *Os01g66010* em folhas bandeira (FB) e panículas de plantas de arroz das variedades Revenda e Bico-Ganga nas coletas realizadas aos 15 dias antes da antese (15DAA) e aos 15 dias depois da antese (15DDA).

Os resultados obtidos sugerem a provável participação dos genes Os01g65670, Os07g04180 e Os01g66010 no transporte de aminoácidos para os grãos em desenvolvimento. No entanto, para verificar a importância dessa atividade de transporte na remobilização de N e formação de proteínas de reserva em grãos de arroz são necessários estudos futuros com mutantes para caracterização funcional desses genes.

CONCLUSÕES

Os01g65670 parece estar mais associado a transporte de aminoácidos para os grãos em desenvolvimento em plantas de arroz enquanto os genes Os07g04180 e Os01g66010 parecem estar mais associados a transporte de aminoácidos a partir de órgãos fonte.

A variedade Revenda apresentou maior expressão do gene Os01g65670 em sementes em desenvolvimento, o que corrobora com a maior Eficiência de Remobilização de N apresentada por essa variedade em trabalhos anteriores

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ e ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo – CPGA-CS.

REFERÊNCIAS

- COELHO, C.P. Remobilização de Nitrogênio em Variedades de Arroz com e sem Suplementação Nitrogenada. 2011. 69f. Dissertação de Mestrado. (Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Ciência do Solo) - Instituto de Agronomia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.
- GAO, J.W.; LIU, J.Z.; LI, B. AND LI, Z.S. Isolation and purification of functional total RNA from blue-grained wheat endosperm tissues containing high levels of starches and flavonoids. *Plant. Mol. Biol. Rep.*, 19:185-185, 2001.
- GRECO, R.; OUWERKERK, P.B.F.; KAM, R.J.; SALLAUDE, C.; FAVALLI, C.; COLOMBO, L.; GUIDERDONE, E.; MEIJER, A.H.; HOGE†, J.H.C.; PEREIRA, A. Transpositional behaviour of an Ac/Ds system for reverse genetics in Rice. *Theor Appl Genet.*, 108: 10–24, 2003.
- LU, Y.; SONG, Z.; LU, K.; LIAN, X.; CAI, H. Molecular Characterization, Expression and Functional Analysis Of The Amino Acid Transporter Gene Family (*Osaats*) In Rice. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(5):1943-1962, 2012.
- SANDERS, A.; COLLIER, R.; TRETHERY, A.; GOULD, G.; SIEK, R.; TEGEDER, M. AAP1 regulates import of amino acids into developing Arabidopsis embryos. *The Plant Journal*, 59:540–552, 2009.
- ZHAO, H.; MA, H.; YU, L.; WANG, X.; ZHAO, J. Genome-wide survey and expression analysis of amino acid transporter gene family in rice (*Oryza sativa L.*). *PLoS ONE*, 7:11, 2012.