

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E FISIOLÓGICAS DE PLANTAS DE MELOEIRO MODIFICADAS GENETICAMENTE

**DANIELOWSKI, Rodrigo¹; POHL, Simone¹; FALQUETO, Antelmo Ralph¹;
BRAGA, Eugenia Jacira Bolacel¹; PETERS, José Antonio¹**

¹Universidade Federal de Pelotas; Dept^o de Botânica Laboratório de Cultura de Tecido de Plantas
Campus Universitário – Caixa Postal 354 CEP 96010-900. (danielowski@pop.com.br)

1 INTRODUÇÃO

O meloeiro (*Cucumis melo* L.) é socioeconomicamente uma das principais espécies da família curcubitaceae, gerando um grande número de postos de trabalho e rentabilidade para os produtores. Os frutos são ricos em sais minerais (Fe, Ca, P), vitaminas (A, C e complexo B) e possuem propriedades estimulantes, diuréticas e laxativas (GAYET, 2003).

A alta perecibilidade de seus frutos acarreta um curto período de armazenamento da fruta, constituindo-se assim em um dos graves problemas na fase de pós-colheita do sistema produtivo (PECH et al., 1994). A deteriorização após a colheita é a principal característica dos frutos climatéricos, determinando um período de armazenamento de 5 a 10 dias, em condições ambientais, podendo esse tempo variar em função da cultivar. A alta perecibilidade é atribuída ao acelerado metabolismo dos frutos, envolvendo principalmente a produção do etileno, considerado o hormônio do amadurecimento (ZAREMBINSKI; THEOLOGIS, 1994).

Por meio da biotecnologia moderna utilizando-se de técnicas de transformação genética por *Agrobacterium tumefaciens* foi possível introduzir o gene ACC oxidase em sentido “anti-sense” em células de meloeiro, cv. Cantaloupe, com o intuito de regenerar plantas com uma menor produção de etileno nos frutos, aumentando o tempo de armazenamento. Com o emprego desta tecnologia objetiva-se alterar somente a característica para a qual o gene foi introduzido, porém 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.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi comparar, por meio de parâmetros fisiológicos e morfológicos, plantas de melão transformadas com o gene da ACC oxidase no sentido “anti-sense” e plantas não transformadas.

2 METODOLOGIA

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). Utilizaram-se sementes de dois genótipos de melões Cantaloupe transformados com o gene “anti-sense” da ACC oxidase (AS₃₁ e AS₈₅) e sementes do genótipo não transformado, utilizando-se dois controles: sementes comerciais (CC) e 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 para determinação da massa seca 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, lavando-se as raízes para eliminação do substrato aderente. 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 seca constante. A determinação da massa seca foi realizada em balanças com quatro casas de precisão, em gramas. As medidas de fluorescência da clorofila *a* foram realizadas em folhas não destacadas, utilizando-se fluorômetro FMS-2 (Hansatech, King's Lynn, UK) em quatro épocas distintas 15, 43, 71, 86 dias. Para a determinação da fluorescência rápida, amostras foliares foram adaptadas ao escuro durante 20 minutos, quando, então, receberam um fluxo de radiação saturante fotossinteticamente ativa igual a $0,12\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para a determinação da fluorescência inicial (F_0). A fluorescência máxima (F_M) foi determinada durante um pulso de fótons saturante de $4000\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Estes parâmetros básicos da fluorescência da clorofila foram usados para o cálculo da fluorescência variável (F_V) através da equação $F_V = F_M - F_0$. Dessa forma, a eficiência fotoquímica do fotossistema II (F_V/F_M) pôde ser expressa. Foram medidos também os parâmetros de fluorescência atual: como o *quenching* fotoquímico ($qP = (F_M' - F_S)/(F_M' - F_0)$). O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em um esquema fatorial (4X6) para os parâmetros morfológicos e (4X4) para os fisiológicos constituídos por dois genótipos transformados (AS₃₃₁ e AS₃₈₅) e dois não transformados (CC e CM) com seis épocas de coleta com três repetições e quatro épocas de coletas, respectivamente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Observou-se aumento significativo dos parâmetros de crescimento e de fluorescência da clorofila *a* que foram analisados para todos os genótipos avaliados, em relação à época de coleta. Em relação à massa seca do caule (Figura 1A) observou-se aumento a partir da primeira avaliação, aos 14 dias após o plantio (DAP), até a última coleta 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 com posterior decréscimo ocasionado pela mobilização de assimilados e nutrientes para a formação dos tubérculos. Verificou-se também para o melão, um maior acúmulo de massa seca do caule, nas plantas geneticamente transformadas a partir dos 42 DAP, em relação às plantas controle, podendo isto ser atribuído à redução da síntese de etileno devido à introdução do gene "anti-sense" da ACC oxidase (Peters et al., 1999). Na análise de massa seca das folhas, o genótipo controle

(CM) se diferenciou dos demais por apresentar menor incremento desse parâmetro nas três primeiras avaliações e maior acúmulo nas duas últimas, atingindo 25,68 g planta⁻¹ (Figura 1B).

