

XVIII

CIC

XI ENPOS
I MOSTRA CIENTÍFICA



Evoluir sem extinguir:
por uma ciência do devir



PARÂMETROS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DE MELÃO TRANSFORMADAS GENETICAMENTE

DANIELOWSKI, Rodrigo¹; POHL, Simone¹; GALLO, Cibele Merched¹; BRAGA,
Eugenia Jacira Bolacel¹; PETERS, José Antonio¹

¹ Dept° de Botânica; Campus Universitário – Caixa Postal 354 CEP 96010-900.
(danielowski@pop.com.br)

1. INTRODUÇÃO

O meloeiro (*Cucumis melo* L.), pertencente à família curcubitaceae, é uma planta anual, herbácea, de hastes trepadoras e folhas pecioladas grandes e aveludadas. Seu fruto é rico em sais minerais como ferro, cálcio, fósforo e vitaminas A, C e do complexo B, possuindo também propriedades estimulantes, diuréticas e laxativas (GAYET, 2003).

O estado do Rio Grande do Sul é o segundo maior produtor de meloeiro do país com uma produção de 14.586 toneladas e 2.392 ha de área colhida, sendo a região sul do estado responsável por uma produção de 12.394 t e 2.126 ha de área colhida. O Brasil é um país exportador de melão, principalmente para Europa, incluindo Espanha (19.119 t) e Países Baixos (17.736 t) (AGRIANUAL, 2008).

Um dos graves problemas da cultura do melão é a rápida deterioração de seus frutos (PECH et al., 1994). O melão é um fruto climatérico que apresenta baixo potencial de armazenamento, variando, dependendo da cultivar, de 5 a 10 dias em condições ambientais. Uma das principais causas da alta perecibilidade do melão é o acelerado metabolismo, envolvendo principalmente a produção do etileno, considerado o hormônio do amadurecimento (ZAREMBINSKI; THEOLOGIS, 1994).

Através da biotecnologia moderna, utilizando técnicas de biologia molecular e celular, foi possível introduzir o gene da ACC oxidase em sentido anti-sense em células de meloeiro, cv. Cantaloupe, visando diminuir a produção de etileno nas plantas regeneradas e conseqüentemente aumentar o período de armazenamento dos frutos. A introdução de um gene através da técnica de transformação genética visa tão somente alterar a característica em que está envolvido o referido gene, sem modificar outros aspectos fisiológicos e/ou morfológicos das plantas. No entanto, estudos realizados por Pinto (2000) e Romano (2001) encontraram algumas

diferenças quanto à área foliar em plantas de tabaco transformadas com o gene *Lhcb1*2* de ervilha.

O emprego da análise de crescimento produz conhecimento de valor prático e informações exatas, referentes ao desenvolvimento e comportamento das plantas, possibilitando assim a comparação entre cultivares e plantas transformadas e não transformadas, quando cultivadas em determinado ambiente (BORÉM, 2005). Desta forma o objetivo do presente trabalho foi analisar os parâmetros primários de crescimento e comparar, através deles, as plantas de melão Cantaloupe transformadas com o gene da ACC oxidase em sentido anti-sense e seu genótipo não transformado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido primeiramente em casa de vegetação na Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - Pelotas, RS, situada a 31° 52' 00''5 de latitude (S), 52° 21' 24'' longitude (W) com a aprovação da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio).

Utilizou-se sementes de dois genótipos de melões Cantaloupe transformados com o gene anti-sense da ACC oxidase (AS₃31 e AS₃85) e sementes de genótipos não transformados, constituindo os dois controles, sendo o primeiro sementes comerciais (CC) e o segundo por sementes comerciais analisadas molecularmente (CM), com comprovação da ausência do gene anti-sense da ACC oxidase.

A semeadura foi realizada em bandejas de polietileno com substrato enriquecido com 200g de NPK 10-10-10. Após a emergência, as plântulas foram transplantadas para vasos com capacidade de 10kg, contendo substrato, enriquecido com NPK 4-10-10. Foram semeadas 50 sementes para cada genótipo, tendo o seu respectivo crescimento e desenvolvimento ocorrido em casa de vegetação, com temperatura, fotoperíodo e umidade relativa controladas.

As amostragens foram realizadas em intervalos regulares de 14 dias, totalizando seis épocas de coleta, aos 14, 28, 42, 56, 70 e 84 dias, sendo cada coleta constituída por três plantas de cada genótipo. Em cada coleta as plantas foram separadas em partes aérea e raiz, sendo o sistema radical lavado sobre peneira para eliminação do substrato aderente. A matéria fresca de cada parte das plantas (caule, folhas e raiz) foi determinada gravimetricamente logo após a coleta (em gramas). Para avaliação da matéria seca as amostras foram acondicionadas em sacos de papel previamente identificados e colocadas para secar em estufa com ventilação forçada, à temperatura de 70°C, até atingirem massa constante. A determinação das massas frescas e secas foi realizada em balanças de precisão, em gramas.

