



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ISSN 1806-9193

Outubro, 2008

versão
ON-LINE

Documentos 229

Biotecnologia em arroz: principais modificações genéticas

Editor técnico

Ariano Martins de Magalhães Júnior

Pelotas, RS
2008

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Clima Temperado

Endereço: BR 392, km 78
Caixa Postal 403, CEP 96001-970 - Pelotas, RS
Fone: (53) 3275 8199
Fax: (53) 3275 8219 - 3275 8221
Home page: www.cpact.embrapa.br
E-mail: sac@cpact.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Walkyria Bueno Scivittaro
Secretária-Executiva: Joseane M. Lopes Garcia
Membros: Cláudio Alberto Souza da Silva, Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro, Isabel Helena Vernetti Azambuja, Luís Antônio Suita de Castro, Sadi Macedo Sapper, Regina das Graças V. dos Santos
Suplentes: Daniela Lopes Leite e Luís Eduardo Corrêa Antunes

Revisor de texto: Sadi Macedo Sapper
Normalização bibliográfica: Regina das Graças Vasconcelos dos Santos
Editoração eletrônica: Oscar Castro

1ª edição

1ª impressão 2008: 100 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Magalhães Júnior, Ariano Martins de.
Biotecnologia em arroz: principais modificações genéticas / Ariano Martins de Magalhães Júnior, Paulo Ricardo Reis Fagundes, Andre, Andres. -- Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008.
44 p. -- (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 229).

ISSN 1516-8840

Arroz irrigado - Melhoramento genético - Engenharia genética. I. Fagundes, Paulo Ricardo Reis. II. Andres, Andre. III. Título. IV. Série.

CDD 633.18

Autor

Ariano Martins de Magalhães Júnior

Eng. Agrôn., Dr.
Embrapa Clima Temperado
Cx. Postal, 403 – CEP – 96001-970 Pelotas, RS
(ariano@cpact.embrapa.br)

Paulo Ricardo Reis Fagundes

Eng. Agrôn., Dr.
Embrapa Clima Temperado
Cx. Postal, 403 – CEP – 96001-970 Pelotas, RS
(fagundes@cpact.embrapa.br)

Andre Andres

Eng. Agrôn., MsC.
Embrapa Clima Temperado
Cx. Postal, 403 – CEP – 96001-970 Pelotas, RS
(andre@cpact.embrapa.br)

Daniel Fernández Franco

Eng. Agrôn., MsC.
Embrapa Clima Temperado
Cx. Postal, 403 – CEP – 96001-970 Pelotas, RS
(daniel@cpact.embrapa.br)

José Francisco da Silva Martins

Eng. Agrôn., Dr.

Embrapa Clima Temperado

Cx. Postal, 403 – CEP 96001-970 Pelotas, RS

(martins@cpact.embrapa.br)

Antônio Costa de Oliveira

Eng. Agrôn., Dr.

Depto de Fitomelhoramento, Faculdade de

Agronomia Eliseu Maciel – UFPel

Cx. Postal, 354 – CEP 96001-970 - Pelotas,

RS

(acosta@ufpel.tche.br)

Apresentação

A ciência tem permitido avanços significativos na melhoria dos sistemas de produção agrícolas sustentáveis. Modernas áreas do conhecimento surgem e desvenda-se uma maior amplitude de ferramentas no auxílio da humanidade. A engenharia genética tem possibilitado gerar novas cultivares com características próprias inerentes ao processo de transformação.

Os benefícios e as conseqüências do uso inadequado desta técnica são aqui abordados, visando informar o que está acontecendo na transformação genética de arroz, no Brasil e no mundo.

O tema é complexo, pois abrange questões agrícolas e agrárias, questões de saúde e alimentação, ética na ciência, nos avanços tecnológicos e de interesses políticos e econômicos. É, além de tudo, uma questão de cidadania esta informação à sociedade em geral. Estudos de geração, impactos ambientais e aqueles relacionados à segurança alimentar devem pautar o tema. A velocidade com que a ciência avança não permite que aqui se esgote o assunto, mas que se avance a partir deste marco.

Waldyr Stumpf Junior

Chefe-Geral
Embrapa Clima Temperado

Sumário

Biotecnologia em arroz: principais modificações genéticas	9
Resumo	9
Introdução	10
Principais características	13
Resistência a herbicidas	13
Resistência a insetos	16
Resistência a doenças	19
Resistência a estresses	21
Produtividade	22
Qualidade nutricional	24
Vitamina A	24
Ferro	25
Amido	26
Avaliação de riscos e impactos ao meio ambiente	28
Considerações finais	31
Referências	33

Biotecnologia em arroz: principais modificações genéticas

Resumo

A transferência de genes úteis a cultivares comerciais por técnicas de engenharia genética permite incorporar características herdáveis sem a destruição de genótipos valiosos. Assim, as ferramentas de transformação genética têm possibilitado a introdução de diferentes genes no genoma do arroz. Dentre as diversas características inseridas, destacam-se genes de resistência a herbicidas totais, tais como glifosato e glufosinato de amônia; genes *Bt* (proteínas *Cry*) conferindo resistência a insetos da ordem lepdoptera, principalmente, e genes sintetizando proteínas do tipo quitinases, conferindo resistência a coleópteros; genes de resistência a doenças fúngicas, bacterianas e virais; genes que conferem tolerância a estresses ambientais, tais como seca, salinidade e frio; genes visando aumento de produtividade em arroz, transformando esta espécie em plantas C_4 com maior capacidade fotossintética, bem como aumento dos componentes de rendimento; genes capazes de melhorar a qualidade nutricional do arroz como aqueles responsáveis pela biossíntese de vitamina A, ferro e amido. A velocidade com que estes produtos entrarão no mercado irá depender de uma série de fatores, incluindo desde

implicações econômicas (relação custo/benefício), até eficiência da pesquisa, aceitação do mercado consumidor, estudos de impactos ambientais, políticas de governos, direitos de propriedade intelectual e industrial, fatores de natureza ética, moral e religiosa, entre outros.

Introdução

O arroz (*Oryza sativa* L.) é o mais importante cereal cultivado mundialmente (BROOKES e BARFOOT, 2003). É um dos alimentos mais consumidos no mundo, totalizando mais de 60% das calorias consumidas pela população de países em desenvolvimento. O arroz também é a base da dieta alimentar da população asiática, que perfaz 58% da população mundial e consome 353 milhões de toneladas anuais, representando cerca de 90% da produção (FAO, 2004).

Cultivado e consumido em todos os continentes, o arroz destaca-se pela produção e área de cultivo, desempenhando papel estratégico tanto no aspecto econômico quanto social (AZAMBUJA et al., 2004), sendo uma cultura extremamente versátil, que se adapta a diferentes condições de solo e clima e de maior potencial para o combate a fome no mundo. Devido a estas características, à demanda futura e ao potencial para combater a fome no mundo, o produto arroz vem, cada vez mais, sendo focado como uma questão de segurança alimentar.

Nos últimos 35 anos, a produção mundial de arroz praticamente duplicou, passando de 257 milhões de toneladas, em 1965, para 600 milhões, em 2000. Porém, o índice de crescimento de produção de arroz está diminuindo ao longo dos anos e se essa tendência não for revertida, uma severa falta de alimentos ocorrerá neste novo século. Estima-se que haverá uma demanda de consumo de arroz para o ano 2020 de cerca de 900 milhões de toneladas. É pouco provável que ocorra aumento significativo na área plantada com arroz, dada a estabilidade

observada em nível mundial, desde 1980 (DAWE, 1999; MAGALHÃES JR. et al., 2003).

A biotecnologia, com suas técnicas de biologia molecular e de transformação vegetal, tem possibilitado a produção de plantas geneticamente modificadas, mantendo as características das espécies, constituindo-se, assim, em uma ferramenta concreta e importante para o melhoramento genético vegetal (CHRISTOU, 1994). Dessa maneira, é possível a obtenção de plantas transgênicas que representem variedades melhoradas para uma nova característica que não se poderia obter na diversidade da espécie (TORRES, et al., 1999). A biotecnologia moderna facilitou a geração e multiplicação de produtos agrícolas, com resultados surpreendentes quando comparada a metodologias convencionais. Avanços na agricultura mundial são percebidos como aumento de rendimento e melhoria da qualidade de produtos.

Os principais objetivos do melhoramento genético são resistência a doenças e insetos, adaptação aos estresses ambientais e melhoria da qualidade nutricional. Durante meados do século XIX, através de uma série de experimentos envolvendo cruzamento de diferentes variedades de ervilhas, Gregor Mendel demonstrou o processo de hereditariedade (MENDEL, 1866). Estas experiências revolucionárias alavancaram a agricultura moderna, demonstrando que características genéticas podem ser herdadas de maneira lógica e previsível, através do cruzamento controlado entre as plantas. O uso da tecnologia do DNA recombinante (DNAr), ou engenharia genética, tem permitido ampliar as estratégias que podem ser utilizadas pelos programas de melhoramento, uma vez que as características encontradas em um organismo podem ser transferidas para plantas (ARAGÃO, 2004).

