

# EXPRESSÃO GÊNICA RELACIONADA COM A TOLERÂNCIA À SUBMERSÃO DURANTE O ESTABELECIMENTO DO ARROZ VERMELHO

Carlos Alberto Gonsiorkiewicz Rigon<sup>1</sup>; Tiago Edu Kaspar<sup>2</sup>; Luan Cutti<sup>1</sup>; Catarine Markus<sup>2</sup>; Gabriele Casarotto<sup>2</sup>, Aldo Merotto Junior<sup>3</sup>

Palavras-chave: *Oryza sativa* L.; ADH2; Lâmina de água;

## INTRODUÇÃO

O arroz vermelho (*Oryza sativa* L.) é a principal planta daninha do arroz cultivado devido a sua proximidade ecológica, elevada adaptabilidade a diferentes práticas agronômicas, emergência vigorosa e desenvolvimento sincronizado com a cultura, que resultam na dificuldade de seu controle. As perdas médias de rendimento de grãos em função da presença de arroz vermelho ficam em torno de 20% e, em áreas com altas infestações caso não seja realizado o controle adequado as perdas podem chegar a 90% (AVILA et al., 2000). A inundação continua da área é a prática mais eficiente no controle desta planta daninha, em especial nos sistemas de cultivo de transplante e sementes pré-germinadas. No sul do Brasil, onde o sistema pré-germinado é amplamente utilizado, o uso contínuo da lâmina de água resultou recentemente na evolução de genótipos de arroz vermelho com capacidade de tolerar o alagamento no seu estabelecimento. Esses genótipos são capazes de germinar e emergir em condições de inundação, com baixa disponibilidade ou ausência de oxigênio.

O potencial de estabelecimento do arroz sob estas condições pode ser relacionado com a capacidade diferencial na obtenção de energia (ATP) via rotas anaeróbicas. Alguns genes são induzidos a partir da baixa disponibilidade de oxigênio e atrelados a tolerância ao alagamento, dentre estes destaca-se a família das álcool desidrogenases (ADH) (LASANTHI-KUDAHETTIGE et al., 2007). A enzima ADH auxilia no metabolismo do açúcar, atuando na manutenção da glicólise via fermentação alcoólica durante a germinação e emergência (TAKAHASHI et al. 2014). A maior expressão de ADH foi observada em cultivares asiáticas de arroz tolerantes ao alagamento durante o estabelecimento (ISMAIL et al., 2009). Recentemente o gene ADH2 foi caracterizado como também importante para a tolerância de arroz cultivado ao alagamento, sendo que sua participação na tolerância a este estresse em arroz vermelho não é conhecida. O objetivo desse trabalho é caracterizar a importância do gene *ADH2* sob condição de submersão em arroz vermelho através da análise da expressão gênica.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em ambiente climatizado, com temperatura mantida constante em 25°C, na Faculdade de Agronomia da UFRGS, em Porto Alegre, RS, no período de dezembro de 2015 a janeiro de 2016. O delineamento experimental foi completamente casualizado, em arranjo fatorial 3x2, sendo o fator A os genótipos de arroz (cultivar IRGA 417 e os ecótipos de arroz vermelho ITJ03 e AV04) e o fator B: condição de solo úmido e submerso (10cm de lâmina de água). A cultivar IRGA 417 no período zero e condição de

<sup>1</sup> Eng. Agrônomo, Mestrando PPG Fitotecnia, UFRGS, Porto Alegre, RS. Email: ca\_rigon@hotmail.com

<sup>2</sup> Eng. Agrônomo, Doutorando PPG Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Porto Alegre

<sup>3</sup>Eng. Agrônomo, Professor do Departamento de Plantas de Lavoura e do PPG Fitotecnia, Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre.

