

PROCESSO DE HIBRIDAÇÃO ARTIFICIAL EM SOJA ATRAVÉS DO FLUXO GÊNICO DE VARIEDADES CONVENCIONAIS, E RR2 BT TRANSGÊNICA E ANÁLISE DO F₁.

LIMA, Laércio José¹
BOCKLER, Karin Kristina pereira²

RESUMO:

O melhoramento de plantas é um processo que permite o desenvolvimento de novas variedades competitivas no mercado. Na soja, a hibridação é totalmente necessária, pois pela planta ser autógama é necessário combinar variedades através de cruzamentos antes da fase de antese, onde as anteras irão liberar pólen sobre o estigma da mesma flor onde ocorrerá auto fecundação. Este trabalho avaliou o fluxo gênico em soja de variedades convencionais das cultivares; 15CA00120, 15CA00125, 15CA00132, 15CA00144, doadores de pólen, (fêmeas), sensíveis ao glifosato Zapp QI 620.00 g/L (62% m/v) (herbicida), e cultivares transgênico (RR2 BT), 15CA50012, 15CA50022, 15CA50034, 15CA50046, receptores de pólen (machos), que são resistentes ao glifosato e que possuem a bactéria *Bacillus thuringiensis*. Todas as progênies foram semeadas e transplantadas no seu estado vegetativo-reprodutivo. Foi realizada a taxa de fecundação cruzada nas cultivares, sendo obtido um número de (F₁), sementes resultantes dos cruzamentos, as quais (F₁), foram plantadas e submetidas ao teste de resistência à aplicação do defensivo químico glifosato. Por fim, avaliaram-se as cultivares F₁, resultado dos cruzamentos, que se tornaram resistentes, 15CA5001, 15CA5006, 15CA5011, 15CA5012, 15CA5013, 15CA5014 e 15CA5015, sendo estes materiais com 100% de eficácia.

PALAVRAS-CHAVE:

Hibridização. Progênies. Tolerância. F₁.

INTRODUÇÃO

Glycine Max (L.) Merr, a soja pertence à família Fabaceae, advinda originalmente da China, expandiu seu cultivo para América do Norte, Europa e América do Sul. Do século XIX, data a primeira referência registrada de semeadura de soja no Brasil, no ano de 1882. Na década de 60 no século XX, a utilização da cultura começou adquirir uma grande importância econômica no país, iniciada na região Sul, (URBEN e SOUZA, 1993), descrevem o aumento da produção e a rápida expansão de área de cultivo, desde o Sul do país até o Cerrado, o que leva o país para o segundo maior produtor de soja do mundo, atrás apenas dos Estados Unidos, porém com grande capacidade de expansão.

¹academico: Laércio Jose De Lima

² Prof, orientadora msc: Karin Kristina Pereira Bockler

A elevada produção de soja, na região Centro-oeste está relacionada às condições climáticas, expansão da área cultivada, e aos avanços tecnológicos. Atualmente são cultivados aproximadamente 12 milhões de ha (CONAB, 2012).

A hibridação em soja promove o desenvolvimento de novas variedades, cuja importância está associada ao fluxo gênico, ou seja, uma troca de alelos em indivíduos ou populações, para se obter novas variedades favoráveis ao produtor, gerando menos gastos em aplicações de defensivos e combate a pragas a qual a soja é afetada. Ao considerar a escala evolutiva, o fluxo gênico é responsável por unir as populações dentro das espécies, introduzirem variabilidade dentro das populações, e também pela criação de novas espécies. No entanto, é prioridade o conhecimento da transferência de gene, o que compromete a morfologia da flor, tipos de pubescência e altura das mesmas, dessa forma, há uma orientação das empresas produtoras de sementes geneticamente modificadas, quanto à legislação no manejo integrado adequado (SCHUSTER, 2013).

Os transgênicos representam uma nova era para a agricultura pelo potencial fornecimento de alimentos para o planeta. O sucesso em um programa de melhoramento depende fundamentalmente da existência de uma variabilidade genética que permite um melhor processo seletivo e poderá resultar em ganhos significativos (SCHUSTER, 2013).

Nesse contexto, o programa de hibridação artificial, que requer o melhoramento genético, visa ter um bom enriquecimento na descoberta de novas variedades e comportamentos que estas apresentam no combate a pragas e a resistência ao glifosato, essas características podem resultar em melhor desempenho do manejo das áreas de plantio, possibilitando um menor custo, com baixas perdas de produção e, em decorrência disso, a favorecer um aumento de produção e resultando em uma lavoura estável (SCHUSTER, 2007).

É importante ressaltar o conhecimento da hibridização, pois nos mostra a relação da influência entre a expressão de outros caracteres, e em um programa de melhoramento genético visa um caráter principal, e busca uma melhor expressão de caracteres simultaneamente, envolvendo as análises qualitativas e quantitativas (DE ALMEIDA LOPES *et al*, 2002).

Nesse programa de hibridação, as modificações podem ocorrer na magnitude em sentidos variados, isso depende das estratégias adotadas. Sendo assim o melhorista condiciona atribuições importantes como identificação e critérios de seleção os quais

promovem alterações, no sentido desejado, em características do interesse de um programa de melhoramento (DOS REIS *et al*, 2004).

Ao longo do tempo, os insetos têm sido os maiores causadores de danos no que diz respeito à produção de alimentos, sendo a ordem de 20 a 30% da produção mundial e estima-se que 67.000 espécies de insetos acometem prejuízos nas plantações nas regiões tropicais, sendo as mais pobres do mundo, as que mais sofrem com grande impacto de insetos e pragas (HERRERA E ESTRELLA, 1999).

Bacillus thuringiensis é uma bactéria de gram-positiva sendo entomopatogênica, aeróbica ou também facultativamente anaeróbica, essa bactéria é normalmente encontrada no solo e pode manter-se em latência e na forma de endósporos, durante a fase de esporulação. A bactéria, por ela mesma, sintetiza proteínas acumulando-se na periferia dos esporos em forma de cristais em um dos pólos da célula. A prática do emprego de plantas geneticamente modificadas BT, nos permite uma grande redução aos danos causados nas lavouras por insetos e pragas e redução no uso de pesticidas químicos. Isso visa um aumento da produção de alimentos de alta qualidade, tendo baixos custos aos produtos e consumidores, o qual também reduz o impacto ambiental (BOBROWSKI, *et al*, 2003).

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a transferência dos genes RR2 BT através da hibridação artificial, em cultivares convencional, onde a progênie F₁ se torna resistente à aplicação do glifosato Zapp QI 620.00 g/L (62% m/v) (herbicida) e, a partir das variedades resultantes dos cruzamentos, verificar se há um possível melhoramento em que a planta demonstra ser tolerante a produtos químicos e combater pragas e doenças e Reduzindo principalmente os impacto ambientais devido a grandes aplicações de defensivos químicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O procedimento foi realizado no mês dezembro no ano de 2015, em casa de vegetação e no campo. Todas as variedades pertencem à empresa Syngenta Seeds LTDA, no Centro de Pesquisa de Cascavel-PR. As cultivares possuíam características diferentes entre si conforme seu desenvolvimento, como cor de hilo, cor da flor, pubescência, altura da planta e variedades mais precoces e tardias.

A partir disso, foram efetuados plantios escalonados dessas cultivares em três épocas, nos dias 13, 20 e 27 de dezembro de 2015. O plantio foi efetuado em bandejas de isopor conforme na figura 1 e transplantado, contendo duas plantas por vaso após germinação. Todas as amostras foram armazenadas em casa de vegetação com irrigação diária em um horário escalonado das 08: h às 08 h 20 min e das 15: h às 15 h 20 min, em um sistema de gotejo.

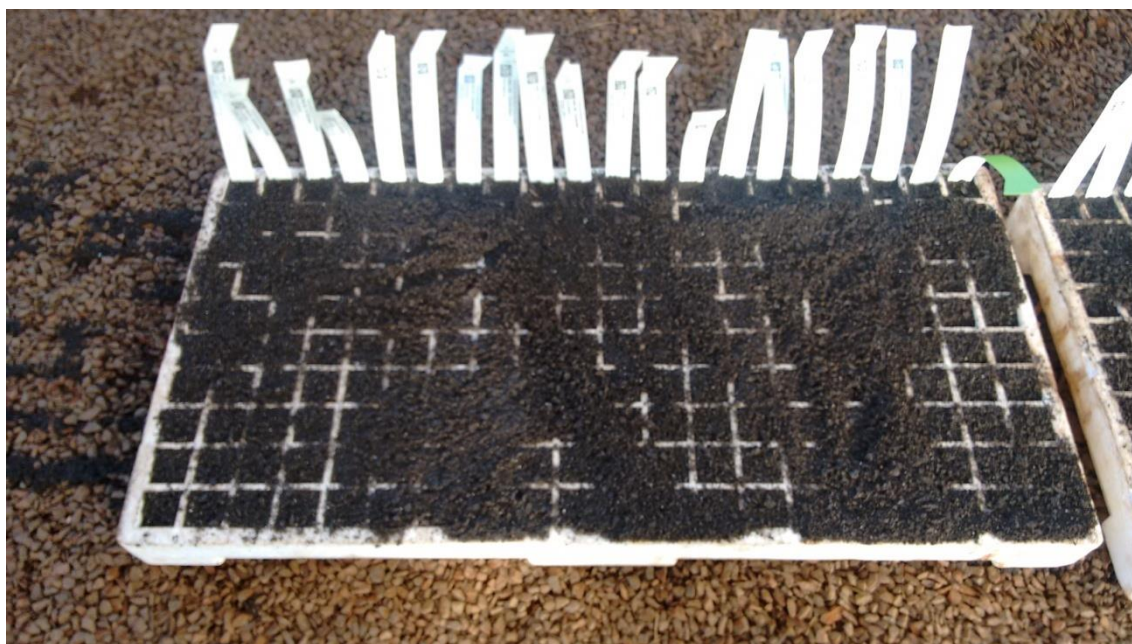


Figura 1 – Plantio do F₁ em bandejas de isopor com substrato.