Os principais motivadores da aplicação e adoção da tecnologia denominada engenharia genética em arroz deve-se à possibilidade de maior produtividade, resistência a estresses, custo mais baixo de produção e a provisão de arroz melhorado

nutricionalmente (BROOKES e BARFOOT, 2003).

A transferência de genes úteis a cultivares comerciais por técnicas de engenharia genética permite incorporar características herdáveis sem a destruição de genótipos valiosos (TORRES et al., 1999). Assim, as ferramentas de transformação genética podem possibilitar a introdução de genes selecionados em plantas para o desenvolvimento de novos genótipos, com mínima alteração de sua base genética e, portanto, das características desejadas numa determinada cultivar (MANDERS et al., 1992).

A característica fundamental que determina a diferença entre organismos transgênicos e não transgênicos é a possibilidade de incorporação de material genético ultrapassando barreiras naturais. De modo geral, o melhoramento convencional é baseado na transferência de material genético entre indivíduos da mesma espécie ou espécies bastante assemelhadas. As técnicas da biotecnologia permitem introduzir no material genético do organismo-alvo seqüências de DNA codificadoras de certas características que nunca, ou somente em casos extremamente raros, seriam observadas naturalmente em determinada espécie (VIEIRA, 2004).

Durante os oito anos, que vão de 1996 a 2003, a área global de plantações transgênicas cresceu 40 vezes. De 1,7 milhão de hectares em 1996 para 67,7 milhões de hectares em 2003, com um crescimento proporcional entre os países em desenvolvimento (JAMES, 2003). Quase um terço (30%) da área global de plantações transgênicas, de 67,7 milhões de hectares em 2003, equivalente a mais de 20 milhões de hectares, teve aumento nos países em desenvolvimento, onde o crescimento continua forte. É notável que o crescimento absoluto na área de plantações OGMs entre 2002 e 2003 foi quase o mesmo entre os países em desenvolvimento (4,4 milhões de hectares) e países industrializados (4,6 milhões de hectares), com a porcentagem crescendo mais de duas vezes nos países em desenvolvimento do hemisfério Sul (28%), comparado com os países

industrializados do Norte (11%) (JAMES, 2003).

Principais características

Resistência a herbicidas

As plantas daninhas são, atualmente, o principal problema na produção de arroz no mundo. Estas competem com a cultura por nutrientes, água, luz, entre outras. Neste sentido, provocam redução da produtividade, aumentam os custos de produção, reduzem a qualidade e o valor de mercado (LEONARD et al., 2002).

Desde 1996 a 2003, a tolerância a herbicida tem sido consistentemente a característica dominante, seguida pela resistência a insetos. Em 2003, a tolerância a herbicida, distribuída na soja, milho, canola e algodão, ocupou 73% ou 49,7 milhões de hectares, da área global OGMs; 67,7 milhões de hectares, com 12,2 milhões de hectares (18%) de algodão *Bt* plantado. Os genes combinados para tolerância a herbicida e resistência a insetos também têm sido utilizados (JAMES, 2003).

Em arroz, o uso de resistência a herbicidas de ação total tem possibilitado o controle de invasoras de forma mais efetiva, possibilitando o combate ao arroz vermelho (MARCHEZAN et al., 2004). Esta espécie é bastante agressiva em condições de lavoura e as perdas na produção do arroz irrigado, devido à competição, podem ser evidenciadas em função da sua densidade populacional. A principal razão, que explica a dificuldade do seu controle, deve-se ao fato de que o arroz-vermelho pertence ao mesmo gênero (*Oryza*) do arroz cultivado, não existindo, desta forma, um produto químico seletivo capaz de controlar esta invasora quando presente na cultura do arroz (MAGALHÃES JR. et al., 2001b). Diarra et al., (1985), constatou que apenas 5 plantas de arroz vermelho/m² reduziram 22% a produção de arroz. Com a presença de 145 panículas de arroz vermelho/m², houve redução de 37% na produtividade da

cultivar de arroz BR-IRGA 410 (SOUZA e FISCHER, 1986). Para Pulver (1986), a presença de 100 plantas de vermelho/m², reduziram em 75% o rendimento do arroz. Em densidades de 2 a 40 plantas de arroz vermelho/m², houve redução na produção de Lemont e Newbonet de 24 e 9% a 90 e 67%, respectivamente (SMITH, 1991).

Além disto, o uso intensivo de herbicidas seletivos na lavoura de arroz tem selecionado plantas invasoras resistentes. O controle destas invasoras com as atuais opções disponíveis tem sido dificultado por falta de produtos efetivos. Assim, herbicidas não seletivos, tais como o glufosinato e o glifosato com amplo espectro e diferente modo de ação, poderiam ajudar no controle de plantas que tenham adquirido resistência aos herbicidas tradicionais utilizados na lavoura do arroz (LEONARD et al., 2002).

A primeira companhia a desenvolver variedades de arroz geneticamente modificadas (GM) prontas para a comercialização foi a Aventis CropScience, atualmente adquirida pela Bayer CropScience. Os trabalhos iniciaram em meados dos anos 90, conduzindo 60 testes de campo de arroz GM nos EUA, 6 na América do Sul, 5 na Europa e 2 no Japão (BROOKES e BARFOOT, 2003). No Brasil, o primeiro e único ensaio de campo com arroz transgênico resistente ao herbicida Finale ou Liberty (glufosinato de amônio) até agora foi conduzido no município de Rio Grande / RS (Granja 4 Irmãos S.A.) (MAGALHÃES JR. et al., 2001b).

Em arroz, o gene mais utilizado no mundo é o *bar* e o gene *PAT*. A tecnologia LibertyLink envolve a inserção no genoma da planta de um gene exógeno (*bar*), que pela sua expressão confere às plantas tolerância específica a uma molécula de herbicida denominada Glufosinato de Amônio (GA) (THOMPSON et al., 1987; SANKULA et al., 1997). Este é um inibidor da glutamina sintetase, bloqueando a incorporação de amônia gerada pela própria planta em aminoácidos (D'HALLUIN et al., 1992), sendo que esta inibição resulta em acumulação

tóxica de amônia nas células das plantas. O gene *bar*, isolado de *Streptomyces hygroscopicus*, codifica para a síntese de fosfinotricina acetil transferase (PAT) que cataliza a transferência do radical acetil da acetil coenzima-A para o grupo amino do glufosinato, tornando-o inativado (DE BLOCK et al., 1987). Desta forma, o arroz resistente ao herbicida glufosinato de amônio é capaz de sobreviver após a aplicação do produto, o qual, por ser de ação total, controla todas as plantas invasoras, inclusive o arroz-vermelho (OARD et al., 1996).

Outro grupo de resistência a herbicida em arroz encontrado no mundo diz respeito à molécula do glifosato. Dentre os diferentes genes de resistência a herbicidas, destaca-se o gene *CP4-EPSPS*, o qual contém um promotor *E35S*, um peptídeo de trânsito de cloroplasto, a seqüência codificante EPSPS e uma região terminadora 3' NOS. A expressão do gene produz uma proteína funcional 5-enolpiruvilchicamato-3-fosfato sintase (EPSPS) com 46 kDa. Neste caso, as plantas que contêm este gene são resistentes ao herbicida glifosato (Windels et al., 2001). Recentemente, os estudos têm levado a inserção de genes que desdobram a molécula do glifosato com o uso de genes GAT (CASTLE et al., 2004). Detentora da tecnologia de resistência ao glifosato, a Monsanto fez o maior número de notificações para testes de campo de arroz GM nos EUA, em um total de 50. Esta tecnologia encontra-se em testes pré-comerciais (BROOKES e BARFOOT, 2003).

O uso da tecnologia arroz GM resistente a herbicida tem como estimativa a redução de aproximadamente 1,7 milhões de kg/ano de produtos (3,8 milhões de libras/ano). Como consequência, os produtores terão economizado 19 milhões de dólares/ano devido à redução no preparo da área e aos custos de sementes, e 30 milhões de dólares/ano pela diminuição do uso do de herbicidas (LEONARD et al., 2002).

Resistência a insetos

O uso de agrotóxicos para o controle de pragas resulta em cerca de 26 milhões de envenenamentos humanos por ano, com 220.000 fatalidades no mundo, principalmente nos países em desenvolvimento (PAOLETTI e PIMENTEL, 2000). Existe uma necessidade de encontrar-se alternativa não-química para o controle de pragas. Neste sentido, a engenharia genética tem sido uma ferramenta capaz de possibilitar o controle de insetos alvos sem o uso de agrotóxicos (TINJUANGJUN, 2002). A transformação oferece vantagens sobre outras técnicas de manipulação gênica, por permitir o melhoramento direto de plantas com um mínimo de rompimento da integridade genética de genomas já selecionados (MANDERS et al., 1992). A grande maioria das plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos expressa genes derivados da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) (FRIZZAS, 2003). Inicialmente, foi o tabaco que recebeu genes *Bt*, depois seguiram várias culturas como o milho, o algodão, a batata e outras (SHELTON et al., 2002).