solo úmido foi considerada a testemunha. A lâmina de água de 10cm foi determinada em experimento anteriores, sendo esta a que melhor discriminava genótipos de arroz vermelho capazes de tolerar a submersão durante seu estabelecimento. Foram utilizadas 3 repetições para cada tratamento, sendo que cada repetição consistiu de 18 sementes descascadas, totalizando 54 sementes de cada genótipo por tratamento. Em trabalho prévio os ecótipos ITJ03 e AV04 foram caracterizados como tolerante e mediamente tolerante ao alagamento durante seu estabelecimento, respectivamente (KASPARY, *et al.*, 2015). A quebra de dormência foi realizada através da incubação das sementes por 5 dias a temperatura de 50 °C. Após, as sementes foram semeadas na profundidade de 0,5cm em vasos solo. Essas embalagens estavam acondicionadas em caixas plásticas com 20cm de altura, sendo possível assim, a formação de 10cm de lâmina de água sobre o solo para os tratamentos de submersão. A concentração de oxigênio a 0,5cm de profundidade no solo submerso foi aferida diariamente, e após o segundo dia se manteve em torno de 0,5mg L<sup>-1</sup>. A coleta de tecido para extração de RNA foi realizada aos 0, ½, 1, 2, 4, 8, 16 e 24 dias após a semeadura (DAS). O material coletado compreendeu o embrião e suas proximidades, totalizando 0,1 g por repetição. A extração do RNA foi realizada pelo protocolo Concert. A expressão gênica foi determinada utilizando a técnica RT-qPCR. A quantificação relativa foi realizada pelo ajuste das curvas pela análise da eficiência da PCR através do software LinRegPCR. O gene 18S (RNA ribossomal) foi utilizado como normalizador nos cálculos de expressão relativa.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A expressão relativa do gene *ADH2* avaliado em oito períodos após a semeadura (DAS) demonstrou interação significativa ( $p < 0,05$ ) para as condições de submersão e genótipos de arroz (Figura 1). O genótipo de arroz cultivado IRGA 417 não apresentou variação na expressão relativa do gene *ADH2* em todos os períodos avaliados na condição de solo saturado, quando comparado a testemunha no período zero dias e condição de solo saturada (Figura 1A). Contudo, este mesmo genótipo apresentou elevação da expressão relativa na condição de submersão nos períodos de ½ e 1 dia, sendo 12,1 e 7,4 vezes superior a testemunha. Esses resultados corroboram com os relatados para essa cultivar e genes *ADH1* e *RAMY3D* (*Rice alpha-amylase 3D*), que também estão atrelados a tolerância a submersão durante o estabelecimento e não tiveram significativo incremento na expressão na avaliação de dois dias após a semeadura sob condição de submersão (KASPARY *et al.*, 2016). A cultivar IRGA 417 foi considerada como de baixa tolerância à submersão durante o estabelecimento, apresentando 16,67% e 0,00% de emergência quando submetida a 5 e 10cm de lâmina de água, respectivamente. (KASPARY, *et al.*, 2015).

O genótipo de arroz vermelho ITJ03 demonstrou pequena elevação na expressão relativa do gene *ADH2* na condição de solo saturado, em todos os períodos avaliados, em comparação com a testemunha (Figura 1B). No entanto, sob condição de alagamento, o gene *ADH2* teve sua expressão estimulada pela baixa disponibilidade de oxigênio, com elevação da expressão já na avaliação de ½ dia após a semeadura, com valor de 20,5 vezes superior a testemunha. Nos períodos de 1, 2 e 4 dias após a semeadura, sob condição de submersão foram observados para o ITJ03 os maiores valores de expressão relativa do gene *ADH2*, sendo 63,2; 57,4 e 29,1 vezes superior a testemunha, respectivamente. Entretanto, sob alagamento a expressão relativa desse gene se manteve elevada, acima de 15 vezes na comparação à testemunha, até os últimos períodos de avaliação, 8, 16 e 24 DAS (Figura 1B). O genótipo ITJ03 é caracterizado como tolerante ao alagamento durante o estabelecimento e também apresenta elevação na expressão relativa de outros dois genes envolvidos na resposta ao estresse por alagamento, o *RAMY3D* e

*ADH1* (KASPARY, et al., 2016). Esses genes codificam enzimas responsáveis pelo aumento na mobilização de reservas e manutenção da respiração anaeróbica, atuando concomitantemente na resposta a baixa disponibilidade de oxigênio (ISMAIL, et al., 2009; TAKAHASHI et al., 2014). Da mesma forma que *ADH1*, o gene *ADH2* atua na manutenção da respiração anaeróbica e mostra-se responsivo ao alagamento. Portanto, o genótipo ITJ03 pode apresentar a atuação elevada e conjunta desses três genes, permitindo superior capacidade de tolerar a submersão durante seu estabelecimento.

