

050

IDENTIFICAÇÃO DO CDNA CODIFICANTE DE UMA PROTEÍNA QUINASE DE ARROZ INDUZIDA NA RESPOSTA A MAGNAPORTHE GRISEA ATRAVÉS DA LOCALIZAÇÃO IN VIVO PELA FUSÃO COM A GFP. Elisângela Aquino de Souza, Ricardo Gargaro de Souza, Caren

Cavichioli Lamb, Marcelo Gravina de Moraes (orient.) (UFRGS).

Plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) apresentam expressão diferencial de genes em resposta à infecção por *Magnaporthe* grisea. O objetivo deste estudo foi caracterizar a localização subcelular de proteínas relacionados à resistência através da fusão de cDNAs codificantes de arroz ao gene da proteína verde fluorescente (GFP). Os cDNAs foram obtidos a partir de uma biblioteca supressiva subtrativa de genes de arroz durante uma interação incompatível com o fungo *M. grisea*. Estes cDNAs foram fusionados a uma versão intensificada da proteína GFP (EGFP) e a localização foi detectada por “screening” de folhas de *A. thaliana*. Foi feita uma transformação de *A. thaliana* em estágios iniciais de florescimento, com inóculo contendo células transformadas de *A. tumefaciens*. As sementes T1 foram plantadas e as folhas analisadas através de visualização por microscopia de epifluorescência para identificar estruturas celulares contendo níveis detectáveis da fusão de egfp:cDNA. Plantas expressando GFP com localização distinta do controle (somente com EGFP) tiveram o DNA extraído. O fragmento do T-DNA inserido foi amplificado e o cDNA fusionado foi identificado por seqüenciamento. Após análise, uma planta transformada com a fusão egfp:cDNA apresentou localização diferenciada da fluorescência, que se acumulou próximo à membrana plasmática e à parede celular. Após seqüenciamento do cDNA fusionado, foi verificado que esta planta foi transformada com um cDNA codificante de uma quinase. Estas enzimas são envolvidas na transdução de sinais em resposta à infecção por patógenos através da percepção de estímulos extracelulares por receptores localizados na membrana plasmática. Estudos complementares determinarão se a quinase identificada possui papel na defesa do arroz à infecção por *M. grisea*. O presente estudo revelou o potencial da análise de fusão de cDNAs e expressão in vivo para o descobrimento de genes envolvidos na defesa das plantas à infecção por patógenos.