Emasculação

Inicialmente, com o auxílio de uma pinça de ponta fina, foram retiradas todas as outras flores abertas e os botões florais menos desenvolvidos de cada racemo. Deixando apenas o mais apto ao cruzamento. O suporte do botão floral selecionado se deu com o polegar e o indicador, mas sem pressioná-lo. Em seguida, cada sépala foi presa com a pinça, sendo removida com movimentos para baixo e/ou para os lados, repetiu-se o procedimento com todas as sépalas, deixando a corola totalmente exposta. As anteras foram removidas com a pinça, restando apenas o estigma. As amostras receberam etiquetas de plástico para a identificação de cada cruzamento e lupa com aumento de 10 vezes.



Figura 2 – emasculação

Polinização

Após o término da emasculação, o estigma ficou totalmente exposto para receber o pólen (figura 3). Nesta operação procedeu-se a remoção dos estames da flor masculina e a deposição do pólen no estigma da flor emasculada. Os estames foram retirados com a pinça fechada, introduzindo na parte posterior da flor e separando as duas quilhas.

Os estames expostos foram removidos, juntamente com o pistilo e pincelados delicadamente sobre o estigma da flor emasculada, depositando o pólen sobre ele.



Figura 3 – Polinização.

Procedimentos

Foram separados quatro cultivares convencionais de variedades diferentes e sensíveis ao glifosato, sendo estas: 15C00120, 15C00125, 15C00132, 15C00144, que foram cruzadas com as outras quantias de variedades diferentes nas cultivares transgênicos RR2 BT: 15CA50012, 15CA50022, 15CA50034, 15CA50046, resistentes ao glifosato e que possuíam a bactéria *Bacillus Thuringiensis*, produtora de proteínas e cristais tóxicos a muitas espécies de insetos.

Baseado nas técnicas de hibridação, o fluxo gênico nas variedades convencionais foram os machos doadores de pólen, e as variedades transgênicas RR2 BT foram os receptores de pólen, ou seja, as fêmeas. No período de germinação e desenvolvimento da planta, a soja possui estágio de período reprodutivo (R1; R2), que apresenta a forma ideal a realizar o cruzamento. Após um período de 10 a 14 dias, as plantas atingiram o estágio de formação das sementes (R4; R5), quando foi realizado o processo de limpeza das vagens, ficando apenas as vagens que estavam identificadas com a etiqueta de plástico presa ao racimo principal da planta.

Chegando ao estágio (R8; R9), foi conduzida a colheita do F₁. Baseando-se nas formas morfológicas da vagem, identificaram-se as vagens corretas, de acordo com a cicatriz no local onde foram retiradas as sépalas, na fase de florescimento.

No decorrer do processo, as vagens resultantes dos cruzamentos foram colhidas e passaram por uma debulha. A semente debulhada foi novamente plantada como linhagens de F₁ em bandejas de isopor contendo substrato, após a germinação e desenvolvimento das plantas, no estágio vegetativo (v3), segunda folha trifoliada completamente desenvolvida.

Essas plantas passaram por um teste de resistência ao ser aplicado o produto químico glifosato Zapp QI 620.00 g/L (62% m/v) (herbicida), que é utilizado no combate às plantas daninhas. As plantas resistentes foram retiradas das bandejas e transplantadas em vasos contendo terra e adubo para seu desenvolvimento.

Chegando ao estágio (R1), foram adicionadas lagartas da soja em cada planta germinada como: *Anticarsia Gemmatalis*, na densidade de 5 insetos/m², assim as linhagens foram avaliadas em função da sua resistência ao glifosato e à presença da bactéria, *Bacillus Thuringiensis*.

Delineamento experimental

O experimento utilizado foi o delineamento inteiramente casualizado, montado em esquema fatorial 2x4, sendo que os dois fatores foram as variedades de fêmeas e de machos por 4 níveis, que são as variedades, conforme descrito na Tabela 1. Os cruzamentos foram definidos de modo em que todas as variedades de fêmeas fossem cruzadas com todas as variedades de machos. Dessa forma, os tratamentos são expressos pelos cruzamentos, totalizando 16 tratamentos (4 machos x 4 fêmeas) e 25 repetições por tratamento. As plantas, machos e fêmeas que foram alocadas em cada tratamento, definidas aleatoriamente.

Tabela 1-Tratamentos aplicados

F₁	Fêmeas convencionais	Machos RR2 BT
15CA5001	15CA00120	15CA50012
15CA5002	15CA00120	15CA50022
15CA5003	15CA00120	15CA50034
15CA5004	15CA00120	15CA50046
15CA5005	15CA00125	15CA50012
15CA5006	15CA00125	15CA50022
15CA5007	15CA00125	15CA50034
15CA5008	15CA00125	15CA50046
15CA5009	15CA00132	15CA50012
15CA5010	15CA00132	15CA50022
15CA5011	15CA00132	15CA50034
15CA5012	15CA00132	15CA50046
15CA5013	15CA00144	15CA50012
15CA5014	15CA00144	15CA50022
15CA5015	15CA00144	15CA50034
15CA5016	15CA00144	15CA50046

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A etapa de cruzamento foi avaliada em função do número de flores efetivamente fecundadas e do número de sementes produzidas. Os resultados dos cruzamentos foi apresentados na Figura 4. Observa-se que os cruzamentos que obtiveram maior sucesso,

tanto em relação à fecundação, como em relação à produção de sementes, foram os cruzamentos: 15CA5010, obtendo-se 13 vagens com flores fecundadas e 17 sementes híbridas, seguidos de 15CA5009, 15CA5004 e 15CA5013, com 10, 11 e 8 vagens, e 15, 14 e 14 sementes híbridas produzidas respectivamente. O cruzamento que obteve uma menor fecundação de flor e produção de semente híbrida foi o cruzamento 15CA5014, obtendo 1vagem fecundada, e 2 sementes híbridas.

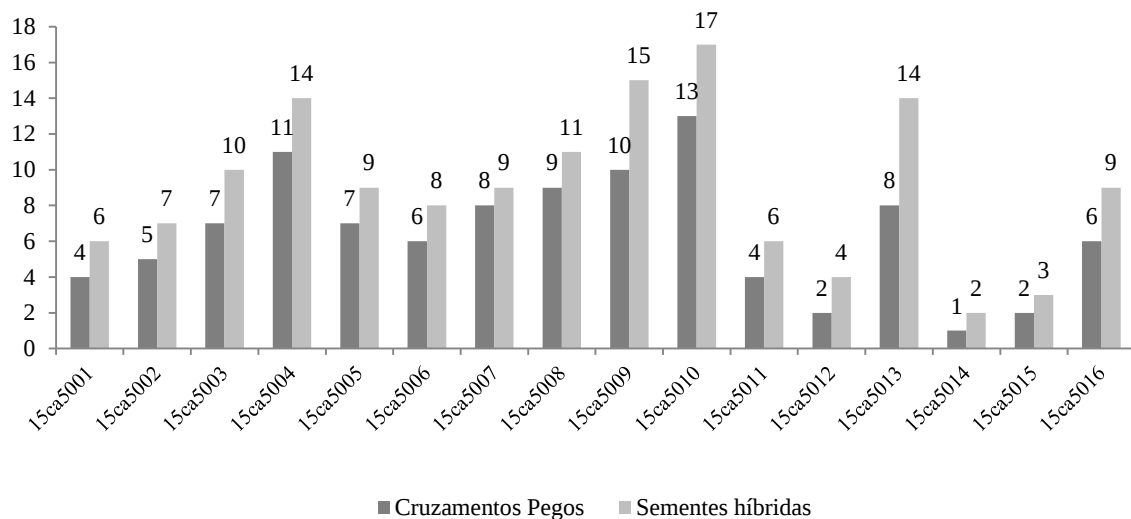


Figura 4-Número de plantas com flores efetivamente fecundadas com relação ao número de F_1 , sementes híbridas produzidas.

Na Figura 5 (a), o maior número de cruzamentos bem-sucedidos para as variedades fêmeas transgênicas 15CA50012 = 10 cruzamentos fecundados e para 15CA50022 = 13 cruzamentos pegos, foram obtidos com o cultivar convencionais macho15CA00132. Para os machos do cultivar 15CA00125 obteve-se o maior número de pegas com as fêmeas de 15CA50034 = 07 cruzamentos pegos e para as fêmeas de 15CA50046 = 11 cruzamentos pegos, com os machos de 15CA00120. Os resultados obtidos para a produção de sementes apresentam a mesma distribuição de freqüência dos cruzamentos pegos (c).