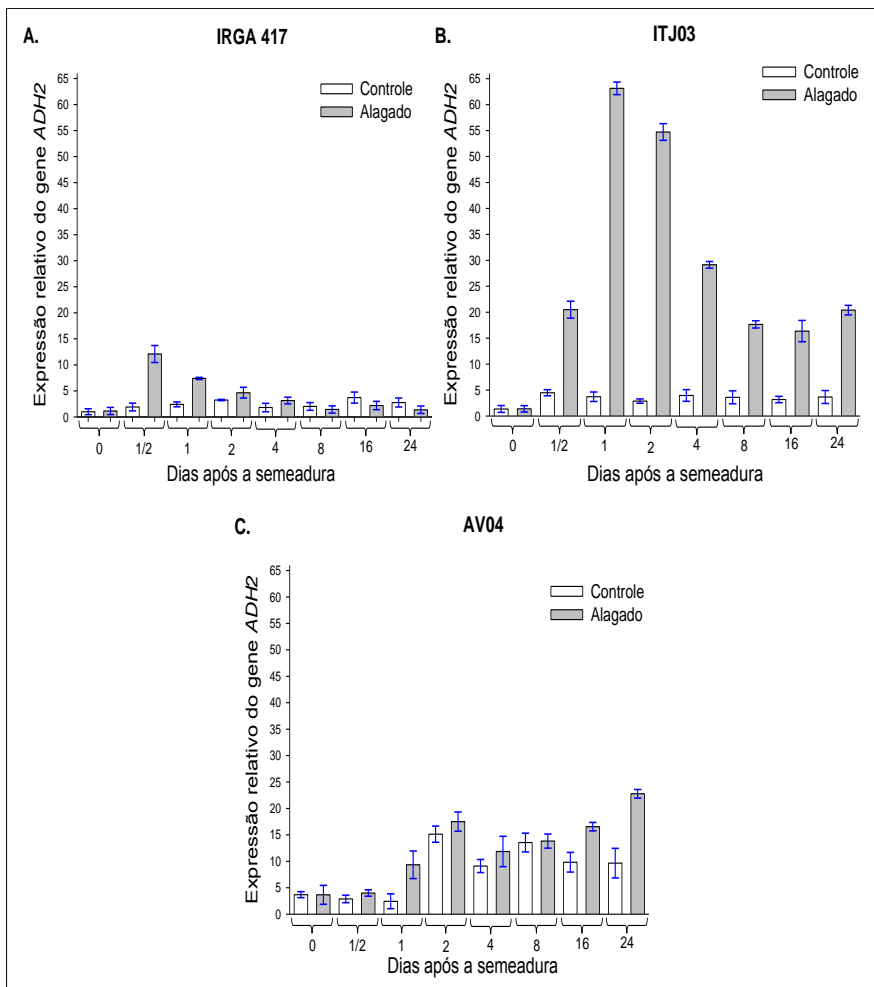


FIGURA 1. Expressão relativa do gene *ADH2* em genótipos de arroz (*Oryza sativa* L.), sensível – cultivar IRGA 417 (A); tolerante – arroz vermelho ITJ03 (B); e medianamente tolerante – arroz vermelho AV04 (C) nas situações de solo alagado (lâmina de 10 cm) e úmido (controle) nos períodos de 0, ½, 1, 2, 4, 8, 16 e 24 dias após a semeadura. Barras verticais indicam o intervalo de confiança ( $\alpha=0,05$ ).