Além de genes bacterianos, genes de várias outras origens têm sido introduzidos em plantas, com o intuito de aumentar o nível de resistência a insetos; entre eles, estão os genes *inibidores de proteinases*, como por exemplo *C-II* de soja (soybean serine-proteinase inhibitor), *OC-I* de arroz (rice cysteine-proteinase inhibitor), *PotPT-I* e *II* de batata (potato proteinase inhibitor I e II), entre outros; *inibidores de α -amilases* obtidos a partir do feijão ou de cereais; *lectinas*, *quitinases* e outros (BOBROWSKI et al., 2003). Genes de resistência a insetos têm sido buscados, ao longo dos anos, por métodos convencionais de melhoramento genético vegetal. No entanto, a engenharia genética pode proporcionar de forma mais rápida e eficiente esta busca (TINJUANGJUN, 2002). Uma série de benefícios pelo uso desta tecnologia pode ser relatada, entre eles a diminuição dos efeitos ambientais devido ao fato da eficiência de produção de proteínas *Cry* pelas plantas *Bt*, não sendo afetadas por fatores ambientais e por se acumularem nos tecidos vegetais de forma

mais homogênea do que quando o *Bt* é pulverizado; eficiência de controle com percentual variável de acordo com a cultura e a espécie-alvo; segurança na utilização devido à não toxicidade das proteínas aos humanos e animais domésticos e ao alto grau de especificidade aos insetos-alvo e espécies relacionados; redução do uso de inseticidas químicos; proteção; preservação de inimigos naturais, entre outras (BOBROWSKI et al., 2003).

Vários genes de toxinas inseticidas oriundas de *Bacillus thuringiensis* têm sido transferidos ao arroz incluindo *cryIA(b)*, *cryIA(c)*, e *cryIIIA*. As plantas de arroz contendo genes *Bt* tem apresentado significativa resistência aos insetos, tais como lagartas, percevejos do colmo, etc. (IRRI, 2004).

Cerca de 150 milhões de hectares de arroz são cultivados anualmente no mundo, produzindo 590 milhões de toneladas, sendo que mais de 75% desta produção é oriunda do sistema de cultivo irrigado (AZAMBUJA et al., 2004). *Oryzophagus oryzae* é um dos insetos mais prejudiciais à cultura do arroz irrigado (FERREIRA e MARTINS, 1984; CAMARGO, 1991). O inseto, conhecido na fase adulta por gorgulho aquático, alimenta-se de folhas e oviposita nas partes submersas das plantas de arroz. As larvas (bicheira-da-raiz), ao alimentarem-se das raízes, afetam o crescimento e desenvolvimento das plantas, apenas em condições de solo alagado (MARTINS e FERREIRA, 1980). Magalhães Jr. et al. (2001a) em estudos de transformação genética de arroz visando resistência ao gorgulho-aquático *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) utilizaram a cultivar BRS 7 "Taim" transformada pelo método de eletroporação e obtiveram 9 eventos contendo o gene que codifica para síntese de lectina isolado da *Urtiga dioica* (UDA). Na **Tabela 1**, encontram-se apresentados os resultados de danos causados pelo inseto na fase adulta, indicando uma maior resistência das plantas transformadas, quando em comparação com a testemunha.

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						Avaliação aos 12 dias					
	Nº F/P	Nº FLES	% FLES	Nº LESÕES	Nº LESÕES/F	Nº	Nº F/P	Nº FLES	% FLES	Nº LESÕES	Nº LESÕES/F	Nº
BRS 7 "TAIM"	4,8	3,4	73,3	19,8	4,3	4,4	4,0	91,0	28,4	8,0	4,4	4,0
TAIM 8.1.2	8,4	1,0	18,4	3,0	0,5	5,8	2,2	40,0	6,2	1,2	5,8	2,2
TAIM 8.1.9	4,8	0,2	4,0	0,4	0,1	5,2	1,2	28,3	3,2	0,7	5,2	1,2
TAIM 8.1.10	5,0	0,8	14,0	2,8	0,5	5,2	1,2	22,0	2,2	0,4	5,2	1,2
TAIM 8.1.11	5,4	2,4	47,0	8,0	1,2	5,8	2,4	43,3	5,4	1,0	5,8	2,4
TAIM 8.1.15	5,8	2,0	38,6	5,2	1,1	5,4	2,8	52,7	10,8	2,0	5,4	2,8
TAIM 8.1.30	4,8	1,8	38,0	5,4	1,1	5,4	2,8	55,0	13,2	2,8	5,4	2,8
TAIM 8.1.33	5,0	0,8	18,0	2,0	0,4	8,2	1,4	23,3	1,8	0,3	8,2	1,4
TAIM 8.1.34	5,4	1,0	18,0	2,4	0,4	5,4	3,0	55,3	10,2	1,9	5,4	3,0
TAIM 8.1.35	5,4	1,2	22,0	2,0	0,4	5,8	2,8	48,2	5,4	0,9	5,8	2,8

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

Fonte: Magalhães Jr. et al. (2001a).

Resistência a doenças

Os principais patógenos fúngicos do arroz são a *Pyricularia grisea* (*Magnaporthe grisea* – estágio perfeito) e a *Rhizoctonia solani*, os quais causam as doenças denominadas brusone e queima das bainhas, respectivamente. Na maior parte das plantas, o mecanismo natural de defesa consiste em um número de genes que são induzidos frente à infecção. A dificuldade de controle cultural da brusone está na grande variabilidade da patogenicidade do fungo (NUNES, et al., 2004).

Uma série de trabalhos envolvendo a transformação do arroz para resistência às mais diversas doenças tem sido estabelecida com um grande número de possíveis genes de resistência ((POTRYKUS et al., 2004). Estes genes incluem diferentes quitinases de feijão (BROGLIE et al., 1989), arroz (HUANG et al., 1991), e cevada (LEAH et al., 1991); β -1,3-glucanases de tabaco (OHME-TAKAGI e SHINSHI, 1990) e cevada (LEAH et al., 1991); proteína “ribosome-inactivating” de cevada (LEAH et al., 1991); e proteína “osmotin-like” (AP24) de fumo (SINGH et al., 1989).

Plantas transgênicas de arroz têm sido obtidas expressando quitinases, demonstrando alguma resistência a *Rhizoctonia solani* (LIN et al., 1995). Vários outros eventos envolvendo resistência a doenças têm sido obtido em arroz (POTRYKUS et al., 2004), demonstrando promissores resultados.

A engenharia genética também tem sido utilizada para transferir genes de espécies afins ao genoma hospedeiro. Como exemplo, o gene *Xa21* foi isolado do parente do arroz cultivado *Oryza longistaminata*. Este gene confere característica de resistência a doenças (YAN e KERR, 2002).

A pesquisa do gene *Xa21* está bastante avançada, mostra resistência de amplo espectro e é endógena ao arroz (BROOKES e BARFOOT, 2003). Neste sentido, a aceitação deste arroz GM pode ser maior que os demais casos, pois o gene inserido pertence a mesma espécie *Oryza*. Espera-se que os direitos de

propriedade intelectual possam ser acertados e o processo de liberação comercial das variedades seja desencadeado.

Fauquet, et al. (2004) obtiveram sucesso na transferência do gene *Xa21* de *Oryza longistaminata* ao *O. sativa*. Seis linhas resistentes foram obtidas, sendo possível avaliar, pela taxa de segregação 3:1, a presença do transgene em um único locus.

A resistência a vírus em arroz também tem sido alvo de muitas pesquisas. Brookes e Barfoot (2003) destacam trabalhos envolvendo os vírus RHBV (Rice hoja blanca virus- Vírus da folha branca), RTSV (Rice tungro spherical virus- Vírus do tungro), RYMV (Rice Yellow Mottle virus- Vírus do mosaico amarelo) e RRSV (Rice ragged stund virus- Vírus do enfesamento).

O vírus do nanismo do arroz (RDV) tem provocado sérias quedas de produtividade da cultura na China e no sudoeste asiático. Este vírus é principalmente transmitido por *Nephotettix cincticeps* que é capaz de infectar uma grande quantidade de hospedeiros, incluindo 39 leguminosas e gramíneas (Han et al., 2000). A estratégia utilizada para introduzir genes de resistência a viroses tem sido a inserção de RNA antisense, afetando a replicação do vírus nas plantas. Alguns trabalhos têm procurado adicionar ribozimas catalíticas, juntamente com o gene antisense (DE FEYTER et al., 1996; HAN et al., 2000). Estas ribozimas têm sido utilizadas com sucesso na inativação da replicação do vírus da imunodeficiência, inativação de oncogenes e outros distúrbios em humanos (ZHAO et al., 1993; XIE et al. 1997).

Han et al. (2000) obtiveram 32 linhagens transgênicas de arroz, contendo o gene *Rze* *mRZ* que demonstraram alta resistência viral ou tiveram os sintomas atenuados ao ataque do vírus do nanismo do arroz.