Com relação às fêmeas (b), os melhores resultados de polinizações bem-sucedidas foram observados para os machos das cultivares convencionais 15CA00120 com 14 sementes híbridas F_1 e 15CA00125 com 11 sementes híbridas F_1 para as fêmeas do cultivar 15CA50046. Para os machos de 15CA00132 e 15CA00144 foram observados os melhores resultados com as fêmeas de 15CA50022 com 17 sementes híbridas F_1 e 15CA50012 com 14 sementes híbridas F_1 , respectivamente. O resultado

obtido para a produção de sementes apresenta distribuição de frequência semelhante à distribuição dos resultados dos cruzamentos pegos (d).

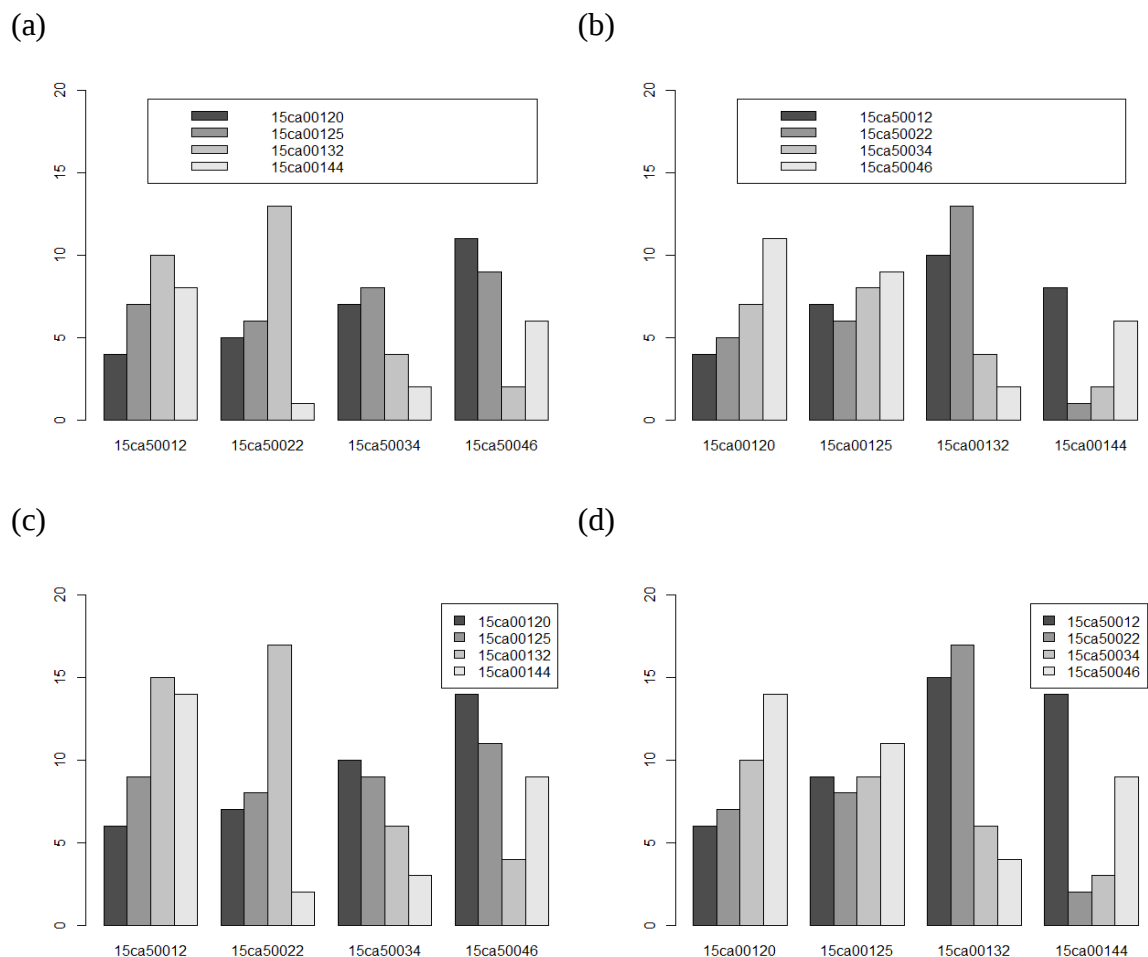


Figura 5 - Distribuição de frequência de cruzamentos pegos por variedade de macho (a) e por variedade de fêmea (b) e da produção de sementes híbridas por variedade de macho (c) e por variedade de fêmea (d)

Os dados absolutos para avaliação das características de F_1 com relação à sensibilidade ao glifosato podem ser observados na Figura 6.

As plantas emitem sintomas após aplicação do glifosato sob um efeito de amarelecimento dos meristemas, ocorrendo a necrose e morte das mesmas, por dias ou semanas. Estes herbicidas vão sendo usados de forma não seletiva, nesse caso com os adventos de organismos que são geneticamente modificados, ou seja, por intervenção

humana. Eles passam por uma opção de enriquecer o controle de ervas daninhas das culturas de soja, ou entre outras, que acometem a lavoura (BORÉM e ALUÍZIO 1999).

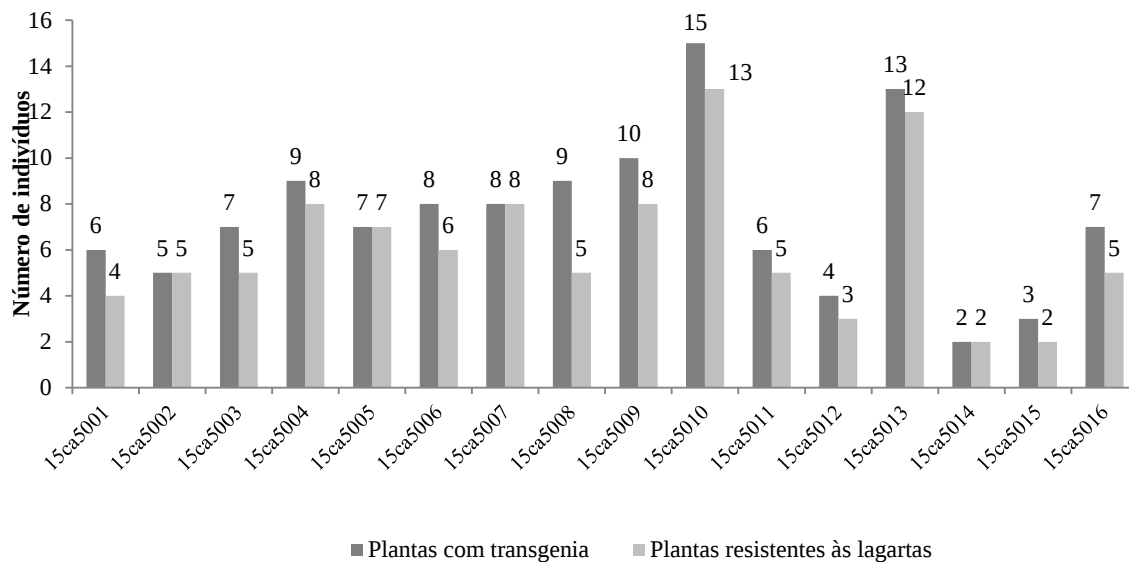


Figura 7- Características de F_1 em resistência pós aplicação do glifosato e resistência à lagarta.

A resistência das plantas com relação à aplicação do glifosato e à lagarta da soja *A. gemmatilis*, foi obtida a partir do cruzamento 15CA5010, onde os valores obtidos foram de 15 plantas apresentando transgenia e 13 plantas com resistência à lagarta, e o cruzamento 15CA5014 obteve outro melhor resultado, obtendo valores de 2 plantas F_1 , com resistência a lagartas e transgenia.

Nesse caso, a soja BT é a que expressa a proteína Cry 1 Ac de *B.thuringiensis*, aprovada no Brasil, (BERNARDI *et al.* 2012), diz que a soja pode expressar uma concentração suficiente a qual pode causar morte instantânea de heterozigotos de *A. gemmatilis*, (lagarta da soja).

Na Figura 8 são apresentados os resultados das características de F_1 expressas em % em relação ao número de plantas por tratamento.

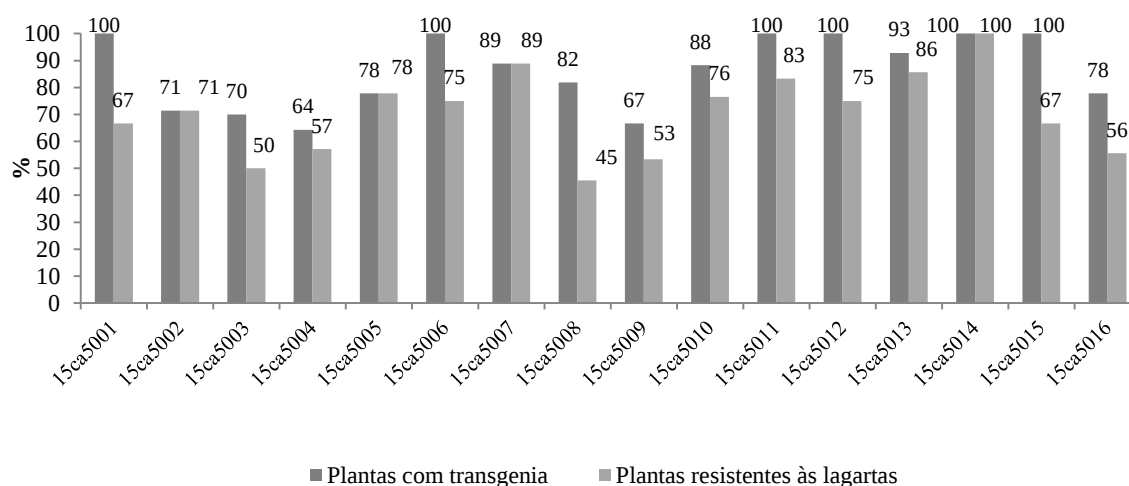


Figura 8 - Características de F_1 expressas em percentual em relação ao número de sementes plantadas

Verifica-se que os cruzamentos 15CA5001, 15CA5006, 15CA5011, 15CA5012, 15CA5013, 15CA5014 e 15CA5015, obtiveram desempenho com relação a transgenia, obtendo 100% das características de F_1 expressas na planta.

