

Caracterização fenotípica de mutantes de arroz Osaap1 e Osaap18

Erinaldo Gomes Pereira ¹; Cassia Pereira Coelho ²; Sônia Regina de Souza ³ & Manlio Silvestre Fernandes ⁴

1. Acadêmico de Agronomia; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ; BR465, km7, Campus da UFRRJ, 23897-000, Seropédica – RJ, erinaldominas@hotmail.com; 2. Estudante de pós-doutorado do Curso de Pós-Graduação em Agronomia-Ciência do Solo; UFRRJ; Seropédica, Rio de Janeiro; 3. Professora Associada IV, Departamento de Química; 4. Professor Emérito; UFRRJ

Palavras-chave: EUN, transportadores, Oryza sativa.

Introdução

Grande parte da Eficiência de Uso de Nitrogênio (EUN) é ligada à Eficiência de remobilização de N (ERN) dos cultivos no período reprodutivo da cultura, levando o estudo de genes que codificam para proteínas envolvidas na remobilização de N durante o período de enchimento dos grãos, em especial os transportadores de aminoácidos, que são a principal forma de remobilização de N orgânico nas plantas no período de enchimento de grãos, a ser de extrema relevância.

Em análises prévias foi verificado que o gene de arroz Os06g36210 (OsAAP18) pode estar associado a funções de transporte de aminoácidos para os grãos em plantas de arroz durante o período reprodutivo. A caracterização fenotípica de plantas mutantes para esse gene (Osaap18) pode ajudar a entender os mecanismos envolvidos na remobilização de N na forma de aminoácidos em plantas de arroz e contribuir para futuros estudos visando o aumento da EUN por plantas e produção de grãos com maiores teores de proteína.

O objetivo desse trabalho foi fazer a caracterização fenotípica de mutantes de arroz silenciando os genes OsAAP18 (LOC_Os06g36210) e OsAAP1 (LOC_Os07g04180).

Metodologia

Plantas das linhagens 4A-00262, 3A-00581 e tipo silvestre foram germinadas em água em câmara de crescimento. Após germinação as plantas foram transferidas para potes (com capacidade de 700ml) com solução nutritiva de Hoagland & Arnon modificada contendo 2mM de N a ¼ de FI e após três dias para a solução na mesma concentração a ½ FI. As plantas permaneceram nos potes por quatro semanas para a realização do teste de higromicina para confirmação da mutação e separação das plantas a serem utilizadas no experimento. Após confirmação pelo teste de higromicina foram separadas plantas da linhagem mutantes e tipo silvestre para implantação do experimento.

As plantas foram transferidas para vasos com capacidade de 10 litros contendo solução nutritiva de Hoagland & Arnon modificada com 2mM de N (1mM de nitrato e 1mM de amônio). As plantas permaneceram nessa solução até o período da antese. O pH da solução foi corrigido a cada 3 dias e trocada a cada 7 dias. Após a antese as plantas foram transferidas para solução de Hoagland & Arnon modificada com 0,2mM (0,1mM de nitrato e 0,1mM de amônio), onde permaneceram até o final do ciclo.

Para a caracterização fenotípica das plantas mutantes e tipo silvestre foram analisados os seguintes parâmetros agrônômicos: produção de massa, comprimento do ciclo, época de florescimento, comprimento do colmo, comprimento da panícula, número de panículas por perfilho, número de espiguetas por panícula, taxa de enchimento de grãos (%), número de grãos cheios e chochos, peso total do grão (g) e peso de 100 grãos (g).

Os resultados das linhagens independentes foram analisados separadamente e comparados com suas respectivas plantas controle (wild type) por análise de variância utilizando o programa Assistat. Os efeitos das variáveis foram verificados pelo teste F (5% de probabilidade). Quando houve diferenças significativas reveladas pela ANOVA, as médias dos tratamentos foram separadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

As diferenças no número de altura de perfilhos verificadas entre as plantas não influenciaram a produção de massa seca uma vez que não foram verificadas diferenças significativas entre as linhagens e plantas tipo silvestre para esse parâmetro. As plantas tipo selvagem apresentaram maior altura quando comparadas com as plantas mutantes 3A-00581, porém um menor número de perfilhos e de panículas (Tabela 1). Este maior número de perfilhos e panículas apresentado pelas plantas mutantes 3A-00581 não refletiu em maior produtividade, uma vez que apesar da grande produção em números totais de grãos dessas plantas cerca de 86% deste apresentaram-se chochos, indicando problemas no enchimento dos grãos, o que pode ser resultado de problemas no transporte de aminoácidos tanto no período de formação do endosperma quando no período de formação do embrião, o que nesse caso levaria à formação de grãos estéreis.

Tabela1 - Produção de massa fresca (M.F), panículas (Pan.), perfilhos (Perf.) e altura das plantas (A.P)

Parâmetros	WT	4A-00262	3A-00581
M.F (g/vaso)	188 a	161 a	159 a
A.P (cm)	54 ab	55 ab	35 a
Pan.(un)	16 a	14 a	22 ab
Perf.(un)	17 a	15 a	31 ab

As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

O menor número de grãos das plantas 3A-00581 também foi acompanhado de menor produção em termos de massa de grãos.

A menor produção apresentada pelas plantas 3A00581 está de acordo com os resultados observados por Schmidt et al. (2007), que verificaram que linhagens *ataap8* apresentaram um menor tamanho total das silículas que plantas tipo silvestre e que o total de possíveis sementes (sementes contáveis + sementes abortadas) foi reduzido em cerca de 50%, sendo esse fenótipo visíveis nas duas diferentes linhagens mutantes utilizadas no experimento.

Não foram observadas modificações fenotípicas marcantes ou redução da produção para as plantas LOC_4A00581.

Os resultados evidenciam que o gene LOC_Os06g36210 está envolvido no processo de remobilização de N para os grãos e o seu silenciamento afeta a produtividade.

Conclusão

Os resultados obtidos sugerem a provável participação de OsAAP18 no transporte de aminoácidos para os grãos em desenvolvimento, e que esse gene afeta a produção de grãos e a remobilização de N para os grãos.

Não foi possível afirmar a participação de OsAAP1 no processo de remobilização de N para os grãos em arroz com os dados observados, sendo necessárias mais análises.

Referências Bibliográficas

ARNOLD, S.L.; SCHEPERS, J.S. A simple roller-mill grinding procedure for plant and soil samples. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 35: 537-545, 2004.

Assistat 7.7 beta.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soils.

SCHMIDT, R.; STRANSKY, H. and KOCH, W. The amino acid permease AAP8 is important for early seed development in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*. 226:805-813, 2007.