Resistência a estresses

A transformação de arroz irrigado com o gene *mtID* (manitol-1-

fosfato desidrogenase) (TARCZYNSKI et al., 1992), que provoca acúmulo de manitol, possibilitou aumento da capacidade de ajustamento osmótico, permitindo às plantas transformadas uma maior tolerância aos estresses, por exemplo ao frio e à salinidade.

Estresses abióticos, tais como seca, representam fatores dos mais restritivos à produtividade agrícola (Capell et al., 2004). A engenharia genética em combinação com os métodos tradicionais de melhoramento, tem sido utilizada como estratégia para obtenção de plantas tolerantes, sendo buscada através da manipulação do metabolismo da poliamina. Poliaminas são pequenos compostos nitrogenados envolvidos na resposta das plantas a estresses (BAJAJ et al., 1999). A ligação entre a poliamina e os estresses tem sido vinculada aos níveis de putrescina. Elevados níveis de putrescina podem ser devido a uma resposta de proteção das plantas a alguns estresses (REGGIANI et al., 1993). O conteúdo de poliaminas em plantas tem sido modulado através da engenharia genética pela superexpressão da arginina descarboxilase (*adc*), ornitina descarboxilase (*odc*) e pela S-adenosilmetionina descarboxilase (*samdc*) (TRUNG-NGHIA et al., 2003). Capell et al, (2004) regeneraram 50 linhas transgênicas de arroz contendo o gene *Ubi:Dacd* observando significativo aumento (2 a 4 vezes maior) de putrescina na maioria das plantas transformadas quando comparadas com as não transformadas.

Tem sido demonstrado que a trealose, um açúcar não redutor, pode ser um potencial componente envolvido no mecanismo de tolerância a estresses abióticos, funcionando como soluto na estabilização da osmose das estruturas celulares. Garg et al.(2002) obtiveram plantas de arroz transgênico superexpressando a biossíntese da trealose através da fusão de genes *otsA* e *otsB* oriundos de *Escherichia coli*, onde, dependendo das condições de crescimento, os transgênicos de arroz acumularam níveis 3-10 vezes maiores que as testemunhas não transgênicas. Além disto, observaram que os aumentos na acumulação de trealose foram correlacionados

com maiores níveis de carboidratos solúveis e uma maior capacidade fotossintética, tanto em condições de estresses ou não, consistente com o papel sugerido do açúcar na modulação do metabolismo dos carboidratos.

Produtividade

A elevação da produtividade requer um aumento nas taxas fotossintéticas, sendo a manipulação genética deste processo a chave para este ganho (MANN, 1999; HORTON, 2000).

Espécies C_4 possuem uma série de atributos anatômicos e fisiológicos que as caracterizam como plantas mais resistentes a estresses ambientais, mais produtivas e mais eficientes do que as C_3 . O arroz é uma gramínea C_3 , com anatomia foliar bem parecida com gramíneas C_4 , mas com diferenças que a impedem de realizar o metabolismo C_4 . A possibilidade de se transformar genótipos de arroz para atuarem metabolicamente semelhante às gramíneas C_4 , poderia resultar em materiais com taxas fotossintéticas superiores às taxas de 40 - 50 $\text{mgCO}_2\text{dm}^{-2}\text{h}^{-1}$, encontradas por Yoshida (1981) para as cultivares atuais, resultando em materiais mais adaptados ao estresse ambiental e mais produtivos. Após o sucesso da Revolução Verde, a produtividade do arroz mantém-se estagnada (DAWE, 1999).

Plantas transgênicas de arroz superexpressando o gene *PEPC* (fosfoenolpiruvato carboxilase) extraído do milho (planta C_4) apresentaram uma maior taxa fotossintética (acima de 30%) e uma menor inibição da fotossíntese provocada pelo acúmulo de O_2 (KU et al., 1999) do que aquelas não transformadas. De maneira similar, plantas transgênicas de arroz têm expressado a enzima ortofosfato dikinase (PPDK) também oriunda do milho (gene *Pdk*), aumentando significativamente a taxa fotossintética do arroz.

A transgenia em arroz também tem sido utilizada para aumento de produtividade via indireta na produção de plantas macho-

estéreis, desta forma aproveitando a heterose expressa entre os pais (VIRMANI, 1996). A dificuldade para emascular as plantas autógamas, provavelmente tenha sido a maior barreira para a utilização da heterose em plantas que possuem exclusivamente este modo de reprodução. A macho esterilidade reversível é um caráter agrônomico desejável para a produção de híbridos. Quando uma planta não pode autofertilizar, a produção de híbridos é facilitada, assim como os custos de produção são significativamente menores. A introdução de genes de RNase de *Aspergillus oryzae* (RNase T1) e *Bacillus amyloliquefasciens* (*Barnase*) sobre o controle de promotor de expressão em células do tapetum de antera, conferiu macho esterilidade a tabaco e *Brassica napus*. Esta manipulação previne a formação de pólen, mas não interfere com a embriogênese, se o pólen vem de outra planta (MARIANI et al, 1990). O promotor específico de grão de pólen parece funcionar em outras espécies, possibilitando, assim, que esta característica seja aplicada em outras plantas. Além disto, a macho-esterilidade pode ser inativada pela expressão de um segundo gene heterólogo *barstar* que restaura a fertilidade (MARIANI et al, 1992).

Um dos caracteres agrônomicos importantes que contribuem para a produtividade da cultura do arroz é o número de dias da emergência ao florescimento, interferindo diretamente no ciclo das cultivares. O desenvolvimento de cultivares mais precoces é um dos objetivos dos programas de melhoramento de arroz para regiões onde se tenha uma curta estação de cultivo, ou devido à pouca disponibilidade de água ou ao ataque de pragas e doenças (LAURIE, 1997). Plantas de arroz GM foram obtidas utilizando gene *LEAFY* de *Arabidopsis*, visando o controle do florescimento, as quais apresentaram uma precocidade de 26-34 dias, a menos que as cultivares não transgênicas, porém acompanhada pela redução na produtividade dos genótipos (HI et al., 2000).

Qualidade nutricional

A engenharia genética também tem sido utilizada como uma ferramenta para melhorar nutricionalmente as plantas, aumentando a concentração, sobretudo, de vitaminas e aminoácidos essenciais (ARAGÃO, 2004). O potencial para melhorar a qualidade nutricional dos alimentos, através da engenharia genética, via regulação da biossíntese e armazenamento de nutrientes ou outros componentes de planta já foi demonstrado (YAN e KERR, 2002), e continua sendo uma das áreas de pesquisa em maior crescimento.

Vitamina A

O mundo científico aguardava esperançosamente por um produto desenvolvido pela engenharia genética que não pudesse ser alvo de questionamentos, tais como dependência de insumos químicos, favorecimento a grandes corporações, a grandes produtores, que não fossem ao encontro da agricultura auto-sustentável e com forte interesse comercial. Finalmente, em 2000, o Instituto Suíço de Ciência Vegetal, em Zurique, lançou a variedade transgênica "arroz dourado" (Golden Rice). O produto é assim chamado pela sua coloração dourada do endosperma, graças ao acúmulo do beta-caroteno (KRYDER, et al., 2000). "Golden rice" rapidamente conquistou a simpatia da sociedade e atraiu a atenção da mídia internacional (NASH, 2000). Esta variedade foi resultado do trabalho conjunto de pesquisadores suíços e alemães, sob o patrocínio da Fundação Rockefeller, Comunidade Européia e do Instituto Tecnológico da Suíça. O "Golden Rice" consiste em plantas de arroz que apresentam elevados teores de β -caroteno, precursor da vitamina A. Esta variedade de arroz foi desenvolvida para ajudar a combater a cegueira decorrente da deficiência de vitamina A, problema especialmente crítico em Países em desenvolvimento na África (YE et al., 2000).

A vitamina A é essencial para crianças e gestantes. Ao redor do mundo, cerca de 134 milhões de crianças apresentam doenças

relacionadas pela falta de vitamina A, sendo que, a cada ano, 2 milhões de crianças com idade abaixo de 5 anos morrem por deficiência desta vitamina (KRYDER, et al., 2000).

A obtenção do produto Golden Rice™ foi muito complexa. Rendeu mais de 15 direitos de propriedade e aproximadamente 70 patentes estão envolvidas no seu desenvolvimento. Muito desta complexidade deve-se ao fato do produto ser originado de uma multi-transformação na qual três genes/enzimas (phytoene synthase, desaturase phytoene, e lycopene cyclase) foram introduzidas na regulação da rota metabólica deste carotenóide. Isto requereu três vetores de transformação (*pBin19hpc*, *pZPsc*, e *pZLcyH*) junto com a aplicação e uso de muitos outros processos e componentes (por exemplo, co-transformação mediada por *Agrobacterium*). A enzima fitoteno sintase é codificada pelo gene *psy*, isolado de *Narcissus pseudonarcissus*, enquanto que a enzima fitoeno desaturase é codificada pelo gene *crtl* isolado de *Erwinia uredovora* (YE et al., 2000). A enzima licopeno ciclase é codificada pelo gene *lcy* isolado de *Narcissus pseudonarcissus*.