Em verificação de amostras de sementes com transgenia contendo sementes de cultivares convencional, erros de falso-negativo e falso-positivo podem ocorrer, discute-se que ambos podem surgir de interpretações equivocadas, porque as amostras de plantas transgênicas apresentam plantas anormais. (PEREIRA, *et al*, 2009).

Já para a resistência à lagarta, o cruzamento 15CA5014 obteve 100% de defesa contra essa praga. Isso mostra que o cruzamento que obteve melhor resultado em relação às aplicações, foi o material 15CA5014, sendo mais viável sua utilização. No entanto, o tratamento 15CA5010 obteve um dos melhores resultados em relação ao número de sementes obtidas de F_1 com 17 sementes híbridas, ocasionando 2 mortes de plantas e 88% em relação à confirmação de transgenia com 15 sementes, em relação à resistência ao ataque de lagartas, ocasionou 2 impactos por planta, restando 76% com 13 plantas resistentes, quando avaliado em função do número total de plantas, em percentual.

A distribuição de frequências de plantas transgênicas e de plantas resistentes às lagartas pode ser observada na Figura 9.

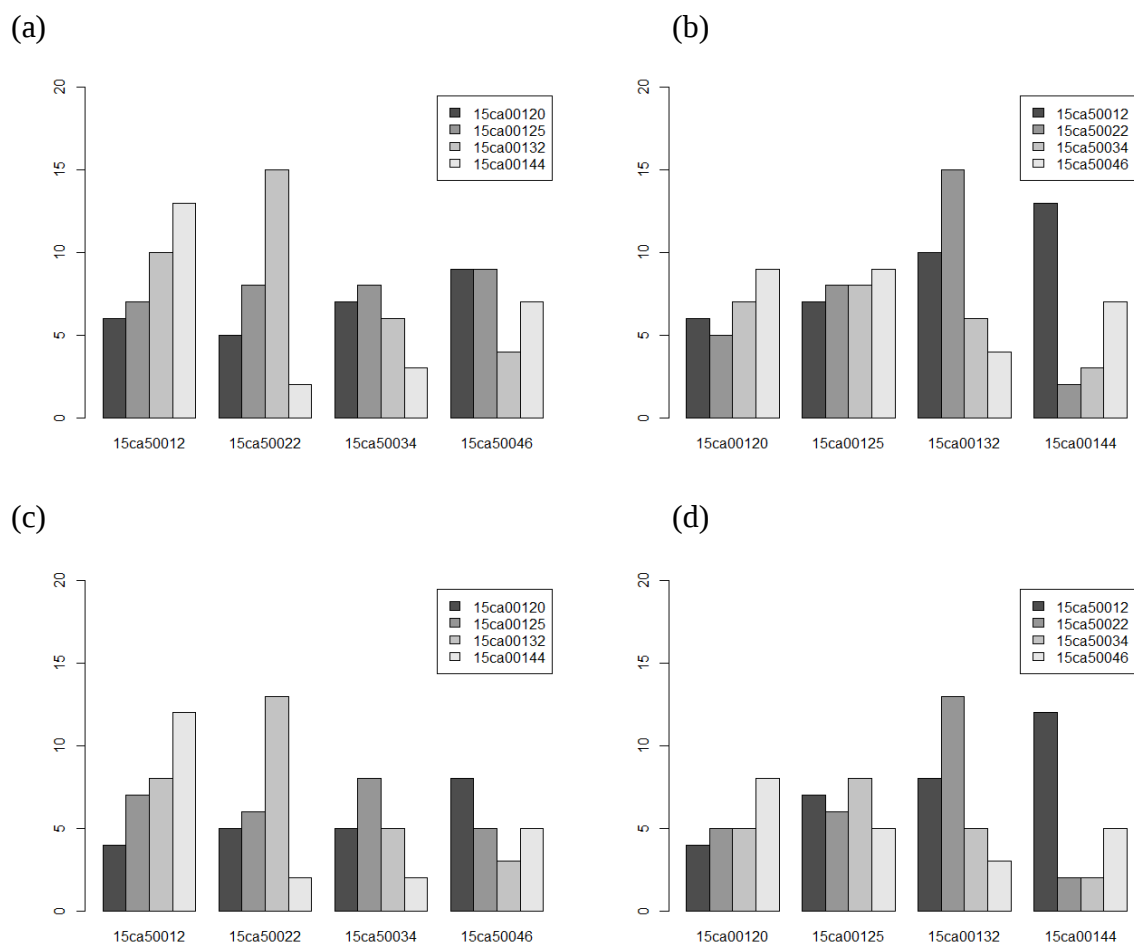


Figura 9 - Distribuição de frequências de plantas transgênicas por variedade de macho (a) e por variedade de fêmea (b) e de plantas resistentes às lagartas por variedade de macho (c) e por variedade de fêmea (d)

CONCLUSÃO

Através de um programa de hibridação artificial, pode-se concluir que os cruzamentos feitos manualmente podem, sim, gerar lucros para quem utiliza essa leguminosa para a agricultura, pois o cruzamento que obteve maior número de F_1 foi o material, 15CA5010, resultado da interação entre o cruzamento 15CA00132 (macho) com a 15CA5022 (fêmea) com 17 sementes híbridas. Já na aplicação do defensivo químico glifosato, Zapp QI 620.00 g/L (62% m/v) (herbicida), os materiais F_1 foram mais suscetíveis. Na pós aplicação deste, foi 15CA5001, 15CA5006, 15CA5011, 15CA5012, 15CA5013, 15CA5014 e 15CA5015, sendo estas com 100% de eficácia, sem morte de plantas. Já na avaliação da *Anticarsia Gemmatilis*, (lagarta da soja), ocorreu pouco impacto, ocasionando poucas mortes de plantas. Já o material 15CA5014 trouxe o melhor resultado, pois não sofreu nenhum impacto. Esses materiais foram os

que apresentaram melhor estabilidade fisiológica, e que também possivelmente são materiais que podem ser lançados para o mercado e com isso o agricultor pode ter sua lavoura estável e diminuindo a aplicação de defensivos químicos os quais tornam um grande impacto ambiental .

Percebe-se, também, que os procedimentos realizados a temperaturas entre 20 e 23 °C, no período das 10 às 12h, o que aumenta as chances de fertilização dos cruzamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORÉM, Aluizio; SOJA, A. **Escape Gênico**. Revista de Biotecnologia, Brasília, DF, n. 10, p. 101-107, 1999.

BOBROWSKI, Vera Lucia *et al.* Genes de *Bacillus thuringiensis*: **uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas**. Ciência Rural, v. 34, n. 1, p. 843-850, 2003.

BERNARDI, O. **Avaliação do risco de resistência de lepidópteros-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 x MON 89788 no Brasil**. 2012. 116 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, Piracicaba, 2012.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, primeiro levantamento, outubro 2012** / P. 2-36, 2012.

DE ALMEIDA LOPES, Ângela Celis *et al.* **Variabilidade e correlações entre caracteres em cruzamentos de soja**. Scientia agrícola, v. 59, n. 2, p. 341-348, 2002

DOS REIS, Edésio Fialho *et al.* **Comparação de procedimentos de seleção para produção de grãos em populações de soja**. Ciência Rural, v. 34, n. 3, p. 685-692, 2004.

HERRERA-ESTRELLA, L. **Transgenic plants for tropical regions: Some consideration about their development and their transfer to the small farmer**. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, Washington, v.96, p.5978-5981, 1999.

PEREIRA, WELISON ANDRADE *et al.* **Ajuste de metodologias para a identificação de cultivares de soja quanto à tolerância ao glifosato**. Revista Brasileira de Sementes, v. 31, n. 3, p. 000-000, 2009.

SCHUSTER, Ivan *et al.* **Fluxo gênico em soja na Região Oeste do Paraná**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 42, n. 4, p. 515-520, 2007.

SCHUSTER, I. **Fluxo gênico e coexistência de lavouras com espécies transgênicas e convencionais**, abrates, vol.23, nº.1, P.39-45, 2013.

URBEN F., G, SOUZA.M. I. P. **"Manejo da cultura da soja sob Cerrado: época, densidade e profundidade de semeadura;[Manejo del cultivo de la soya en los Cerrados: época, densidad y profundidad de siembra].[Soybean crop management in Cerrado region: planting date, stand and depth of sowing]."** p. 267-298.(1993).

