

Identificação e caracterização de novos factores de transcrição envolvidos na resposta da fotossíntese a condições de seca

O arroz é um dos alimentos básicos mais importantes, fornecendo 30% das calorias consumidas nos países asiáticos. Na Europa, Portugal é, de longe o maior consumidor de arroz, com mais de 15 kg / habitante / ano. Nas zonas de sequeiro, que ocupam cerca de um terço da área mundial da cultura do arroz, a seca é o principal factor ambiental responsável por perdas de produtividade da ordem de 13-35%. A seca afecta diferentes mecanismos associados às respostas da planta ao stress, e a fotossíntese está entre os mais afectados. A nossa revisão bibliográfica (saibo et al., 2009) revelou que, embora a expressão de vários genes envolvidos no metabolismo fotossintético e afins [e.g. *Rubisco Activase (RAC)*, *sedoheptulose bisfosfatase (SBPase)* e *ATP sintase do cloroplasto (cATP sintase)*] seja regulada pelo stress hídrico, pouco se sabe sobre os factores de transcrição (FT) associados. Os FT são conhecidos por controlar vários genes da mesma via metabólica e têm claramente um papel importante no controlo dos genes relacionados com a fotossíntese em resposta ao stress hídrico. Assim, para compreender melhor as respostas fotossintéticas à seca, em particular a regulação da transcrição dos genes associados, este projecto tem como principais objectivos identificar e fazer uma caracterização preliminar da função de FT de arroz envolvidos nessa resposta. Para atingir estes objectivos, as tarefas do projecto são os seguintes:

- 1 - Analisar os níveis de expressão de dois genes relacionados com a fotossíntese em diferentes cultivares de arroz sujeitas à seca progressiva e recuperação
- 2 – Construir uma biblioteca de cDNA de expressão a partir de uma variedade de arroz tolerante à seca.
- 3 - Identificar factores de transcrição que se ligam ao promotor de um gene (seleccionado a partir do estudo de expressão) relacionados com a fotossíntese;
- 4 - Analisar a expressão génica dos FT identificados e, se possível, analisar a sua actividade transcricional.

Inicialmente, vamos implementar o ensaio de seca e analisar como é que as plantas de arroz (tolerantes vs sensíveis) respondem ao stress hídrico progressivo seguido de recuperação. O estudo de expressão de genes *RAC* e *SBPase* em resposta à seca vai permitir seleccionar um destes genes (aquele que apresentar os níveis de expressão mais contrastantes) para identificar os respectivos FT. Esses genes foram escolhidos por serem altamente regulados pela seca e por codificarem enzimas-chave do ciclo de Calvin. O estudo de expressão vai permitir seleccionar os melhores tempos para construir a biblioteca de expressão de cDNA, a qual será utilizada para, através de um sistema Yeast one Hybrid, identificar FT que se ligam

aos promotores do gene seleccionado. Com essa abordagem, esperamos identificar 5 a 10 FT associados com as respostas fotossintéticas à seca / recuperação. Após a identificação dos FT, vamos avaliar a sua expressão génica em resposta à secura e ABA. Se possível dentro do período do mestrado, iremos também analisar a actividade transcricional de cada FT.

Este projecto vai permitir identificar vários FT que ligam a seca / recuperação às respostas fotossintéticas, contribuir para a caracterização funcional dos novos FT e ajudar a compreender melhor os mecanismos moleculares subjacentes ao metabolismo fotossintético e respostas relacionadas ao stress abiótico.

Bibliografia

Saibo, N.J., Lourenco, T., and Oliveira, M.M. (2009). Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses. *Annals of Botany*. 103, 609-623.

Técnicas que serão utilizadas no âmbito deste projecto:

- Extracção de RNA total, purificação de RNA mensageiro, estudo de expressão por Real time PCR, síntese de cDNA (primeira e segunda cadeia) e construção de biblioteca de expressão cDNA (inclui clonagem em vector fágico), clonagem de fragmentos de DNA em plasmideo, "Yeast one Hybrid screening", amplificação de DNA por PCR, transformação de bactérias e leveduras, preparação e transformação de protoplastos de *Arabidopsis*, etc

Duração: 9 meses.

Local de realização: Laboratório de Genómica de Plantas em Stress, Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Oeiras

Número de estagiários: 1

Critério de selecção: avaliação do cv e entrevista

Orientador: Nelson Saibo,

Email: saibo@itqb.unl.pt

Tel: 214469644