Ferro

Os produtores sempre têm dado mais preferência para cultivar variedades de arroz produtivas, com alta qualidade de grãos, do que aquelas ricas em micronutrientes (AHLOOWALIA e MALUSZYNSKI, 2002).

Os cereais são importantes componentes da dieta da maioria da população mundial, no entanto são deficientes em muitos nutrientes minerais essenciais, tais como o ferro, sendo que o arroz contém apenas 0,2-2,8 mg de ferro por 100g (DRAKAKAKI et al., 2000). Desta forma, apresenta-se como um importante alvo em estratégias de engenharia genética visando alterar o metabolismo de ferro e conseqüente aumento do seu conteúdo nos tecidos. Muitas proteínas contêm ferro, tais como globulinas, citocromos, ferredoxinas, nitrogenases e ribonucleases. Contudo, a ferritina é a mais importante proteína

de reserva encontrada em todos os organismos vivos (RAGLAND et al., 1993).

A deficiência por ferro é no mundo a maior desordem nutricional e afeta cerca de 5 bilhões de pessoas em países desenvolvidos e em desenvolvimento, provocando como consequência anemia (AHLOOWALIA e MALUSZYNSKI, 2002). Cerca de 39% de crianças em idade pré-escolar e 52% de mulheres grávidas são anêmicas, sendo que mais de 90% destas vivem em países em desenvolvimento.

Goto et al. (1999) regeneraram plantas transgênicas de arroz expressando ferritina da soja com o promotor semente-específico *Glu-B1*. Os resultados demonstraram um acúmulo de ferro cerca de 3 vezes mais nas sementes transgênicas do que naquelas não transformadas. Aumentos nos níveis de ferro também foram encontrados em sementes transgênicas de arroz expressando ferritina de ervilha, utilizando o promotor *Gt-1* (LUCCA et al., 2001).

Drakakaki et al. (2000) introduziram o gene *pSF1* e demonstraram ser possível a acumulação de altos níveis de ferritina em tecido vegetativo de arroz, utilizando promotor constitutivo ubiquitina-1 de milho, no entanto não encontraram diferença significativa nos conteúdos de ferro nas sementes.

Amido

A produtividade de arroz tem sido aumentada muitas vezes nos últimos anos, especialmente na China, porém com uma baixa qualidade de cocção e análises sensoriais, relacionada principalmente com estas cultivares altamente produtivas e com os híbridos, tornando-se um grande problema na produção de arroz (LIU et al., 2003). O amido é o maior carboidrato de reserva do endosperma do arroz, sendo constituído por dois distintos componentes: amilose e amilopectina. Do total de amido do endosperma, de 0 a 30 % é formado de amilose e 70 a 100% de amilopectina (MARTIN e SMITH, 1995).

O conteúdo de amilose varia entre as cultivares de arroz, sendo geralmente de 20-30% para as índicas e de 15 a 22% para as do grupo japônica, sendo esta relação a chave para a cocção e padrões sensoriais associados à qualidade do arroz, onde altos níveis de amilose propiciam grãos soltos após cozimento (JULIANO, 1985).

A biossíntese do amido no endosperma, através da adenosina difosfato (ADP)-glicose, consiste em três reações enzimáticas catalizadas respectivamente pela ADP-glicose pirfosforilase, amido sintase e branching enzyme (PREISS et al., 1991). A síntese da amilose é catalizada pela proteína GBSS (granule-bound starch synthase) a qual é codificada pelo locus *Waxy* (*Wx*) em arroz (OKAGAKI e WESSLER, 1988).

Evidências têm indicado que a estratégia do RNA antisense é eficiente caminho capaz de alterar a expressão do gene (KROL e STUTJE, 1988; MÜLLER-RÖBER et al., 1992). Liu et al. (2003) observaram eficiente transformação de arroz utilizando o gene antisense *Wx*, tanto em cultivares índicas como em japônicas, com redução do conteúdo de amilose do endosperma, sendo que várias destas linhas transgênicas apresentaram reduzido conteúdo de amilose (menos de 2%- altamente glutinoso). Esta característica adicionada satisfaz a exigência do mercado asiático, onde se encontra mais de 90% do arroz mundial produzido e consumido (KRYDER, 2000). No Brasil, a preferência é por materiais não glutinosos.

Dode et al. (1999) obtiveram sucesso na transformação de genótipos de arroz Bengal e Pusa Basmati-1, utilizando vetores de expressão contendo sequências de cDNA da enzima de ramificação do amido de arroz (RBEI) em orientação senso (*pALD3*) e antisenso (*pALD4*), bem como enzima de ramificação do amido de ervilha SBEI (*pALD1*) e SEBII (*pALD2*).

A avaliação dos riscos e Impactos ao meio ambiente

A avaliação dos riscos e impactos ao meio ambiente do uso em larga escala de organismos geneticamente modificados (OGMs) ou transgênicos deve se basear em boas práticas científicas e em uma abordagem multidisciplinar. As implicações econômicas, sociais e éticas também devem ser avaliadas em conjunto com a análise de riscos ambientais. Entre os alertas mais frequentes sobre os possíveis riscos ao meio ambiente decorrentes do cultivo ou liberação de plantas transgênicas estão (1) a geração de novas pragas e plantas daninhas; (2) o aumento do efeito das pragas já existentes, por meio da recombinação gênica entre a planta transgênica e espécies filogeneticamente relacionadas; (3) os danos a espécies não-alvos; (4) a alteração drástica na dinâmica das comunidades bióticas, levando à perda de recursos genéticos valiosos, seguido da contaminação gênica de espécies nativas, que introduziria nestas, características originadas de parentes distantes ou até de espécies não relacionadas; (5) os efeitos adversos em processos ecológicos nos ecossistemas; (6) a produção de substâncias tóxicas após a degradação incompleta de produtos químicos perigosos codificados pelos genes modificados e (7) a perda de biodiversidade (NODARI e GUERRA, 2004). No entanto, graças a estudos científicos detalhados antes da liberação comercial de OGMs, estas possíveis situações não foram observadas, o que comprova que a legislação tem sido rígida no controle destas modificações genéticas. Para se ter uma idéia, são gastos muito mais recursos nos estudos de impacto ambiental e de segurança alimentar de plantas geneticamente modificadas do que com a obtenção desta transformação. Desta forma, tem-se minimizado os possíveis riscos que poderiam advir da técnica.

Dentro deste contexto, o fato mais importante a ser abordado, capaz de provocar estes possíveis e indesejáveis impactos no ambiente, é o fluxo gênico. Entre os riscos ambientais, a transferência dos transgenes por cruzamentos sexuais, já

constatada em várias situações, é considerada hoje uma das ameaças mais sérias. Espécies que adquirirem certos transgenes poderão dessa forma alterar seu valor adaptativo e, em consequência, a dinâmica de suas populações. Portanto, Nodari e Guerra (2004) salientam que se devem levar em conta as características dos genes inseridos e as implicações do uso em larga escala dos organismos modificados.

Relatos da literatura sugerem que a frequência de polinização cruzada natural entre plantas do gênero *Oryza* é variável e pode chegar, em condições normais, até 5%, e que o índice é diretamente dependente da coincidência no estágio de florescimento e da proximidade entre a fonte doadora e receptora de pólen (MAGALHÃES JR. et al., 2001b). Nedel et al. (1998) e Magalhães Jr. et al. (2004) descrevem que na maioria das cultivares de arroz a liberação do grão de pólen verifica-se antes da antese e, por essa razão, a taxa de alogamia é muito baixa (menos de 1%).

No Brasil, o primeiro estudo de campo teve como objetivo determinar a distância de dispersão de pólen e taxa de fecundação cruzada entre genótipos modificados geneticamente para resistência ao glufosinato de amônia e seus parentais não transgênicos (MAGALHÃES JR. et al., 2001b). O trabalho foi conduzido no município de Rio Grande (RS), na área experimental da ex-Aventis Seeds do Brasil, incorporada pela Bayer CropScience. Nestes ensaios foram utilizados os seguintes genótipos: linhagem ABR-15 contendo o gene *bar* (derivada da cultivar BR-IRGA-410); linhagem LLRice62 contendo o gene *bar* (derivada da cultivar Bengal); cultivar BR IRGA 410 e cultivar Bengal. As sub-parcelas das plantas receptoras de pólen foram locadas ao longo do eixo bissetriz de cada quadrante, nas distâncias (raio) de 0, 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 metros a partir do centro (parcela com plantas doadoras de pólen). Por tratar-se de plantas doadoras de pólen, portando o gene marcador, dominante e em homozigose, a susceptibilidade (plantas autofecundadas: S1) ou resistência (plantas híbridas: F1) ao herbicida permite determinar com

simplicidade e segurança a taxa de cruzamento, sua frequência e sua curva de ocorrência, submetendo-se as amostras ao tratamento com o produto. Neste sentido, foram coletadas amostras de plantas receptoras de pólen de plantas geneticamente modificadas de quatro quadrantes. A reação ao tratamento herbicida, controlado pela presença ou ausência do gene bar, ocorre tanto em plântulas pulverizadas com solução de glufosinato de amônia, como em sementes postas a germinar em meio contendo o herbicida. Para total confiabilidade do método, ambas estratégias foram aplicadas. Primeiramente, as sementes foram submetidas ao teste de germinação em substrato contendo glufosinato de amônia, segundo protocolo estabelecido e validado por Magalhães Jr. et al. (2000). Os autores observaram que a taxa de cruzamento entre os genótipos de arroz foi muito baixa. Mais de 250.000 sementes foram analisadas e há uma frequência que constantemente se repete, da ordem de 0,1 a 0,04% e que a probabilidade de ocorrência de cruzamento, em havendo perfeita sincronia floral, se dá a uma distância curta (**Figura 1**). Os dados obtidos indicam que, a partir de 5 metros, a possibilidade de ocorrência de cruzamento entre as plantas é mínima. Corroborar este trabalho o isolamento de 3 metros adotado pelas normas de produção de sementes (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 1981).