ANEXO A - TERMO DE COMPROMISSO DO PROFESSOR ORIENTADOR
DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Eu, Karin Kristina Raure Bähler

professor (a) do Curso de Graduação em Ciências Biológicas desta Instituição, declaro,
para os devidos fins, estar de acordo em assumir a orientação do Trabalho de Conclusão

de Curso do (a) aluno (a) Laercio Josi de Lima

habilitação Botânica e que apresenta, como título provisório:

Fluxo genico de variedades de soja trans-
genico e analise do F1

Cascavel, 08 de agosto de 2016

Karin K. P. Bähler
Nome legível do orientador

Karin K. P. Bähler
Assinatura do orientador

Laercio Josi de Lima
Nome legível do aluno

Laercio Josi de Lima
Assinatura do aluno

**ANEXO B - TERMO DE COMPROMISSO DO ALUNO ORIENTADO DO
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO.**

Eu, Laercio José de Lima
Carteira de identidade número 6330432-6, aluno regularmente matriculado no
curso de graduação de Ciências Biológicas da Faculdade Assis Gurgacz - FAG, sob
registro acadêmico número 201311376 declaro estar ciente das regras definidas
pelo colegiado do curso de Ciências Biológicas para o processo de realização do
trabalho de conclusão de curso, cumprindo, assim os créditos da disciplina: Trabalho de
Conclusão de Curso.

Declaro ainda que me comprometo a cumprir rigorosamente os prazos definidos
para entrega das diversas etapas do trabalho, bem como a estar em todos os encontros
previstos com o professor orientador.

Professor orientador: Profª Kristina Pires Ballu

Título provisório:

Fluxo gênico de variedades de soja trans-
gênicas e análise do F1

Cascavel, 08 de agosto de 2016

Laercio José de Lima
Nome legível do aluno

Laercio José de Lima
Assinatura do aluno

ANEXO C - PROTOCOLO DE CONCORDÂNCIA DO ORIENTADOR COM
A ENTREGA DO PROJETO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO À
COORDENAÇÃO DO TCC

Eu, professor (a) Karin Kristina Pucke Beller

declaro que estou ciente e aprovo a entrega do projeto de TCC intitulado:

Fluxo gênico de variedades de soja
transgênicas e análise de F1

_____ pelo (a) aluno (a)

Laercio José de Lima

em 08 de

agosto de 20 16 para fins de registro na COOPEX.

Laercio José de Lima
Assinatura do aluno

Karin Kristina Pucke Beller
Assinatura do orientador

ANEXO D – ACOMPANHAMENTO DAS ORIENTAÇÕES DE TCC

Acadêmico: Laercio Josi de Lima RA: 201311376
Orientador: _____ Período: 8º

Data	Atividades desenvolvidas	Assinatura do aluno	Assinatura do orientador
29/08	correção	Laercio Josi	
12/08	correção	Laercio Josi	
19/08	correção	Laercio Josi	
26/08	correção	Laercio Josi	
10/09	correção	Laercio Josi	
17/09	correção	Laercio Josi	
19/09	correção	Laercio Josi	
03/10	correção	Laercio Josi	
10/10	correção	Laercio Josi	
17/10	correção	Laercio Josi	
20/10	correção	Laercio Josi	
24/10	correção	Laercio Josi	
26/10	correção	Laercio Josi	

Assinaturado Orientador: _____

Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG

Avenida das Torres, 500 – Loteamento Fag
Cep: 85806-095 Cascavel – Pr
Telefone: (45) 3321-3900 Fax: (45) 3321-3902

ANEXO E – DECLARAÇÃO DE REVISÃO ORTOGRÁFICA E GRAMATICAL
DO TCC

Eu, Nelvi Malokowsky Algeri, RG 38706098, CPF 58817751987, e-mail nelvi_ma@hotmail.com, telefone (45)99426383, declaro para os devidos fins que realizei a correção ortográfica e gramatical do artigo intitulado PROCESSO DE HIBRIDAÇÃO ARTIFICIAL EM SOJA ATRAVÉS DO FLUXO GÊNICO DE VARIEDADES CONVENCIONAIS, E RR2 BT TRANSGÊNICA E ANÁLISE DO F1, de autoria de Laércio Jose de Lima, acadêmico regularmente matriculado no Curso de Ciências Biológicas Bacharel da Faculdade Assis Gurgacz.

Por ser verdade, firmo o presente documento.

Cascavel, 29 de outubro de 2015.



Nome, assinatura e carimbo profissional revisor.



Nome e assinatura do acadêmico

Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG

Avenida das Torres, 500 – Loteamento Fag
Cep: 85806-095 Cascavel – Pr
Telefone: (45) 3321-3900 Fax: (45) 3321-3902

ANEXO F – DECLARAÇÃO DE INESISTÊNCIA DE PLÁGIO

Laércio Jose de lima

**PROCESSO DE HIBRIDAÇÃO ARTIFICIAL EM SOJA ATRAVÉS DO FLUXO
GÊNICO DE VARIEDADES CONVENCIONAIS, E RR2 BT TRANSGÊNICA E
ANÁLISE DO F1.**

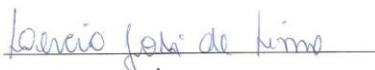
Eu Laércio Jose de lima, aluno(a) da Graduação de Ciências Biológicas, da Faculdade Assis Gurgacz, declaro, para os devidos fins, que o Trabalho de Conclusão de Curso apresentado em anexo, requisito necessário à obtenção do grau de Bacharel Ciências Biológicas, encontra-se plenamente em conformidade com os critérios técnicos, acadêmicos e científicos de originalidade. Declaro ainda que, com exceção das citações diretas e indiretas claramente indicadas e referenciadas, este trabalho foi escrito por mim e portanto não contém plágio, fato este que pode ser comprovado pelo relatório do DOCXWEB que se encontra junto a este documento. Eu estou consciente que a utilização de material de terceiros incluindo uso de paráfrase sem a devida indicação das fontes será considerado plágio, e estará sujeito à processo administrativos da FAG - Faculdade Assis Gurgacz e sanções legais.

Cascavel, 29 de Outubro de 2015.



**NOME DO PROFESSOR
ORIENTADOR**

RG: 5.596.064-0 /SSPPR
CPF: 875.821.559-04



NOME DO ACADÊMICO

RA: 201311376
RG: 10330432-6

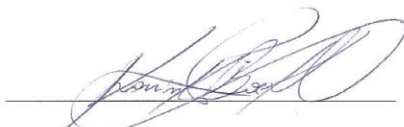
Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG

Avenida das Torres, 500 – Loteamento Fag
Cep: 85806-095 Cascavel – Pr
Telefone: (45) 3321-3900 Fax: (45) 3321-3902

**ANEXO G - AUTORIZAÇÃO PARA ENCAMINHAMENTO DO TCC PARA
DEFESA**

Eu, Professor (a) Karin kristina Pereira Bockler, docente do curso de Ciências Biológicas, orientador do acadêmico Laércio Jose de lima, na elaboração do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado: Processo de hibridação artificial em soja através do fluxo gênico de variedades convencionais, e rr2 bt transgênica e análise do fl, declaro estar de acordo com o envio do trabalho sob minha orientação para avaliação da banca e defesa pública.

Cascavel 31 de outubro de 20116.



NOME DO PROFESSOR ORIENTADOR

RG: 5.596.064-0 /SSPPR

CPF: 875.821.559-04

Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG

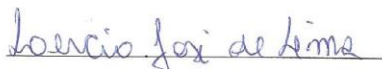
Avenida das Torres, 500 – Loteamento Fag
Cep: 85806-095 Cascavel – Pr
Telefone: (45) 3321-3900 Fax: (45) 3321-3902

**ANEXO H – SOLICITAÇÃO DE COMPOSIÇÃO DE BANCA DE DEFESA DE
TCC**

Eu, acadêmico (a) Laércio Jose de lima, juntamente com meu professor(a) orientador(a) Karin Kristina Pereira Bockler, docente do curso de Ciências Biológicas, viemos por meio deste solicitar a composição da banca de defesa pública do Trabalho de Conclusão de curso intitulado PROCESSO DE HIBRIDAÇÃO ARTIFICIAL EM SOJA ATRAVÉS DO FLUXO GÊNICO DE VARIEDADES CONVENCIONAIS, E RR2 BT TRANSGÊNICA E ANALISE DO F1 , com os professores citados abaixo:

Karin Kristina Pereira Bockler	Orientador
Patrícia Galvão	Titular
	Titular
	Suplente

Cascavel 08 de outubro de 2016.

	
NOME DO PROFESSOR ORIENTADOR	NOME DO ACADÊMICO
RG: 5.596.041-0SSPP	RA: 20.131.1376
CPF: 875.821.559-04	RG: 30330432-6

Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG

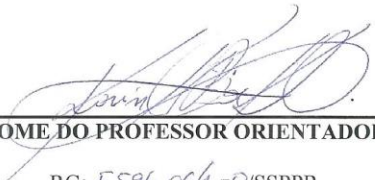
Avenida das Torres, 500 – Loteamento Fag
Cep: 85806-095 Cascavel – Pr
Telefone: (45) 3321-3900 Fax: (45) 3321-3902

**ANEXO I - AUTORIZAÇÃO PARA ENCAMINHAMENTO DO TCC PARA
PUBLICAÇÃO (opcional)**

Eu, Professor (a) Karin Kristina Pereira Bockler, docente do curso de Ciências Biológicas, orientador do acadêmico Laércio Jose de lima, na elaboração do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado: PROCESSO DE HIBRIDAÇÃO ARTIFICIAL EM SOJA ATRAVÉS DO FLUXO GÊNICO DE VARIEDADES CONVENCIONAIS, E RR2 BT TRANSGÊNICA E ANÁLISE DO F1.

declaro estar de acordo com o envio do trabalho sob minha orientação para publicação no (a)

Cascavel 31 de outubro de 2016.