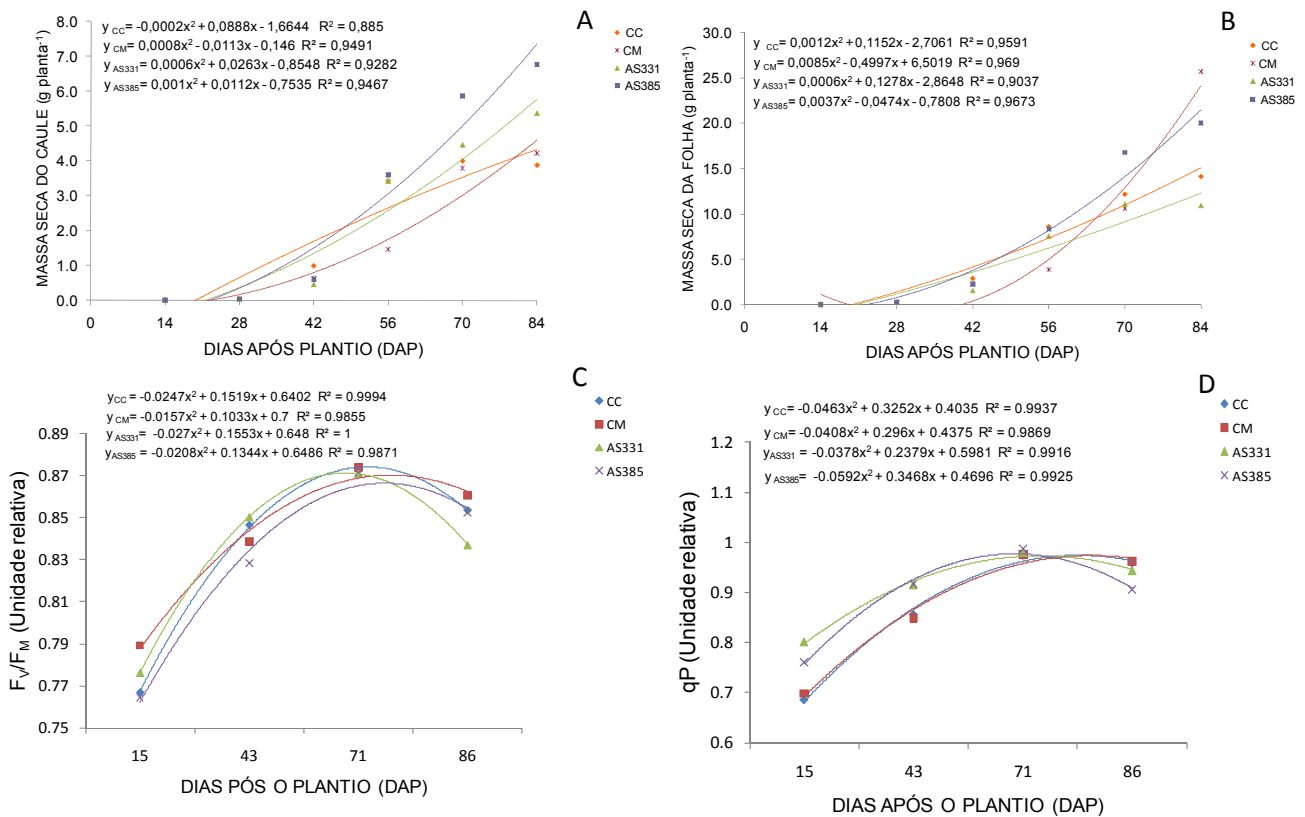


Figura 1- Massa seca do caule (A) e da folha (B), eficiência fotoquímica do Fotossistema II, F_v/F_m (C) e *quenching* fotoquímico, qP (D) de plantas de melão, cultivar Cantaloupe transformadas com o gene “anti-sense” da ACC oxidase (AS₃₃₁ e AS₃₈₅) e seus genótipos controle (CC e CM).

Para os parâmetros de fluorescência da clorofila *a*, a razão F_v/F_m que expressa a eficiência de captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do Fotossistema II (FSII) (BACKER, 1991), não variou entre os genótipos (CC, CM, AS₃₃₁ e AS₃₈₅) até os 43 DAP havendo um decréscimo aos 71 DAP (Figura 1C) associado à senescência das plantas. Para o coeficiente de extinção fotoquímico (qP), que representa a proporção da energia dos fótons capturada pelos centros de reação do FSII abertos e dissipada via transporte de elétrons (JUNEAU et al., 2005), refletindo o grau de oxidação e redução da plastoquinona A (QA) (FALQUETO et al., 2008), sendo responsável pelo decréscimo da fluorescência devido à separação de cargas fotoquímicas no centro de reação do FSII (BACARIN et al., 2008). Para esse fator os genótipos apresentaram respostas semelhantes, havendo uma elevação desse coeficiente até os 43 DAP (Figura 1D), com posterior decréscimo por volta dos 71 dias. Resultados similares tanto para a razão F_v/F_m como para o coeficiente de extinção fotoquímico (qP) foram encontrados por Bacarin et al. (2008) trabalhando com plantas de batata cv. Baronesa e seu genótipo transformado para resistência ao vírus PVY.

4 CONCLUSÕES

Em função dos parâmetros analisados pode-se concluir que plantas de melão transformadas com o gene “anti-sense” da ACC Oxidase não alteraram suas características morfológicas e fisiológicas originais.

5 REFERÊNCIAS

BACARIN, M.A.; SHIMITZ, D.D.; FALQUETO, A.R.; CASSOL, D.; TORRES, AC.; PETERS, J.A.; BRAGA, E.J.B. Características Fotossintéticas de Batata cv. Baronesa e seu Genótipo Transformado Geneticamente para Resistência ao PVY. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 331-335, 2008.

BAKER, N.R. A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. **Physiologia Plantarum**, v. 81, p. 563-570, 1991.

GAYET, J.P. Melão para exportação: procedimentos de colheita e pós colheita. **Frupep**. 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. **Biociência**, n.11, p.10-13, 1999.

PINTO, L.S.R.C. **Avaliação do metabolismo fotossintético de plantas transgênicas de tabaco (*Nicotiana 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.

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