As medições de área foliar foram realizadas no Departamento de Botânica da UFPel, por intermédio de um medidor de área foliar, marca LiCor, modelo Li-3000. Posteriormente as lâminas foliares foram acondicionadas em sacos de papel e submetidas à secagem conforme explicado anteriormente. Todos os parâmetros de crescimento foram avaliados em função dos dias após plantio (DAP).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, em um esquema fatorial (4X6) constituído por dois genótipos transformados (AS₃31 e AS₃85) e dois não transformados (CC e CM) com seis épocas de coleta, com três repetições.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se um aumento significativo nas características de crescimento estudadas para todos os genótipos avaliados, em relação à época de coleta, sendo estes parâmetros representados por uma regressão polinomial de segundo grau.

Em relação à massa seca das partes das plantas observou-se um aumento a partir da primeira avaliação, aos 14 dias após o plantio (DAP), até a última coleta, tanto da raiz como do caule (figura 1), para todos os genótipos testados. Esta tendência também foi observada por Pohl (2008) que comparou plantas de batata, cultivar Baronesa, transformadas com o gene de resistência ao PVY e seu genótipo não transformado, os quais se comportaram de forma similar obtendo acréscimos de massa seca a partir da primeira avaliação, aos 14 DAP, até os 56 DAP e um decréscimo consecutivo nas duas últimas avaliações, ocasionado pela mobilização de assimilados e nutrientes para a formação dos tubérculos. Verificou-se também para o melão, um maior acúmulo de massa seca da raiz e do caule, nas plantas geneticamente transformadas a partir dos 42 e 56 DAP, respectivamente, em relação às plantas controle, podendo isto ser atribuído a redução da síntese de etileno devido à introdução do gene anti-sense da ACC oxidase (Peters et al., 1999).

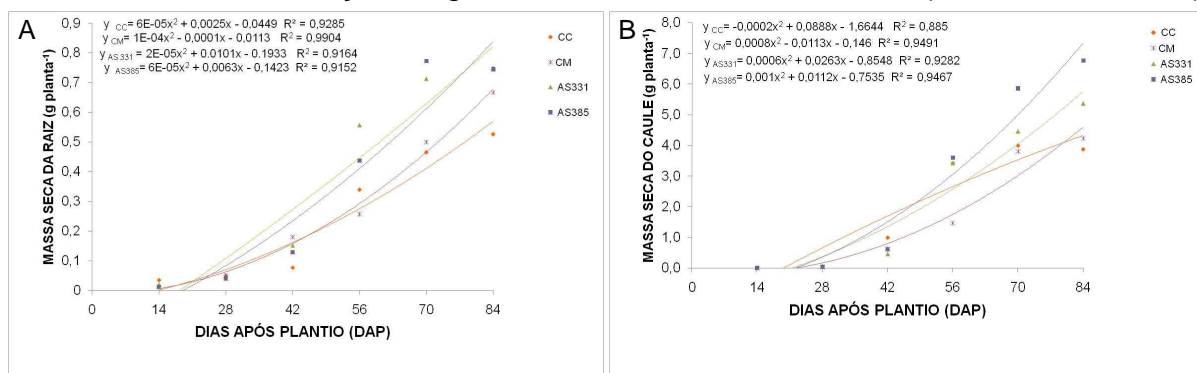


Figura 1- Massa seca da raiz (A) e do caule (B) de plantas de melão, cultivar Cantaloupe transformadas com o gene anti-sense da ACC oxidase (AS₃₃₁ e AS₃₈₅) e seus genótipos controle (CC e CM).

Na análise de massa seca das folhas o genótipo controle (CM) se diferenciou dos demais por apresentar menor incremento deste parâmetro nas três primeiras avaliações e maior acúmulo nas duas últimas, atingindo 25,68 g planta⁻¹ (figura 2A). Já em relação à área foliar das plantas (figura 2B) observou-se maior incremento nos genótipos controle (CC e CM) em relação aos transformados (AS₃₃₁ e AS₃₈₅), atingindo o máximo aos 84 DAP 4934,02 cm² no genótipo CC. Por outro lado, os genótipos transformados tiveram uma redução na taxa de crescimento da área foliar a partir dos 70 DAP.