NOME DO PROFESSOR ORIENTADOR

RG: 5.596.064 -0/SSPPR

CPF: 875 821 559-09

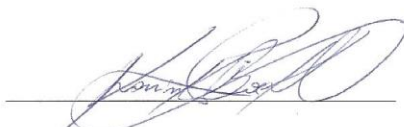
Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG

Avenida das Torres, 500 – Loteamento Fag
Cep: 85806-095 Cascavel – Pr
Telefone: (45) 3321-3900 Fax: (45) 3321-3902

**ANEXO G - AUTORIZAÇÃO PARA ENCAMINHAMENTO DO TCC PARA
DEFESA**

Eu, Professor (a) Karin kristina Pereira Bockler, docente do curso de Ciências Biológicas, orientador do acadêmico Laércio Jose de lima, na elaboração do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado: Processo de hibridação artificial em soja através do fluxo gênico de variedades convencionais, e rr2 bt transgênica e análise do fl, declaro estar de acordo com o envio do trabalho sob minha orientação para avaliação da banca e defesa pública.

Cascavel 31 de outubro de 20116.



NOME DO PROFESSOR ORIENTADOR

RG: 5.596.064-0 /SSPPR

CPF: 875.821.559-04

Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG

Avenida das Torres, 500 – Loteamento Fag
Cep: 85806-095 Cascavel – Pr
Telefone: (45) 3321-3900 Fax: (45) 3321-3902

Título: PROCESSO DE HIBRIDAÇÃO ARTIFICIAL EM SOJA ATRAVÉS
Data: Oct 27, 2016 11:41:00 PM

Autenticidade em relação a INTERNET

Autenticidade Calculada: **97 %**

Autenticidade Total: 82 %

Ocorrência de Links

Ocorrência	Link
1%	http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0103-84782003000500008

Texto Pesquisado

RESUMO:

O melhoramento de plantas é um processo que permite o desenvolvimento de novas variedades competitivas no mercado. Na soja, a hibridação **é totalmente necessária, pois pela** planta ser autógama é necessário combinar variedades através de cruzamentos antes da fase de antese, onde as anteras irão liberar pólen **sobre o estigma da mesma flor onde ocorrerá auto-fecundação. Este trabalho vai** avaliar o fluxo gênico em soja de variedades convencionais das cultivares; 15C00120, 15C00125, 15C00132, 15C00144, doadores de pólen, (fêmeas), sensíveis ao glifosato Zapp QI 620.00 g/L (62% m/v) (herbicida), e cultivares transgênicas (RR2 BT), 15C50012, 15C50022, 15C50034, 15C50046, receptores de pólen (machos), que são resistentes ao glifosato e que possuem a bactéria *Bacillus thuringiensis*. Todas as progênies foram semeadas e transplantadas no seu estado vegetativo-reprodutivo. Foi realizada **a taxa de fecundação cruzada nas** cultivares, sendo obtido um número de (F1), sementes resultantes dos cruzamentos, **as quais (F1), foram plantadas e submetidas** ao teste de resistência **à aplicação do defensivo químico** glifosato. Por fim, avaliaram-se as cultivares F1, resultado dos cruzamentos, que se tornaram resistentes, 15ca5001, 15ca5006, 15ca5011, 15ca5012, 15ca5013, 15ca5014 e 15ca5015, sendo estes materiais com **100% de eficácia.**

PALAVRAS-CHAVE:

Hibridização. Progênies. Tolerância. F1.

INTRODUÇÃO

Os transgênicos representam uma nova era para a agricultura pelo potencial fornecimento de alimentos para o planeta. O sucesso em um programa **de melhoramento depende fundamentalmente da existência de uma variabilidade** genética que permite um melhor processo seletivo e poderá resultar em ganhos significativos. (SCHUSTER2013).

(Glycine Max (L.) Merr.), a soja pertence à família Fabaceae, advinda originalmente da China, expandiu seu cultivo para América **do Norte, Europa e América do Sul.** Do século XIX, data a primeira referência registrada de semeadura de soja **no Brasil, no ano de 1882. Na década** de 60 no século XX, a utilização da cultura começou a adquirir **uma grande importância econômica** no país, iniciada na região Sul. Urban, Filho e Souza (1993), descrevem **o aumento da produção e a rápida expansão** de área de cultivo, **desde o Sul do país até o Cerrado,** o que leva o país **para o segundo maior produtor de** soja do mundo, **atrás apenas dos Estados Unidos,** porém com grande capacidade de expansão.

A elevada **produção de soja, na região Centro-oeste** está relacionada às **condições climáticas,** expansão da área cultivada, e aos **avanços tecnológicos.** Atualmente são cultivados **aproximadamente 12 milhões de ha** (CONAB, 2012).

Em 2015, a plantação das áreas foi **de 30,7% de toneladas, bem maior do** que de acordo com o crescimento de 7,2% da estimativa da safra de 2014 (IBGE, 2014).

A hibridação em soja promove o desenvolvimento de novas variedades, cuja importância está associada ao fluxo gênico, ou seja, uma troca de alelos em indivíduos ou populações, para se obter novas variedades favoráveis ao produtor, gerando menos gastos em aplicações de defensivos e combate a pragas a qual a soja é afetada. Ao considerar a escala **evolutiva, o fluxo gênico é responsável** por unir as populações dentro das espécies, introduzirem **variabilidade dentro das populações,** e também pela criação de novas espécies. No entanto, é prioridade o conhecimento da transferência de gene, o que compromete a morfologia da flor, tipos de pubescência e altura das mesmas, dessa forma, há uma orientação **das empresas produtoras de sementes geneticamente** modificadas, quanto à legislação no manejo integrado adequado (SCHUSTER, 2013).

Nesse contexto, o programa de hibridação artificial, que requer o melhoramento genético, visa ter um bom enriquecimento **na descoberta de novas variedades** e comportamentos que estas apresentam no combate a pragas e a **resistência ao glifosato, essas características** podem resultar em

melhor desempenho do manejo das áreas de plantio, possibilitando um menor custo, com baixas perdas **de produção e, em decorrência disso**, a favorecer um aumento de produção **e resultando em uma lavoura estável**. (SCHUSTER, 2007).

É importante ressaltar o seu **conhecimento, pois nos mostra a relação** da influência entre a expressão de outros caracteres, e em **um programa de melhoramento genético** visa um caráter principal, e busca uma melhor expressão de caracteres simultaneamente, envolvendo **as análises qualitativas e quantitativas** (ALMEIDA et al, 2002).

Nesse programa, **as modificações podem ocorrer na** magnitude em sentidos variados, **isso depende das estratégias adotadas**. Sendo assim o melhorista condiciona atribuições importantes como **identificação e critérios de seleção os quais promovem alterações, no** sentido desejado, em características do interesse **de um programa de melhoramento (DOS REIS et al, 2004)**.

Ao longo do tempo, os insetos **têm sido os maiores causadores de** danos no que **diz a respeito à produção de alimentos**, sendo a ordem de 20 a 30% da produção mundial e estima-se que 67.000 espécies de insetos acometem prejuízos nas plantações nas regiões tropicais, sendo **as mais pobres do mundo, as que mais sofrem** com grande impacto de insetos e pragas (HERRERA-ESTRELLA, 1999).

Bacillus thuringiensis é uma bactéria de gram-positiva sendo entomopatogênica, aeróbica ou também facultativamente anaeróbica, essa bactéria é normalmente encontrada no solo e pode manter-se em latência e na forma de endósporos, durante a fase de esporulação. A bactéria, por ela mesma, sintetiza proteínas **acumulando-se na periferia dos esporos em forma de cristais em um dos pólos da célula**. **A prática do emprego de plantas** geneticamente modificadas BT, nos permite uma grande redução aos danos causados nas lavouras por insetos e pragas **e redução no uso de pesticidas químicos**. Isso visa um aumento **da produção de alimentos de alta** qualidade, tendo baixos custos aos produtos e consumidores, o qual também reduz o impacto ambiental. (BOBROWSKI, et al, 2003).

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar **a transferência dos genes RR2 BT** através da hibridação artificial, em cultivares convencional, onde a progênie F1 se torna resistente à aplicação do glifosato Zapp QI 620.00 g/L (62% m/v) (herbicida) e, a partir das variedades resultantes dos cruzamentos, verificou-se um possível **melhoramento em que a planta demonstra** ser tolerante a produtos químicos e combater pragas e doenças.

MATERIAIS E MÉTODOS

O procedimento foi realizado no mês dezembro no ano de 2015, **em casa de vegetação e no campo**. **Todas as variedades pertencem à** empresa Syngenta Seeds LTDA, no Centro de Pesquisa de Cascavel-PR. As cultivares **possuíam características diferentes** entre si conforme seu desenvolvimento, como cor de hilo, **cor da flor, pubescência, altura da** planta e variedades mais **precoces e tardias**.

A partir disso, foram efetuados plantios escalonados dessas cultivares em três épocas, **nos dias 13, 20 e 27 de dezembro** de 2015. O plantio foi efetuado em bandejas de isopor **e transplantado, contendo duas plantas** por vaso após germinação. **Todas as amostras foram armazenadas em casa de vegetação com irrigação diária** em um horário escalonado das 08:00h às 08:20h e das 15:00h às 15:20h, em um sistema de gotejo.

Emasculação

Inicialmente, com o auxílio de uma pinça de ponta fina, foram retiradas todas as outras **flores abertas e os botões florais** menos desenvolvidos de cada racemo. Deixando apenas o mais apto ao cruzamento.