A avaliação de expressão relativa do gene *ADH2* realizada para o genótipo de arroz vermelho AV04 revelou sua maior expressão já no tempo zero dias, bem como em todos os períodos avaliados na condição sem alagamento em comparação aos genótipos IRGA 417 e ITJ03, nesta condição (Figura 1C). Na condição de alagamento a expressão de *ADH2* foi estimulada no genótipo AV04, mas foi significativamente superior apenas nos períodos de 1, 16 e 24 DAS, na comparação com o mesmo genótipo semeado em solo saturado. Enquanto que para os períodos de ½, 2, 4 e 8 DAS a maior expressão de *ADH2* no genótipo AV04 se mostrou equivalente para ambas as condições, solo saturado e alagado. Deste modo, o efeito do alagamento foi variável entres os períodos avaliados e o genótipo AV04 apresenta maior expressão do gene *ADH2* independente do alagamento quando comparado aos demais genótipos. A tolerância intermediária atrelada a esse genótipo pode ser resultado de de outro mecanismos atuando de forma isolada ou complementar à maior expressão relativa de *ADH2*.

O comportamento dos três genótipos avaliados quanto a expressão relativa de *ADH2* foi distinto. O superior acúmulo de transcritos de *ADH2* observado no genótipo de arroz vermelho ITJ03 quando comparado aos demais genótipos, infere para a participação desse gene na resposta ao alagamento durante seu estabelecimento. Os níveis de expressão relativa de *ADH2* para os três genótipos avaliados, de forma geral, corroboram com a classificação de tolerância ao alagamento durante o estabelecimento relatados para IRGA417, ITJ03 e AV04 (KASPARY, et al., 2015).

## CONCLUSÃO

A expressão relativa diferencial do gene *ADH2* durante a germinação e emergência do arroz vermelho indica sua participação na tolerância à submersão do ecótipo ITJ03.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVILA, L. A. D. *et al.* Banco de sementes de arroz vermelho em sistemas de semeadura de arroz irrigado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, p. 773-777, 2000a. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782000000500005](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782000000500005). Acesso em: 06 Mai. 2017.
- ISMAIL A. M. *et al.* Mechanisms associated with tolerance to flooding during germination and early seedling growth in rice (*Oryza sativa*). **Annals of Botany**, v.103, p.197-209, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2707318/pdf/mcn211.pdf>> Acesso em: 06 Mai. 2017.
- KASPARY, T. E. *et al.* Expressão de genes relacionados com tolerância a submersão durante o estabelecimento do arroz vermelho. **Anais..XXX Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas**, Curitiba-Brasil, 2016. Disponível em: <[http://cbcpd2016.com.br/anais/index.php?secao=trabalhos&acao=view&id\\_trabalho=324](http://cbcpd2016.com.br/anais/index.php?secao=trabalhos&acao=view&id_trabalho=324)>. Acesso em: 17 Mai. 2017.
- KASPARY, T. E. *et al.* Determinação de método diagnóstico para tolerância de arroz vermelho à submersão. **Anais..IX Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado**, Pelotas – Brasil, 2015. Disponível em:<[http://www.cbai2015.com.br/anais/index.php?secao=trabalhos&acao=view&id\\_trabalho=285](http://www.cbai2015.com.br/anais/index.php?secao=trabalhos&acao=view&id_trabalho=285)>. Acesso em: 06 Mai. 2017.
- LASANTHI-KUDAHETTIGE R. *et al.* Transcript profiling of the anoxic rice coleoptile. **Plant Physiology**, Bethesda v. 144, p. 218-231, 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1913783/> Acesso em: 27 Mai. 2017.
- TAKAHASHI, H., *et al.* Rice alcohol dehydrogenase 1 promotes survival and has a major impact on carbohydrate metabolism in the embryo and endosperm when seeds are germinated in partially oxygenated water. **Ann. Bot.**, v.113, n.1, p.851-859, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3962239/> Acesso em: 27 Mai. 2017.