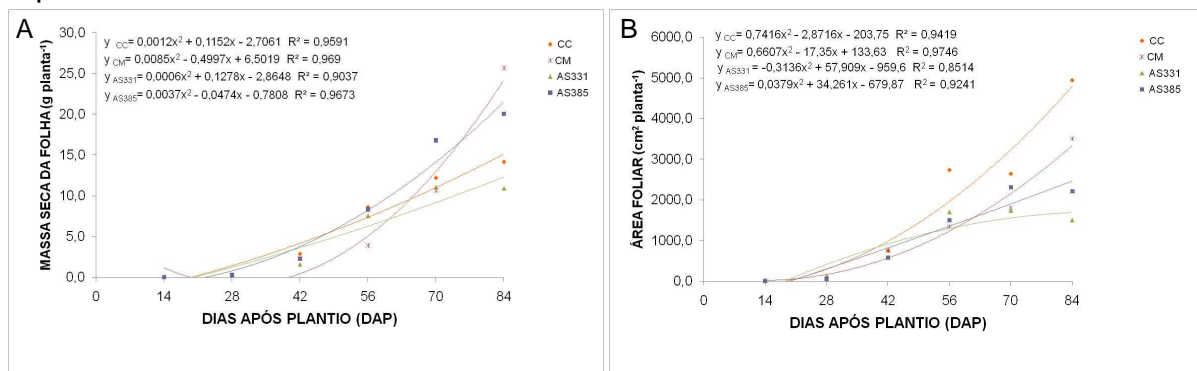


Figura 2: Massa seca da folha (A) e área foliar (B) de plantas de melão, cultivar Cantaloupe transformadas com o gene anti-sense da ACC oxidase (AS₃₃₁ e AS₃₈₅) e seus genótipos controle (CC e CM).

Resultados semelhantes foram encontrados por Pohl (2008) comparando batata cultivar Baronesa e seu genótipo transformado com o gene de resistência à virose PVY, onde a introdução do DNA exógeno não alterou as características agrônômicas da planta. Já para o melão além do prolongamento do período de conservação em sete dias, também foi verificado um aumento na massa dos frutos oriundos de plantas transformadas, proporcionando um ganho de até 20 t ha⁻¹ em comparação ao controle, conforme relatado por Peters et al. (1999).

4. CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o experimento permite-se concluir que:

Os genótipos transformados tiveram um comportamento similar aos genótipos não transformados para as características de crescimento analisadas, não sendo detectadas diferenças significativas nos parâmetros observados por consequência da introdução do gene anti-sense da ACC oxidase, ocorrendo apenas uma diferenciação em função das épocas de coleta, conforme já esperado.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIANUAL. FNP – Consultoria & Comércio. **Anuário da Agricultura Brasileira**. ARGOS, São Paulo, p.186-191, 2008.
- BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. 4 ed. Viçosa: UFV, 2005. 525p.
- BORÉM, A. **Escape gênico e transgênicos**. Viçosa/UFV, 2001, 204p.
- CHRISTOU, P. Genetic transformation of crop plants using microprojectile bombardment. **Plant**. v.3, n.2, p.275-81, 1994.
- DELÚ FILHO, N. ;CASCARDO, J. C. de M.; FONTES, E. P. B. Clonagem molecular e isolamento de genes de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (eds.). **Cultura de Tecidos e Transformação genética de plantas**. Brasília: SPI/EMBRAPA – CNPH, 1999, p.653-677.
- GAYET, J. P. Melão para exportação: procedimentos de colheita e pós colheita. **Frupex**. Brasília, p.36, 2003.
- PECH, J. C., RAYNAL, J.; LATECHÉ, A. Physiologie des fruits à noyau lors du développement et de la maturation sur l'arbre. In Actas del seminário celebrado em la fira de lleida, **Lleida-España, Octubre**, p.17-35, 1994.
- PETERS, J. A.; ROMBALDI, C.; SILVA, J. A.; SCHUC, M. W.; Transformação Genética do Meloeiro e da Macieira. **Biotecnologia Ciência & desenvolvimento**, n.11, p.10-13, 1999.
- PINTO, L.S.R.C. **Avaliação do metabolismo fotossintético de plantas transgênicas de tabaco (*Nicotiniana tabacum* L.) que expressam o gene *Lhc1*2* constitutivamente, em condições de alta luminosidade**. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000, 140p.
- POHL, Simone. **Análise de crescimento de batata cv. Baronesa transformada com gene de resistência ao PVY**. 2008, 60f. Dissertação (Mestrado em fisiologia vegetal), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- ROMANO, M.R. **Análise de crescimento, produção de biomassas, fotossíntese e biossíntese de aminoácidos em plantas transgênicas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) que expressam o gene *Lhcb1*2* de ervilha**. Dissertação de Mestrado. Ciências, área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas. USP, 2001, 66p.

TEXEIRA, A. P. M. **Identificação de marcadores moleculares ligados a gene de resistência ao vírus do mosaico (PRSV-W) em melão (*Cucumis melo* L.)**. 2004. 4f. Dissertação de mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiros. São Paulo.

ZAREMBINSKI, T. L.; THEOLOGIS, A. Ethylene biosynthesis and action: a case os conserveition. **Plant Molecular. Biology**, v.26, p.1579-1597, 1994.