

RESUMO - CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA

ADAPTAÇÃO DE PROTOCOLO IN PLANTA VISANDO EFICIÊNCIA NA TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE ARROZ (ORYZA SATIVA L.)

Dandara Verissimo Soprani (dandara.vs2002@gmail.com)

Inês Ariane De Paiva Câncio (inesariane20@gmail.com)

Leandro Azevedo Santos (azevedo.ufrj@gmail.com)

As mudanças climáticas têm imposto desafios significativos à agricultura global, afetando diretamente a produtividade e a estabilidade das culturas alimentares. Entre elas, o arroz (*Oryza sativa* L.) se destaca por ser a base alimentar de mais da metade da população mundial, além de espécie modelo em pesquisas de biotecnologia pelo genoma conhecido, diversidade genética e ciclo curto. Nesse contexto, a transformação genética de plantas surge como estratégia para o desenvolvimento de cultivares mais eficientes e resilientes, contribuindo para a segurança alimentar. Os métodos convencionais *in vitro*, embora amplamente utilizados, apresentam limitações, como maior tempo para obtenção das plantas e ocorrência de variações somaclonais. Diante disso, este trabalho teve como objetivo adaptar um protocolo *in planta* para transformação genética em arroz, visando maior eficiência e reprodutibilidade, além de evitar tais limitações. A transformação genética de arroz foi conduzida a partir do Protocolo descrito por Haque et al. (2025), com adaptações específicas. Utilizou-se o vetor pHGWFS7, onde o promotor da actina 2 foi fusionado aos genes repórteres EGFP e GUS. O gene repórter EGFP, permite a visualização da fluorescência verde em células transformadas, e o GUS, confere coloração azul após reação com o substrato X-Gluc, além do gene *hptII*

como marcador de resistência à higromicina. Sementes da cultivar Nipponbare foram desinfetadas com NaOCl, pré-germinadas por 48 h e submetidas à infecção com *Agrobacterium tumefaciens* cultivada em meio YEB suplementado com antibiótico. As modificações introduzidas no protocolo foram avaliadas em duas etapas. Primeiramente, comparou-se a presença ou ausência de 2,4-D, associada à injúria mecânica das sementes, sem ressuspensão bacteriana em meio CCM. Posteriormente, avaliou-se a inclusão da ressuspensão bacteriana em CCM, variando o número de vácuos aplicados (um ou dois) e os tempos de co-cultivo, sem testar o efeito do 2,4-D nesta fase. No segundo conjunto de testes, a suspensão foi centrifugada (4.800 rpm, 10 min, 20 °C), ressuspensa em meio CCM, ajustada para $OD_{600} \approx 0,2$ e suplementada com acetoseringona (1 h) para indução dos genes de virulência. Como modificação ao protocolo original, adicionou-se Silwet L-77 visando aumentar a penetração bacteriana. As sementes foram incubadas por 20 min (120 rpm, 28 °C) e submetidas a vácuo (550 mm Hg, 10 min). Em seguida, uma parte foi distribuída em placas contendo papel filtro e meio CCM, enquanto outro grupo foi mantido sob agitação até $OD_{600} \approx 0,6$, submetido a novo vácuo e, então, distribuído em placas, onde permaneceram por 72 horas, à 28° no escuro. Após esse período, as sementes foram lavadas quatro vezes com meio contendo sais minerais e vitaminas, para remover células residuais de *Agrobacterium*, seguidas de uma última lavagem com Timentin a 200mg/L e transferidas para meio de seleção contendo higromicina a 20mg/L, por 14 dias. Os testes realizados permitiram observar diferenças marcantes entre os tratamentos. No tratamento com 2,4-D, houve ausência de fluorescência e não ocorreu desenvolvimento de plântulas, enquanto no tratamento sem 2,4-D verificou-se fluorescência fraca acompanhada da formação de folhas verdes. Nos ensaios com ressuspensão em meio CCM, um único vácuo ($OD_{600} \sim 0,2$) resultou em fluorescência restrita às raízes, enquanto dois vácuos ($OD_{600} \sim 0,6$) possibilitaram fluorescência também na parte aérea, sugerindo maior eficiência do processo. Esses resultados indicam que o método apresenta potencial, mas ainda necessita de otimizações quanto ao uso de 2,4-D, tempos de co-cultivo, doses de higromicina e diferentes estirpes bacterianas, etapas que serão exploradas para consolidar um protocolo mais eficiente e reprodutível de transformação genética in planta em arroz.

Palavras-chave: protocolo; biotecnologia; transformação genética.