Figura 1. Taxa de cruzamento natural de arroz GM resistente ao herbicida glufosinato de amônia.

O uso de arroz GM certamente irá provocar impactos no ambiente, assim como qualquer outra nova tecnologia agrícola. O fluxo gênico, da mesma forma, também ocorrerá. O que importa é qual a sua consequência (DAWSON, 2003). Cada caso deverá ser analisado e julgado individualmente. Gealy et al. (2003) sugerem estudos de manejo das plantas de arroz, tais como evitar coincidência floral entre variedades transgênicas e o arroz vermelho, no sentido de evitar o fluxo gênico entre estas.

Outra estratégia que vem sendo desenvolvida pela comunidade científica é a de introduzir genes de resistência a herbicidas em DNA de cloroplastos, evitando assim sua transmissão via fluxo de pólen.

Considerações Finais

As informações apresentadas destacam que há várias características importantes sendo pesquisadas com arroz geneticamente modificado. Algumas destas, beneficiarão de imediato os produtores, como é o caso de resistência a herbicidas, insetos e doenças, e outras beneficiarão os consumidores, como aquelas que visam enriquecimento nutricional do arroz (vitamina A, ferro, teores de amido). De qualquer forma, as possibilidades de incremento de características desejáveis são inúmeras. Não obstante, não se esgota nesta revisão o assunto sobre arroz transgênico, sendo que várias outras pesquisas no mundo têm sido realizadas em diferentes níveis e estágios de desenvolvimento. Destacam-se aquelas em fases mais avançadas e que se encontram em estudos de liberação planejada (**Tabela 2**).

A velocidade com que estes produtos entrarão no mercado irá depender de uma série de fatores, incluindo implicações econômicas (relação custo/benefício), eficiência da pesquisa, aceitação do mercado consumidor, estudos de impactos ambientais, políticas de governos, direitos de propriedade intelectual e industrial, fatores de natureza ética, moral e

religiosa, entre outros.

Tabela 2. Liberação planejada de características em arroz geneticamente modificado.

Característica	Arroz	Cronograma de liberação e probabilidade		
		2004-2005	2006-2008	2009-2012
Resistência a herbicidas	Glifosato	***		
	Glifosinato	***		
Resistência a doenças	Bacteriose (XaZ1)	***		
	Bruçose (quitinase e PR5)	*	**	**
Resistência a vírus	RRBV (vírus do feijão branco)	*	**	**
	RTSV (vírus do tungro)	*	**	***
	RYMV (vírus do mosaico amarelo)		*	**
	RRSV (vírus do enfezamento)		*	**
Resistência a insetos	Cigarrinha		**	***
	Coleópteros	***		
	Lepidópteros (BT)	***		
Nutrição	Vitamina A (phy. cis, lyc)	*	***	
	Ferro (ferritina, TIRAS)	*	***	
	Ferro (IRT1 e IRT2)		**	***
	Proteína de alta qualidade (Asp1)		**	***
Estresse Abiótico	Tolerância ao sal, seca		**	***
Produtividade	NM (linhos híbridos)		**	***
	Conteúdo qualitativo de carboidratos		*	***
	Desenvolvimento do pericarpo		**	***

* 30-50% de probabilidade

** 50-80% de probabilidade

*** >80% de probabilidade

Fonte: Brookes e Barfoot (2003) adaptada pelo autor.

A experiência dos primeiros anos de cultivos de transgênicos no mundo confirma que as expectativas criadas em relação às novas tecnologias vêm sendo cumpridas, beneficiando, com produtos considerados de primeira geração, principalmente os produtores e não tanto os consumidores.

No entanto, a natureza do mercado mundial de arroz tem algumas diferenças em relação aos dois maiores cultivos de transgênicos: soja e milho. A maior parte do arroz é para consumo humano, sendo que a soja e o milho utilizados em sua maior parte como ingredientes na ração animal. O arroz é produzido e consumido basicamente em países de baixa renda, com o consumo em países desenvolvidos respondendo por uma pequena parte da produção total. Inclui-se neste último cenário a Europa, onde se encontram os maiores índices de rejeição dos produtos geneticamente modificados.

Referências

- AHLOOWALIA, B.S.; MALUSZYNSKI M. Breeding for iron-dense rice: a low-cost sustainable approach to reducing iron deficiency anaemia in Asia. *AgBiotechNet*, Gainesville, v. 4, p. 1-4, 2002.
- ARAGÃO, F.J.L. Melhoramento de plantas: o panorama nacional. *Ciência Hoje*, Rio de Janeiro v. 34, n. 203. p. 33-35. 2004.
- AZAMBUJA, I.H.V.; VERNETTI JR., F.J.; MAGALHÃES JR., A.M. de. Aspectos socioeconômicos da produção do arroz. In: GOMES, A. da S.; MAGALHÃES JR. de, A.M. (Ed.). *Arroz irrigado no sul do Brasil*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 143-160 p.
- BAJAJ, S.; TARGOLLI, J.; LIU, L.F.; HO, T.H.D.; WU, R. *Molecular Breeding*, Dordrecht, v. 5, p. 493-503, 1999.

BOBROWSKI, V.L.; FIUZA, L.M.; PASQUALI, G.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. ***Ciência Rural***, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 843-850, 2003.

BROGLIE, K.E.; BIDDLE, P.; CRESSMAN, R.; BROGLIE, R. Functional analysis of DNA sequences responsible for ethylene regulation of a bean chitinase gene in transgenic tobacco. ***Plant Cell***, Rockville, v. 1, p. 599-607, 1989.

BROOKES, G.; BARFOOT, P. GM rice: wil this lead the way for global acceptance of GM crop technology? ISAAA, Briefs n. 28. ISAAA, Ithaca, NY, 2003. 55 p.

CAMARGO, L.M.O.A. Gorgulhos aquáticos do arroz. Caracterização e controle. ***Lavoura Arrozeira***, Porto Alegre, v. 44, n. 395, p. 7-14, 1991.

CAPELL, T.; BASSIE, L.; CHRISTOU, P. Modulation of the polyamine biosynthetic pathway in transgenic rice confers tolerance to drought stress. ***Proceedings of the National Academy of Sciences***, Washington, v. 101, n. 26, p. 9909-9914, 2004.

CASTLE, A.L.; SIEHL, D.L.; GORTON, R.; et al. Discovery and directed evolution of a glyphosate tolerance gene. ***Science***, Washington, v. 304. p. 1151-1154. 2004

CHRISTOU, P. ***Rice biotechnology and genetic engineering***. Lancaster: Technomic Publishing Company, Inc, 1994. 221 p.

D'HALLUIN K.; De BLOCK, M.; JANSSENS, J.; LEEMANS, J.; REYNAERTS, A.; BOTTERMAN, J. The *bar* gene as a selectable marker in plant engineering. ***Methods in Enzymology***, San Diego, v. 216, p. 415-441, 1992.

DAWE, D. The contribution of rice research to poverty alleviation. In: SHEEHY, J.; MITCHELL, P.; HARDY, B. (Ed.). In: ***Redesigning rice photosynthesis to increase yield***. Los Banos, Laguna: IRRI,

1999. p. 1.

DAWSON, H. GM crops, modern agriculture and the environment. **AgBiotechNet**, Gainesville, v. 5, April, ABN 109. Conference Report, p.1-2. 2003. Disponível em: www.cababstractplus.org/cabreviews.asp? Acesso em: 29 nov. 2004.

De BLOCK, M.; BOTTERMAN, J.; VANDERWIELE, M.; DOEKX, J.; THOEN, C.; GOSSELE, V.; RAO, M.; THOMPSON, C.; VAN MONTAGU, M.; LEEMANS, J. Engineering herbicide resistance in plants by expression of detoxifying enzyme. **EMBO Journal**, Oxford, v. 6, p. 2513-2518, 1987.

De FEYTER, R.; YOUNG, M.; SCHROEDER, K.; DENNIS, E.S.; GERLACH, W. A ribozyme gene and an antisense gene are equally effective in conferring resistance to tobacco mosaic virus on transgenic tobacco. **Molecular and General Genetics**, New York, v. 250, p. 329-338, 1996.

