

OBTENÇÃO DE LINHAGENS TRANSGÊNICAS DE ARROZ IRRIGADO RESISTENTES AO GORGULHO-AQUÁTICO ATRAVÉS DA ENGENHARIA GENÉTICA

Ariano Martins de Magalhães Jr.⁽¹⁾, José Francisco da Silva Martins⁽¹⁾, Paulo Ricardo Reis Fagundes⁽¹⁾, Daniel Fernandes Franco⁽¹⁾, Rogério Margis⁽²⁾, Márcia Margis⁽²⁾, Uemerson Silva da Cunha⁽³⁾, Márcio Pacheco da Silva⁽³⁾. 1. Embrapa Clima Temperado. Cx. Postal 403, Cep.: 96001-970, Pelotas-RS, E-mail: ariano@cpact.embrapa.br 2. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cep.: 21944-970, Rio de Janeiro- RJ. 3. Estudante de Mestrado. UFPel-FAEM. Cx. Postal 354, Cep.: 96001-970, Pelotas-RS.

Nos últimos anos importantes aumentos ocorreram na produção de arroz irrigado, devido principalmente, à adoção, em larga escala, de cultivares semi-anãs de alto rendimento e de tecnologias melhoradas (Magalhães Jr. et al., 1999). A produção mundial de arroz duplicou de 257 milhões de toneladas, em 1965, para 520 milhões, em 1990. No entanto, o incremento da produção de arroz está diminuindo (Khush, 1997). A crescente demanda por arroz deverá ser atendida com menor área, menos água, menor quantidade de mão-de-obra e menos pesticidas. Desse modo, para lograr os objetivos de aumento da produção de arroz, é preciso cultivares de arroz com potencial de rendimento mais elevado e melhores práticas de manejo.

O avanço da biotecnologia vegetal permite que a engenharia genética seja efetivamente utilizada como ferramenta auxiliar do melhoramento genético de plantas (Dode et al., 1999), viabilizando a obtenção de plantas transgênicas. A transformação oferece vantagens sobre outras técnicas de manipulação gênica por permitir o melhoramento direto de plantas com um mínimo rompimento da integridade genética de genomas já selecionados (Manders *et al.*, 1992). A transformação genética de espécies vegetais agronomicamente importantes, como arroz, poderá diminuir o tempo necessário para introduzir características desejáveis como, por exemplo, resistência à insetos, em programas de melhoramento clássico. Para tanto, deve-se adaptar às espécies e variedades vegetais de interesse o melhor método de transformação. Isto pode ser obtido através de testes com *Agrobacterium* ou através dos métodos de introdução direta de DNA (biobalística ou eletroporação).

A natureza física do bombardeamento com microprojéteis e a eletroporação pode, potencialmente, superar muitas das barreiras biológicas associadas com outros métodos de transformação, tais como a especificidade de *Agrobacterium* ao hospedeiro, ou a necessidade de regeneração de plantas completas a partir de protoplastos. Na verdade, a introdução direta de DNA, via biobalística, em tecido morfogênico e organizado, tal como sementes, embriões ou meristemas, tem permitido o sucesso na transformação de numerosas espécies de plantas incluindo soja, trigo, arroz e milho, demonstrando o enorme potencial deste método (Fisk & Dandekar, 1993; Songstad *et al.*, 1995). No entanto, uma série de fatores são importantes para adequação deste método, tais como parâmetros físicos e químicos a serem calibrados.

A Embrapa Clima Temperado vislumbrando o enorme potencial da engenharia genética procurou parcerias no sentido de viabilizar a transformação genética de alguns de seus genótipos do programa de melhoramento genético. Neste sentido, busca em cooperação com a Universidade do Rio de Janeiro (UFRJ) transformação genética de arroz visando resistência ao gorgulho-aquático *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). Neste sentido, a cultivar BRS 7 "Taim" foi transformada pelo método de eletroporação no Laboratório de Genética Molecular Vegetal (LGMV), do Departamento de Genética, Instituto de Biologia, Centro de Ciências da Saúde, da UFRJ. Vários explantes foram utilizados no desenvolvimento do protocolo, sendo que resultados mais efetivos foram obtidos com ápices meristemáticos de sementes recém germinadas.