O suporte do botão floral selecionado se deu **com o polegar e o indicador, mas** sem pressioná-lo. Em seguida, cada sépala foi presa com a pinça, sendo removida com movimentos para baixo e/ou para os lados, repetiu-se o procedimento com todas as sépalas, deixando a corola totalmente exposta. As anteras foram removidas com a pinça, restando apenas o estigma.

As amostras receberam etiquetas de plástico para a identificação de cada cruzamento e lupa com aumento de 10 vezes.

Polinização

Após o término da emasculação, o estigma ficou totalmente exposto **para receber o pólen. Nesta operação** procedeu-se a remoção dos estames da flor masculina **e a deposição do pólen no estigma** da flor emasculada. Os estames foram retirados com a pinça fechada, introduzindo na parte posterior da flor e separando as duas **quilhas.**

Os estames expostos foram removidos, juntamente com o pistilo e pincelados **delicadamente sobre o estigma da** flor emasculada, depositando o pólen sobre **ele.**

Procedimentos

Foi separado quatro cultivares convencionais de variedades diferentes e sensíveis ao glifosato, sendo estas: 15C00120, 15C00125, 15C00132, 15C00144, que foram cruzadas com a mesma quantidade de variedades diferentes nas cultivares transgênicas RR2 BT: 15CA50012, 15ca50022, 15ca50034, 15ca50046, resistentes ao glifosato e que possuíam a bactéria *Bacillus Thuringiensis*, produtora de proteínas e cristais tóxicos a muitas espécies de insetos.

Baseado nas técnicas de hibridação, o fluxo gênico nas variedades convencionais foram os machos doadores de pólen, e as variedades transgênicas RR2 BT foram os receptores de pólen, ou seja, as fêmeas.

No período de germinação e desenvolvimento da planta, a soja possui estágio de período reprodutivo (R1; R2), que apresenta a forma ideal a realizar o cruzamento. **Após um período de 10 a 14 dias, as** plantas atingiram o estágio **de formação das sementes (R4; R5), quando** foi realizado o **processo de limpeza das vagens, ficando apenas as vagens** que estavam **identificadas com a etiqueta de** plástico presa ao racimo principal da planta. Chegando ao estágio (R8; R9), foi conduzida a colheita **do F1. Baseando-se nas formas morfológicas** da vagem, identificou-se as vagens corretas, de acordo com a cicatriz **no local onde foram retiradas as** sépalas, na fase de florescimento.

No decorrer do processo, as vagens **resultantes dos cruzamentos foram** colhidas e passaram por uma debulha. A semente debulhada foi novamente plantada como linhagens de F1 **em bandejas de isopor contendo substrato,** após a germinação **e desenvolvimento das plantas, no** estágio vegetativo (v3), segunda **folha trifoliada completamente desenvolvida.**

Essas plantas **passaram por um teste de resistência** ao ser aplicado o

produto químico glifosato Zapp QI 620.00 g/L (62% m/v)(herbicida), que é utilizado no combate às plantas daninhas. As plantas **resistentes foram retiradas das** bandejas e transplantadas em vasos contendo terra e adubo **para seu desenvolvimento.**

Chegando ao estágio (R1), foram adicionadas lagartas da soja em cada planta germinada como: *Anticarsia Gemmatalis*, na densidade de 5 insetos/m², **assim as linhagens foram avaliadas em função da sua resistência ao** glifosato e à presença da bactéria, *Bacillus Thuringiensis*.

Delineamento experimental

O experimento utilizado foi o delineamento inteiramente casualizado, montado em esquema fatorial 2x4, sendo que os dois fatores foram as variedades de fêmeas e de machos por 4 níveis, que são as variedades, conforme descrito na Tabela 1. Os cruzamentos foram definidos de modo em que todas as variedades de fêmeas fossem cruzadas com todas as variedades de machos. Dessa forma, os tratamentos são expressos pelos cruzamentos, totalizando 16 tratamentos (4 machos x 4 fêmeas) e 25 **repetições por tratamento. As plantas, machos e fêmeas que foram alocadas em cada tratamento, definidas aleatoriamente.**

Tabela 1-Tratamentos aplicados

F1 Fêmeas convencionais Machos RR2 BT

15ca5001 15ca00120 15ca50012

15ca5002 15ca00120 15ca50022

15ca5003 15ca00120 15ca50034

15ca5004 15ca00120 15ca50046

a

15ca5005 15ca00125 15ca50012

15ca5006 15ca00125 15ca50022

15ca5007 15ca00125 15ca50034

15ca5008 15ca00125 15ca50046

a

15ca5009 15ca00132 15ca50012

15ca5010 15ca00132 15ca50022

15ca5011 15ca00132 15ca50034

15ca5012 15ca00132 15ca50046

a

15ca5013 15ca00144 15ca50012

15ca5014 15ca00144 15ca50022

15ca5015 15ca00144 15ca50034

15ca5016 15ca00144 15ca50046

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A etapa de cruzamento **foi avaliada em função do número de** flores efetivamente fecundadas e do número de sementes produzidas. Os resultados dos cruzamentos serão apresentados na Figura 1. **Observa-se que os cruzamentos que** obtiveram maior sucesso, tanto em relação à fecundação, como em relação à produção de sementes, foram os cruzamentos: 15ca5010, obtendo-se 13 vagens com flores fecundadas **e 17 sementes híbridas, seguidos** de 15ca5009, 15ca5004 e 15ca5013, com 10, 11 e 8 vagens, e 15, 14 e 14 sementes híbridas produzidas respectivamente. O cruzamento que obteve **uma menor fecundação de flor e produção** de semente híbrida foi o

cruzamento 15ca5014, obtendo 1vagemfecundada, e 2 sementes híbridas.

Figura 1-Número de plantas com flores efetivamente fecundadas com relação ao número de F1, sementes híbridas produzidas.

Na Figura 2(a), **o maior número de cruzamentos bem-sucedidos** para as variedades fêmeas transgênicas 15ca50012 = 10 cruzamentos pegos e para 15ca50022 = 13 cruzamentos pegos, foram obtidos com o cultivar convencionais macho15ca00132. Para os machos do cultivar15ca00125 obteve-se **o maior número de pegas com as fêmeas** de 15ca50034 = 07 cruzamentos pegos e para as fêmeas de 15ca50046 = 11 cruzamentos pegos, com os machos de 15ca00120. **Os resultados obtidos para a produção** de sementes apresentam a mesma **distribuição de freqüência dos cruzamentos pegos** (c).

Com relação às fêmeas (b), os melhores resultados de polinizações bem-sucedidas **foram observados para os machos** das cultivares convencionais 15ca00120 com 14 sementes híbridas F1 e 15ca00125 com 11 sementes híbridas F1 para as fêmeas do cultivar 15ca50046. Para os machos de 15ca00132 e 15ca00144 foram observados os melhores resultados com as fêmeas de 15ca50022 com 17 sementes híbridas F1 e 15ca50012 com 14 sementes **híbridas F1, respectivamente. O resultado** obtido para a produção de sementes **apresenta distribuição de freqüência** semelhante à **distribuição dos resultados dos** cruzamentos pegos (d).

(a) (b)

(c) (d)

Figura 2 - **Distribuição de freqüência de** cruzamentos pegos por variedade de macho (a) e por **variedade de fêmea (b) e da produção** de sementes híbridas por variedade de macho (c) e por variedade de fêmea (d)

Os dados absolutos para **avaliação das características de** F1 com relação à sensibilidade ao glifosato **podem ser observados na Figura 3.**

As plantas emitem sintomas após aplicação do glifosato sob um efeito de amarelecimento dos meristemas, ocorrendo à necrose e morte das mesmas, por dias ou semanas. Estes herbicidas vão sendo usados de forma não seletiva, nesse caso com os adventos **de organismos que são geneticamente** modificados, ou seja, por intervenção humana. Eles passam por uma opção de enriquecer o controle de ervas daninhas das culturas de soja, ou entre outras, que acometem a lavoura (BORÉM e ALUÍZIO 1999).

Figura 3 - Características de F1 em resistência pós aplicação do glifosato e resistência à lagarta.

A resistência das plantas com relação à aplicação do glifosato e à lagarta da sojaA. gemmatalis, **foi obtida a partir do cruzamento** 15ca5010, **onde os valores obtidos foram de** 15 plantas apresentando transgenia e 13 plantas com resistência à lagarta, e o cruzamento 15ca5014 obteve outro melhor resultado, obtendo valores de 2 plantas F1, com resistência a lagartas e transgenia.

Nesse caso, a soja BT é a que expressa a proteína Cry 1 Ac de B.thuringiensis, aprovada no Brasil, (BERNARDI ET AL. 2012) nos diz que a soja pode expressar

uma concentração suficiente a qual pode causar morte instantânea de heterozigotos **de A. gemmatalis, (lagarta da soja).**

Na Figura 4 são apresentados os resultados das características de F1 expressas em % em relação ao número de plantas por tratamento.

Figura 4 - Características de F1 expressas em percentual **em relação ao número de sementes** plantadas

Verifica-se que os cruzamentos 15ca5001, 15ca5006, 15ca5011, 15ca5012, 15ca5013, 15ca5014 e 15ca5015, obtiveram desempenho com relação a transgenia, obtendo 100% das características de F1 expressas **na planta.**

Em verificação de amostras de sementes com transgenia contendo sementes de cultivares convencional, erros de falso-negativo e falso-positivo podem ocorrer. Discute-se que ambos podem surgir de interpretações equivocadas, porque as amostras de plantas transgênicas apresentam plantas anormais.(PEREIRA, et al, 2009).