DIARRA, A., SMITH Jr., R.J., TALBERT, R.E. Growth and morphological characteristics of red rice (*Oryza sativa*) biotypes. **Weed Science**, Champaign, v. 33, p. 644-649, 1985.

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. **Analís ...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999. p. 27.

DRAKAKAKI, G; CHRISTOU, P; STÖGER, E. Constitutive expression of soybean ferritin cDNA in transgenic wheat and rice results in increased iron levels in vegetative tissues but not in seeds. Netherlands. **Transgenic Research**, Dordrecht, v. 9, p. 445-452, 2000.

FAO – FAOSTAT **database results**. Disponível em: <http://>

apps1.fao.org/servlet. Acesso em: 3 out 2004.

FAUQUET, C.M.; ZHANG, S.; CHEN, L.; MARMEY, P.; DE KOCHKO, A.; BEACHY, R.N.. Biolistic transformation of rice: now efficient and routine for japonica and indica rices. Disponível em: <http://www.irri.org/science/abstracts/pdfs/RGIIIIBiolistic13.pdf>. Acesso em: 7 out 2004.

FERREIRA, E.; MARTINS, J.F.S. Insetos prejudiciais ao arroz no Brasil e seu controle. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, 1984. 67 p. (EMBRAPA/CNPAP. **Documentos**, 11).

FRIZZAS, M. R. **Efeito do milho geneticamente modificado MON810 sobre a comunidade de insetos**. 2003. 102p. Tese (Doutorado em Entomologia) –Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003. 192 p.

GARG, A.K.; KIM, J.K.; OWENS, T.G.; RANWALA, A.P.; CHOI, Y.D.; KOCHIAN, L.V.; WU, R.J. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 99, n. 25, p. 15898–15903, 2002.

GEALY, D.R.; MITTEN, D.H.; J. NEIL RUTGER, J.N. Gene flow between red rice (*Oryza sativa*) and herbicide-resistant rice (*O. sativa*): implications for weed management. **Weed Technology**, Champaign, v. 17, p. 627–645, 2003.

GOTO, F.; YOSHIHARA, T.; SHIGEMOTO, N.; TOKI, S.; TAKAIWA, F. Iron fortification of rice seed by the soybean ferritin gene. **Nature Biotechnology**, New York, v. 17, p. 282–286, 1999.

HAN, S.; WU, Z.; YANG, H.; WANG, R.; YIE, Y.; XIE, L.; TIEN, P. Ribozyme-mediated resistance to rice dwarf virus and the transgene silencing in the progeny of transgenic rice plants. **Transgenic Research**, Dordrecht, v. 9, p. 195–203, 2000.

HE, Z.; ZHU, Q.; DABI, T.; LI, D.; WEIGEL, D.; LAMB, C.

Transformation of rice with the *Arabidopsis* floral regulator *LEAFY* causes early heading. ***Transgenic Research.***, Dordrecht, v. 9, p. 223–227, 2000.

HORTON, P. Prospects for crop improvement through the genetic manipulation of photosynthesis: morphological and biochemical aspects of light capture. ***Journal of Experimental Botany***, Oxford, v. 51, p. 475-485, 2000.

HUANG, J.; WEN, L.; SWEGLE, M.; TRAN, H.; THIN, T.H.; NAYLOR, H.M.; MUTHUKRISHNAN, S.; REECK, G.R. Nucleotide sequence of a rice genomic clone that encodes a class I endochitinase. ***Plant Molecular Biology***, Dordrecht, v. 16, p. 479-480, 1991.

IRRI. **Production and testing of insectresistant transgenic rice plants.** Disponível em: <http://www.irri.org/science/abstracts/pdfs/rgiiproduction20.pdf>. Acesso em: 29 nov. 2004.

JAMES, C. ***Global status of commercialized transgenic crops: 2003.*** Ithaca: Executive Summary, International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications (ISAAA), 2003. 24 p.

JULIANO B.O. Criteria and test for rice grain quality. In: JULIANO B.O. (Ed.). ***Rice Chemistry and Technology.*** St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 1985. p. 443–513.

KROL A.R. VAN DER; STUTJE A.R. Antisense genes in plants: an overview. ***Gene***, Amsterdam, v. 72, p. 45–50, 1988.

KRYDER, R.D.; KOWALSKI, S.P.; KRATTIGER, A.F. ***The intellectual and technical property components of pro-vitamin A rice (GoldenRice™): a preliminary freedom-to-operate review.*** Ithaca: ISAAA, 2000. 56 p. (ISAAA Briefs, 20).

KU, M.S.B.; CHO, D.; RANADE, U.; HSU, T.P.; LI, X.; JIAO, D.M.; EHLERINGER, J. MIYAO, M.; MATSUOKA, M. Photosynthetic performance of transgenic rice plants overexpressing maize C_4 . In: REDESIGNING RICE PHOTOSYNTHESIS TO INCREASE YIELD, 30, 1999, Los Banos. ***Proceedings...*** Laguna: IRRI, 1999. p. 3.

LAURIE, D.A. Comparative genetics of flowering time. *Plant Molecular Biology*, Dordrecht, v. 35, p. 167–177, 1997.

LAH, R.; TOMMERUP, H.; SVENDSEN, I. MUNDY, J. Biochemical and molecular characterization of three barley seed proteins with antifungal properties. *Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, v. 256, p. 1564-1573, 1991.

LEONARD P. GIANESSI, L.P.; SILVERS, C.S.; SANKULA, S.; CARPENTER, J.E. *Plant biotechnology: current and potential impact for improving pest management in U.S. agriculture: an analysis of 40 case studies - herbicide tolerant rice*. Washington: National Center for Food and Agricultural Policy, 2002. 14 p.

LIU, Q.; WANG, Z.; CHEN, X.; CAI, X.; TANG, S.; YU, H.; ZHANG, J.; HONG, M.; GU, M. Stable inheritance of the antisense *Waxy* gene in transgenic rice with reduced amylose level and improved quality. *Transgenic Research*, Dordrecht, v. 12, p. 71–82, 2003.

LIN, W.; ANURATHA, C.S.; DATTA, K.; POTRYKUS, I.; MUTHUKRISHNAN, S.; DATTA, S.K. Genetic engineering of rice for resistance to sheath blight. *Biotechnology*, Riverside, v. 13, p. 686-691, 1995.

LUCCA, P.; HURREL, R.; POTRYKUS, I. Approaches to improving the bioavailability and level of iron in rice seeds. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, W Sussex, v. 81, n. 9, p. 828-834, 2001.

MAGALHÃES JR. A.M. de; TERRES, A.L.; FAGUNDES, P.R.; FRANCO, D.F.; ANDRES, A. *Aspectos genéticos, morfológicos e de desenvolvimento de plantas de arroz irrigado*. In: GOMES, A. da S.; MAGALHÃES JR. de, A.M. (Ed.). **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p.143-160.

MAGALHÃES JR. A.M. de; FAGUNDES, P.R.; FRANCO, D.F. *Melhoramento genético, biotecnologia e cultivares de arroz irrigado*. In: MAGALHÃES JR. de, A.M.; GOMES, A. da S.(Ed.). **Arroz irrigado: melhoramento genético, manejo do solo e da água e prognóstico climático**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2003. p.13-33. (Embrapa Clima Temperado: Documentos, 113).

MAGALHÃES JR. A.M. de; MARTINS J.F.S.; FAGUNDES, P.R.R.; FRANCO, D.F.; MARGIS, R.; MARGIS, M.; CUNHA, U.S.; SILVA, M.P. Obtenção de linhagens transgênicas de arroz irrigado resistentes ao gorgulho-aquático através da engenharia genética. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2 ; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 24., 2001, Porto Alegre. **Anais** ... Porto Alegre: IRGA, 2001a. p. 42-44.

MAGALHÃES JR. A.M. de; ANDRES, A.; FRANCO, D.F.; SILVA, M.P.; ABREU, A.; LUZZARDI, R.; COIMBRA, J. Avaliação do fluxo gênico entre genótipos de arroz transgênico, cultivado e arroz vermelho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2 ; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 24., 2001, Porto Alegre. **Anais** ... Porto Alegre: IRGA, 2001b. p. 768-771.

MAGALHÃES JR. A.M. de; FRANCO, D.F.; ANDRES, A.; ANTUNES, P.; LUZZARDI, R.; DODE, L.B.; TILLMANN, M.A.A.; SILVA, M.P. Método para identificação de sementes de arroz transgênico resistente ao herbicida glufosinato de amônio. **Agropecuária Clima Temperado**, Pelotas, v. 3, n. 1, p. 31-38, 2000.

MANDERS, G., DAVEY, M.R.; POWER, J.B. New genes for old trees. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 43, p. 1181-1190, 1992.

MANN, G.C. Genetic engineers aim to soup up crop photosynthesis. **Science**, Washington, DC, v. 283, p. 314-316. 1999.