Os genes utilizados neste trabalho, visando obtenção de resistência ao inseto, foram obtidos nos laboratórios da UFRJ (*OcII*) ou cedidos, com a permissão do autor. Este é o caso, por exemplo, do gene codificando a lectina de Urtiga (*UDAI*) que foi gentilmente cedido pela Dra. Natasha Raikhel. Todos os vetores apresentam o gene da β -glucuronidase,

como gene repórter, devido sua simplicidade e versatilidade. Dos vários eventos de transformação realizados foram obtidas, até o momento, nove linhagens: 8.1.2; 8.1.9; 8.1.10; 8.1.11; 8.1.15; 8.1.30; 8.1.33; 8.1.34 e 8.1.35. Estas linhagens foram semeadas em casa de vegetação, sob rígido regime de controle exigido pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), na Estação Experimental de Terras Baixas pertencente a Embrapa Clima Temperado, Capão do Leão, RS. Em tal condição as linhagens foram multiplicadas e avaliadas quanto as suas características agronômicas, priorizando a resistência ao gorgulho-aquático. Assim sendo, foram colocadas caixas de água [0,7 m (altura) x 1,0 m (largura) x 1,2 m (comprimento)], com solo hidromórfico, para semeadura dos genótipos em linhas de 1m espaçadas em 0,15m. Em cada caixa sempre foi adicionada uma fileira de plantas não transformadas da cultivar BRS 7 “Taim”, para servir de padrão de comparação (testemunha). Dez dias após a emergência das plantas, estabeleceu-se uma lâmina de água (destilada) e infestou-se as plantas, de cada caixa, com 80 casais do gorgulho-aquático, distribuídos ao acaso. As caixas foram cobertas com tela protetora. Realizaram-se observações 5 e 12 dias após a infestação para registro das seguintes variáveis: número de folhas/planta; número de folhas com lesões; porcentagem de folhas com lesões, número de lesões e número de lesões/folha.

De acordo com os resultados alcançados até o presente (Tabela 1) e pela tendência das pesquisas conclui-se que a engenharia genética é capaz de auxiliar na busca de material genético de arroz com resistência ao gorgulho-aquático.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DODE, L.B.; PETERS, J.A.; CHRISTOU, P.; MARTIN, C. SMITH, A. Modificação genética na biossíntese do amido através da manipulação de enzimas de ramificação do amido (SBEs). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 1; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 23., 1999, Pelotas. **Anais ...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999. p. 27.
- FISK, H.J. & DANDEKAR, A.M. The introduction and expression of transgenes in plants. **Scientia Horticulture**, 55: 5-36, 1993.
- KHUSH, G.S. Aumento do potencia genético de rendimento do arroz: perspectivas e métodos. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE ARROZ PARA A AMÉRICA LATINA E O CARIBE, 9., 1994, Goiânia. Arroz na América Latina: perspectivas para o incremento da produção e do potencial produtivo. Goiânia: Embrapa-CNPAP, 1995. v1. (Embrapa CNPAP. **Documentos**, 60).
- MAGALHÃES JR. A.M. de; FAGUNDES, P.R.R; FRANCO, D.F.; TERRES, A.L.; SILVA, M.P.; SILVA, G.F.S.; TAVARES, L.F. da S.; LIMA, M. da G.S. Avaliação preliminar da contribuição do perfilho central de distintos genótipos de arroz irrigado em duas densidades de semeadura na produção de grãos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 1 ; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 23., 1999, Pelotas. **Anais ...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999. p. 51-54.
- MANDERS, G.; DAVEY, M.R.; POWER, J.B. New genes for old trees. **J. Exp. Botany**, 43: 1181-1190, 1992.
- SONGSTAD, D.D.; SOMERS, D.A.; GRIESBACH, R.J. Advances in alternative DNA delivery techniques. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** , 40: 1-15. 1995

Tabela 1 - Avaliação dos danos causados pelo gorgulho-aquático *Oryzophagus oryzae* em plantas geneticamente modificadas da cultivar de arroz irrigado BRS 7 “Taim”. Embrapa Clima Temperado. Pelotas, RS. 2001.

GENÓTIPOS	AVALIAÇÃO AOS 5 DIAS					AVAL		
	Nº F/P	Nº FLES	% FLES	Nº LESÕES	Nº LESÕES/F	Nº F/P	Nº FLES	
BRS 7 “TAIM”	4.6	3.4	73.3	19.6	4.3	4.4	4.0	
TAIM 8.1.2	6.4	1.0	16.4	3.0	0.5	5.6	2.2	
TAIM 8.1.9	4.8	0.2	4.0	0.4	0.1	5.2	1.2	
TAIM 8.1.10	5.0	0.8	14.0	2.6	0.5	5.2	1.2	
TAIM 8.1.11	5.4	2.4	47.0	6.0	1.2	5.6	2.4	
TAIM 8.1.15	5.6	2.0	38.6	5.2	1.1	5.4	2.8	
TAIM 8.1.30	4.8	1.8	38.0	5.4	1.1	5.4	2.8	
TAIM 8.1.33	5.0	0.8	16.0	2.0	0.4	6.2	1.4	
TAIM 8.1.34	5.4	1.0	18.0	2.4	0.4	5.4	3.0	
TAIM 8.1.35	5.4	1.2	22.0	2.0	0.4	5.8	2.6	

- Nº F/P: número de folhas por planta; Nº FLES: número de folhas com lesão; % FLES; percentagem de folhas com lesões; Nº LESÕES; número de lesões; Nº LESÕES/F; número de lesões por folha

Apoio financeiro: CNPq