

RESUMO - CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA

**OBTENÇÃO DE CONSTRUÇÃO GENÉTICA PARA LOCALIZAÇÃO DAS
REGIÕES DE EXPRESSÃO DO GENE OSDREB1C EM PLANTAS DE
ARROZ (ORYZA SATIVA L.)**

Dandara Verissimo Soprani (dandara.vs2002@gmail.com)

Maria Eduarda Pimentel De Melo (mariaeduardaufrrj@yahoo.com)

Erinaldo Gomes Pereira (erinaldomn@yahoo.com.br)

Leandro Azevedo Santos (azevedo@ufrrj.br)

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um cereal da família Poaceae cultivado e consumido globalmente, com potencial para reduzir o quadro de insegurança alimentar devido ao seu alto valor nutricional, sendo um dos principais produtos agrícolas no Brasil. A produção dessa cultura pode ser realizada em diferentes tipos de sistema, sendo o cultivo em sequeiro importante num cenário de escassez de recursos hídricos. No entanto, com o aumento da intensidade das mudanças climáticas, mesmo a produção em sequeiro tem apresentado problemas com a produtividade, gerando riscos para a segurança alimentar em todo o mundo. A seleção de genótipos tolerantes à seca e o uso de ferramentas da biologia molecular, que busca identificar e caracterizar genes potencialmente envolvidos com o aumento dessa tolerância, são estratégias importantes para enfrentar esses desafios. Dessa forma, o trabalho teve por objetivo desenvolver uma construção genética, usando a tecnologia Gateway (Invitrogen™), para identificar em arroz, os locais de expressão do gene OsDREB1C, por meio da fusão de sua região promotora a proteínas repórteres

GFP e GUS. A ferramenta Gateway se dá como um método de recombinação que transfere fragmentos de DNA entre vetores de clonagem, preservando a sequência de leitura e sem gerar alterações nos nucleotídeos. Para tanto, primeiro foi feita, através de duas rodadas subsequentes de PCR, a amplificação de um segmento de 1.738bp da região promotora do gene upstream ao códon de início da tradução, contendo sítios de recombinação attB1 e attB2. O fragmento resultante foi purificado e clonado no vetor de entrada pDONR221, por meio da reação de recombinação BP. Após multiplicação em *E. coli* o plasmídeo resultante pENTR-POsDEB1C foi extraído e purificado. Em seguida, foi realizada uma reação de recombinação LR, agora entre o plasmídeo pENTR-POsDEB1C e o vetor de destino pHGWFS7. Assim, obteve-se a construção final contendo a região promotora do gene fusionada a duas proteínas repórteres, GUS e GFP. A integridade do vetor final resultante POsDEB1C:GFP:GUS foi confirmada por meio de análise com enzimas de restrição e sequenciamento. O plasmídeo contendo a construção foi posteriormente introduzido via choque térmico em *A. tumefaciens* para uso na transformação genética de plantas de arroz da variedade Nipponbare. Essa planta modificada permitirá detectar precisamente os locais na planta onde o gene OsDREB1C é expresso, bem como quantificar os níveis de expressão em diferentes situações e estádios de desenvolvimento. O uso de proteínas repórteres representa uma ferramenta valiosa para a visualização e análise detalhada da atividade transcricional associada a regiões regulatórias de genes de interesse, auxiliando na sua caracterização funcional.

Instituições financiadoras: UFRRJ, PPGA-CS, CAPES, Faperj

Palavras-chave: biologia molecular; estresse hídrico; genética.