Já para a resistência à lagarta, o cruzamento 15ca5014 obteve 100% de defesa contra essa praga. Isso mostra que o cruzamento que obteve melhor resultado em relação às aplicações, foi o material 15ca5014, sendo mais viável **sua utilização. No entanto, o tratamento 15ca5010 obteve um dos melhores resultados em relação ao número de sementes obtidas de F1 com 17 sementes híbridas, ocasionando** 2 mortes de plantas e 88% em relação à confirmação de transgenia com 15 sementes, **em relação à resistência ao ataque** de lagartas, ocasionou 2 impactos por planta, restando 76% com 13 plantas resistentes, quando avaliado em função do número total de plantas, em percentual.

A distribuição de freqüências de plantas transgênicas e de plantas resistentes às lagartas **pode ser observada na Figura 5.**

(a) (b)

(c) (d)

Figura 5 - **Distribuição de freqüências de** plantas transgênicas por variedade de macho (a) e por variedade de fêmea (b) e de plantas resistentes às lagartas por variedade de macho (c) e por variedade de fêmea (d)

CONCLUSÃO

Através de um programa de hibridação **artificial, pode-se concluir que** os cruzamentos feitos manualmente podem sim, gerar lucros para quem utiliza essa **leguminosa para a agricultura, pois** o cruzamento que obteve maior número de F1 foi o material, 15ca5010, resultado da interação entre o cruzamento 15ca00132 (macho) com a 15ca5022 (fêmea) com 17 sementes híbridas. Já na aplicação do defensivo químico glifosato, Zapp QI 620.00 g/L (62% m/v) (herbicida), os materiais F1 foram mais suscetíveis. Na pós aplicação deste, foi 15ca5001, 15ca5006, 15ca5011, 15ca5012, 15ca5013, 15ca5014 e 15ca5015, sendo estas **com 100% de eficácia, sem morte de plantas.** Já na avaliação da Anticarsia Gemmatalis, **(lagarta da soja), ocorreu pouco impacto,** ocasionando **poucas mortes de plantas. Já o material 15ca5014 trouxe o melhor resultado, pois não sofreu nenhum impacto. Esses materiais foram os que apresentaram melhor estabilidade fisiológica. Isso comprova que o** operador obteve sucesso no trabalho.

Percebe-se, também, que os procedimentos realizados a temperaturas entre 20 e 23 °C, no período das 10:00h às 12:00h, o que aumenta as chances de fertilização dos cruzamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORÉM, Aluizio; SOJA, A. Escape Gênico. Revista de Biotecnologia, Brasília, DF, n. 10, p. 101-107, 1999.

BOBROWSKI, Vera Lucia et al. Genes de Bacillus thuringiensis: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. Ciência Rural, v. 34, n. 1, p. 843-850, 2003.

BERNARDI, O. Avaliação do risco de resistência de lepidópteros-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 x MON 89788 no Brasil. 2012. 116 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, Piracicaba, 2012.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). Acompanhamento de safra brasileira: grãos, primeiro levantamento, outubro 2012 / P. 2-36, 2012.

DE ALMEIDA LOPES, Ângela Celis et al. Variabilidade **e correlações entre caracteres em cruzamentos** de soja. Scientia agrícola, v. 59, n. 2, p. 341-348, 2002

DOS REIS, Edésio Fialho et al. **Comparação de procedimentos de seleção para produção de grãos em populações de soja.** Ciência Rural, v. 34, n. 3, p. 685-692, 2004.

HERRERA-ESTRELLA, L. Transgenic plants for tropical regions: Some consideration about their development and their transfer to the small farmer. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, Washington, v.96, p.5978-5981, 1999.

IBGE, **Soja puxará safra recorde de grãos** em 2015, prevê IBGE, disponível em: <http://www.kepler.com.br/blog/index.php/soja-puxara-safra-recorde-de-graos-em-2015-preve-ibge/>, acesso em 26 set, **2015**.

PEREIRA, WELISON ANDRADE et al. Ajuste de metodologias **para a identificação de cultivares de** soja quanto à tolerância ao glifosato. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 3, p. 000-000, 2009.

SCHUSTER, Ivan et al. **Fluxo gênico em soja na Região Oeste do Paraná.** **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 515-520, 2007.

SCHUSTER, **I. Fluxo gênico e coexistência de** lavouras com espécies transgênicas e convencionais, abrates, vol.23, nº.1, P.39-45, 2013.

URBEN F., G, SOUZA.M. I. P. **"Manejo da cultura da soja sob Cerrado: época, densidade e profundidade de** semeadura;[Manejo del cultivo de la soya en los Cerrados: época, densidad y profundidad de siembra].[Soybean crop management **in Cerrado region: planting date,** stand and depth of sowing]." p. 267-298.(1993).

Links por Texto

Fragmento: [as quais\(F1\), foram plantadas e submetidas](#)

URLs:

<https://pt.scribd.com/doc/137603577/exercicios-de-genetica>

Fragmento: [o aumento da produção e a rápida expansão](#)

URLs:

<http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/gmp/d/1909.pdf>

Fragmento: [atrás apenas dos Estados Unidos,](#)

URLs:

<http://www.trabalhosfinais.iciag.ufu.br/lista.php>

Fragmento: [o desenvolvimento de novas variedades](#)

URLs:

<http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/gmp/d/1909.pdf>

Fragmento: [as mais pobres do mundo, as que mais sofrem](#)

URLs:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0103-84782003000500008

<http://oaji.net/articles/2016/2238-1456160008.pdf>

Fragmento: [Bacillus thuringiensis é uma bactéria](#)

URLs:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0103-84782003000500008

<http://www.ebah.com.br/content/abaaae4vaag/bacillus>

Fragmento: [acumulando-se na periferia dos esporos em forma](#)

URLs:

<http://www.scielo.br/pdf/cr/v33n5/17128.pdf>

<http://www.ebah.com.br/content/abaaae4vaag/bacillus>

Fragmento: [de cristais em um dos pólos da célula.](#)

URLs:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0103-84782003000500008

<http://www.ebah.com.br/content/abaaae4vaag/bacillus>

Fragmento: [A prática do emprego de plantas](#)

URLs:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0103-84782003000500008

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0103-84782003000500008

<http://www.redalyc.org/pdf/331/33133508.pdf>

Fragmento: [da produção de alimentos de alta](#)

URLs:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0103-84782003000500008

<http://www.redalyc.org/pdf/331/33133508.pdf>

Fragmento: [do F1. Baseando-se nas formas morfológicas](#)

URLs:

<https://pt.scribd.com/doc/137603577/exercicios-de-genetica>

Fragmento: [resultantes dos cruzamentos foram](#)

URLs:

<https://pt.scribd.com/doc/137603577/exercicios-de-genetica>

Fragmento: em bandejas de isopor contendo substrato,

URLs:

<http://www.trabalhos finais.iciag.ufu.br/lista.php>

Fragmento: de F1 com 17 sementes híbridas, ocasionando

URLs:

<https://pt.scribd.com/doc/137603577/exercicios-de-genetica>

Fragmento: Vera Lucia et al. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em

URLs:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0103-84782003000500008

<http://www.scielo.br/pdf/cr/v33n5/17128.pdf>

Fragmento: de lepidópteros-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 x MON 89788 no Brasil. 2012. 116 f. Tese (Doutorado)

URLs:

<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/126188/1/comunicado-317.pdf>

Fragmento: – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP,

URLs:

<http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/gmp/d/1909.pdf>

http://www.fag.edu.br/upload/revista/cultivando_o_saber/566ec30515a59.pdf

<http://www.esalq.usp.br/>

Fragmento: CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento).

URLs:

http://www.fag.edu.br/upload/revista/cultivando_o_saber/566ec30515a59.pdf

Fragmento: Comparação de procedimentos de seleção para produção de grãos em populações de soja. *Ciência Rural*, v. 34, n. 3, p.

URLs:

<http://www.ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/3003>

<http://www.escavador.com/sobre/3967868/edesio-fialho-dos-reis>

<http://www.academicjournals.org/journal/ajar/article-full-text/656181660486>

<http://www.redalyc.org/pdf/331/33134306.pdf>

<http://www.scielo.br/pdf/cr/v34n3/a06v34n3.pdf>

[https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/busca?b=pc&busca=autoria:"cruz, c. d."&qfacets=autoria:"cruz, c. d."&biblioteca=vazio&sort=&paginaacao=t&paginaatual=1&ig=t](https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/busca?b=pc&busca=autoria:)

Fragmento: HERRERA-ESTRELLA, L. Transgenic plants for tropical regions: Some consideration about their development and their transfer to the small farmer. *Proceedings of the National*

URLs:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0103-84782003000500008

<http://www.redalyc.org/pdf/331/33133508.pdf>

<http://oaji.net/articles/2016/2238-1456160008.pdf>

Fragmento: Fluxo gênico em soja na Região Oeste do Paraná. Pesquisa

URLs:

<https://www.ecodebate.com.br/2016/08/30/contaminacao-da-biodiversidade-por-transgenicos-parte-46-artigo-de-roberto-naime/>

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0100-204x2007000400009

Fragmento: "Manejo da cultura da soja sob Cerrado: época, densidade e profundidade de

URLs:

<http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/gmp/d/1909.pdf>

Relatório DOC x WEB: <http://www.docxweb.com>