MARCHEZAN, E.; ÁVILA, L.A.; ANDRES, A.; MAGALHÃES JR., A.M. de; MACHADO, S.L.O.; PETRINI, J.A. *Controle do arroz vermelho*. In: GOMES, A. da S.; MAGALHÃES JR. de, A.M. **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 547-577.

MARIANI, C.; GOSSELE, V.; BEUCKELEER, M.D. A chimaeric ribonuclease-inhibitor gene restores fertility to male sterile plants. *Nature*, London, v. 357, n. 6377, p. 384-387, 1992.

MARIANI, C.; BEUCKELEER, M.D.; TRUETNER, J.; LEEMANS, J. E GOLDBERG, R.B. Induction of male sterility in plants by a chimaeric ribonuclease gene. *Nature*, London, v.347, n.6295, p.737-741, 1990.

MARTIN, C.; SMITH A.M. Starch biosynthesis. *Plant Cell*, Rockville, v. 7, p. 971–985, 1995.

MARTINS, J.F.S.; FERREIRA, E. *Caracterização e controle da bicheira-da-raiz do arroz*. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP. 1980. 14 p. (EMBRAPA-CNPAP, Circular Técnica, 9).

MENDEL G.. Experiments in plant-hybridization. *Classic Papers in Genetics*. New Jersey: Englewood Cliffs, 1866. 20 p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA - *Legislação da inspeção e fiscalização da produção e do comércio de sementes e mudas*. 3 ed. M.A. Brasília. 1981. 194p.

MÜLLER-RÖBER, B.; SONNEWALD, U.; WILLMITZER, L. Inhibition of the ADP-glucose pyrophosphorylase in transgenic potatoes leads to sugar-strong tubers and influences tuber formation and expression of tuber storage protein genes. *EMBO Journal*, Oxford, v. 11, p. 1229–1238, 1992.

NASH, M. Grains of hope: genetically engineered crops could revolutionize farming. *Time Magazine*, Zurich, July 3. p. 1-7, 2000.

NEDEL, J.L.; ASSIS, F.N. de; CARMONA, P.S. A planta de arroz: morfologia e fisiologia. In: PESKE, S.T.; NEDEL, J.L.; BARROS, A.C.S.A. (Ed.). **Produção de arroz irrigado**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1998. p. 11-66.

NODARI, R.O; GUERRA, M.P. Os impactos ambientais. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro v. 34, n. 203. p. 43-45. 2004.

NUNES, C.D.M.; RIBEIRO, A.S.; TERRES, A.L. *Principais doenças em arroz irrigado e seu controle*. In: GOMES, A. da S.; MAGALHÃES JR. de, A.M. (Ed.). **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 579-621.

OARD, J.H.; LINScombe, S.D.; BRAVERMAN, M.P.; JODARI, F.; BLOUIN, D.C.; LEECH, M.; KOHLI, A.; VAIN, P.; COOLEY, J.C.; CHRISTOU, P. Development, field evaluation, and agronomic performance of transgenic herbicide resistant rice. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 2, p. 359-368, 1996.

OHME-TAKAGI, M.; SHINSHI, H. Structure and expression of a tobacco β -1,3-glucanase gene. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 15, p. 941-946, 1990.

OKAGAKI, R.J.; WESSLER, S.R. Comparison of non-mutant and mutant *waxy* genes in rice and maize. **Genetics**, Baltimore, v. 120, p. 1137-1143, 1988.

PAOLETTI, M.G.; PIMENTEL, D. Environmental risks of pesticides versus genetic engineering for agricultural pest control. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**, Dordrecht, v. 12, p. 279-303, 2000.

POTRYKUS, I.; ARMSTRONG, G.A.; BEYER, P.; BIERI, S.; BURKHARDT, P.K.; DING CHEN, H.; GHOSH BISWAS, G.C.; DATTA, S.K.; FÜTTERER, J.; KLÖTI, A.; SPANGENBERG, G.; TERADA, R.; WÜNN, J.; ZHAO, H. **Transgenic indica rice for the benefit of less developed countries: toward fungal, insect, and**

viral resistance and accumulation of β -carotene in the endosperm. p. 179-187. Disponível em: <http://www.irri.org/science/abstracts/pdfs/RGIIItransgenic15.pdf>. Acesso em: 7 out 2004.

PREISS, J.; BALL, K.; HUTNEY, J.; SMITHWHITE, B.; LI, L.; OKITA, T.W. Regulatory mechanisms involved in the biosynthesis of starch. *Pure and Applied Chemistry*, Oxford, v. 63, n. 4, p. 535-544, 1991.

PULVER, E. Dano econômico ocasionado por arroz vermelho. *Lavoura Arrozeira*, Porto Alegre, v. 39, n. 20-23, set./out. 1986.

RAGLAND, M.; THEIL, E. Ferritin (mRNA, protein) and iron concentrations during soybean nodule development. *Plant Molecular Biology*, Dordrecht, v. 21, p. 555-560, 1993.

REGGIANI, R.; AURISANO, N.; MATTANA, M.; BERTANI, A. *Journal of Plant Physiology*, Jena, Germany, v. 142, p. 94-98, 1993.

SANKULA, S., BRAVERMAN, M. P., AND LINScombe, S. D., Response of *bar* transformed rice (*Oryza sativa*) and red rice (*Oryza sativa*) to glufosinate application timing. *Weed Technology*, Champaign, v. 11, n. 2, p. 303-307, 1997.

SHELTON, A.M.; ZHAO, J.-Z.; ROUSH, R.T. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of *Bt* transgenic plants. *Annual Review of Entomology*, Palo Alto, n. 47, p. 845-881, 2003.

SINGH, N.K.; NELSON, D.E.; KUHN, D.; HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A. Molecular cloning of osmotin and regulation of its expression by ABA and adaptation to low water potential. *Plant Physiology*, Rockville, v. 90, p. 1096-1101, 1989.

SMITH Jr., R.J., Control of red rice (*Oryza sativa* L.) in water-seeded rice (*Oryza sativa* L.). *Weed Science*, Champaign, v. 29, p. 663-666, 1981.

SOUZA, P.R.; FISHER, M.M. Arroz vermelho: danos causados à lavoura gaúcha. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 15, Porto Alegre, 1986. *Anais...* Porto Alegre: IRGA, 1986. p. 169-173.

TARCZYNSKI, M.C.; JENSEN, R.G.; BOHNERT, H.J. Expression of a bacterial *mtlD* gene in transgenic tobacco leads to product and accumulation of mannitol. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, DC, v. 89, p. 2600-2604, 1992.

THOMPSON, C.J.; MOVVA, N.R.; TIZARD, R.; CRAMERI, R.; DAVIES, J.E.; LAUWEREYS, M.; BOTTERMAN, J. Characterization of the herbicide-resistance gene *bar* from *Streptomyces-hygroscopicus*. *EMBO Journal*, Oxford, v. 6, p. 2519-2523, 1987.

TINJUANGJUN, P. Snowdrop lectin gene in transgenic plants: its potential for Asian agriculture. *AgBiotechNet*, Gainesville, v. 4, p. 1-6, 2002.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. v. 2. Brasília, DF: Embrapa-SPI: Embrapa-CNPQ, 1999. p. 843.

TRUNG-NGHIA, P.; BASSIE, L.; SAFWAT, G.; THU-HANG, P.; LEPRI, O.; ROCHA, P.; CHRISTOU, P.; CAPELL, T. *Planta*, New York, v. 218, p. 125-134, 2003.

VIEIRA, L.G.E. Organismos geneticamente modificados: uma tecnologia controversa. *Ciência Hoje*, Rio de Janeiro, v. 34, n. 203. p. 28-32, 2004.

VIRMANI, S. S. Hybrid rice. *Advance Agronomy*, San Diego, v. 57, p. 377-462, 1996.

WINDELS, P.; TAVERNIERS, I.; DEPICKER, A.; VAN BOCKSTAELE, E.; De LOOSE, M. Characterization of the Roundup Ready soybean insert. *European Food Research and Technology*, New

York, v. 213, p. 107-112, 2001.

XIE, Y.; CHEN, X.; AGNER, T.E. A ribozyme-mediated gene knockdown strategy for the identification of gene function in zebrafish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 94, p. 13777–13781, 1997.

YAN, L.; KERR, P.S. Genetically engineered crops: Their potential use for improvement of human nutrition. *Nutrition Reviews*, Lawrence, v. 60, p. 135–141, 2002.

YE, X.D.; AL-BABILI, S.; KLÖTI, A.; ZHANG, J.; LUCCA, P.; BEYER, P.; POTRYKUS, I. Engineering the Provitamin A (betacarotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science*, Washington, v. 287, p. 303-305, 2000.

YOSHIDA, S. *Fundamentals of rice crop science*. Manila: The International Rice Research Institute, 1981. 269 p.

ZHAO, J.J.; PICK, L. Generating loss-of-function phenotypes of the malignant phenotype of the *fushi tarazu* gene with a targeted ribozyme in *Drosophila*. *Nature*, London, v. 365, p. 448–451, 1993.