



**XXIV
Mostra
de Iniciação
Científica**

**SEMANA DO
CONHECIMENTO**

A Universidade em movimento

De **7a10** de outubro de 2014



RESUMO

Efeito do tratamento de alta temperatura durante a infecção na transformação genética de milho com *Agrobacterium tumefaciens*

AUTOR PRINCIPAL:

Lucas Canali Fossatti

E-MAIL:

119578@upf.br

TRABALHO VINCULADO À BOLSA DE IC::

Pibic UPF ou outras IES

CO-AUTORES:

Tiago Teixeira
Dielli Aparecida Didoné
Cássia Ceccon
Marília Rodrigues de Silva
Magali Ferrari Grando

ORIENTADOR:

Magali Ferrari Grando

ÁREA:

Ciências Agrárias

ÁREA DO CONHECIMENTO DO CNPQ:

Ciências Agrárias I

UNIVERSIDADE:

Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO:

O uso de plantas transgênicas é uma ferramenta empregada no melhoramento de plantas e no desenvolvimento de uma agricultura sustentável, proporcionando um aumento na produtividade e redução no uso de defensivos agrícolas. A engenharia genética de plantas abre perspectivas para o melhoramento genético de milho (*Zea mays*), permitindo a transferência de genes visando a produção de genótipos superiores. A transformação por *A. tumefaciens* tem sido o método mais utilizado para este fim. No entanto, o milho é considerado uma das culturas mais recalcitrantes para transformação genética. Em laboratório, busca-se adaptar a infecção via *A. tumefaciens* a outros modelos vegetais, como o milho, que não corresponde ao hospedeiro tradicional da *A. tumefaciens*. Este trabalho objetiva ajustar o protocolo de transferência de genes por meio do tratamento de temperatura durante a infecção de embriões imaturos de milho com *A. tumefaciens*, avaliados pela expressão do gene repórter *gus* em ensaio histoquímico.

METODOLOGIA:

Embriões imaturos da variedade de milho BR 451 e do híbrido Hi-II foram submetidos a transformação genética utilizando *A. tumefaciens* EHA 101 portadora do plasmídeo pTF102, o qual carrega o gene repórter *gus* que determina a coloração azul, utilizando protocolo de Frame et al., (2002). Os embriões foram submetidos a dois tratamentos: a) Infecção em temperatura ambiente (TA) por cinco minutos e b) Infecção em temperatura elevada (43°C) por cinco min. Foram realizadas ...repetições por tratamento, sendo a repetição composta de uma placa de petri com 30 embriões. Para avaliação da transferência gênica foram selecionados ao acaso cinco embriões que foram submetidos ao ensaio histoquímico de *Gus* cinco dias após a infecção. Para análise dos dados, calculou-se a média de embriões que apresentaram pontos azuis e o número de pontos azuis por embrião. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de médias mais/menos desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Para o híbrido de milho Hi-II, o tratamento de temperatura durante a infecção dos embriões imaturos com *A. tumefaciens* não alterou a percentagem de embriões *Gus* positivo em comparação a infecção realizada em temperatura ambiente, sendo que em média 73% dos embriões foram positivos, variando de 20% a 100% (figura 1 A). Os pontos azuis observados nos embriões indicam o local onde o TDNA da *A. tumefaciens* foi inserido durante a transformação, o número de embriões que apresentam pontos azuis representa a percentagem de transformação transiente, prova da transferência do t-DNA da *A. tumefaciens* para as células do embrião de milho. Da mesma forma o tratamento de temperatura não alterou o número de pontos azuis observados nos embriões infectados nas duas temperaturas testadas (Figura 1 B). O aspecto dos embriões mostrando pontos azuis são observados nas figuras 1 C, D e E.

Para a variedade de milho BR 45, o tratamento de temperatura durante a infecção dos embriões imaturos com *A. tumefaciens* não alterou a percentagem de embriões *Gus* positivo em comparação a infecção realizada em temperatura ambiente, sendo que em média 96% dos embriões foram positivos, variando de 60 a 100% (Figura 1 F). Para a variável número de pontos por embrião a temperatura de 43°C aumentou o número médio de pontos azuis por embrião quando comparado com a infecção realizada em temperatura ambiente, mostrando-se superior (Figura 1 G). A figura 1 H, I e J apresenta o aspecto dos embriões transformados em temperatura ambiente e com o estresse de temperatura.

CONCLUSÃO:

A alta temperatura não afetou a percentagem de embriões *Gus* positivos para os dois genótipos e nem o número de pontos/embrião para o genótipo Hi-II. Para a variedade BR 451 a alta temperatura resultou no aumento de pontos azuis/embrião, indicando seu efeito positivo na transformação genética.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

FRAME, B. R.; MCMURRAY, J. M.; FONGER, T. M.; MAIN, M. L.; TAYLOR, K.W. TORNEY, F. J.; PAZ, M. M.; WANG, K. Improved *Agrobacterium*-mediated transformation of three maize inbred lines using MS salts. *Plant Cell Reports, Genetic Transformation e Hybridization*. Ames. n.25, p.1024-1034. 2006.

ISHIDA, Y.; HIEI, Y.; KOMARI, T. *Agrobacterium*-mediated transformation of maize. *Nature protocols*, vol. 2, pp. 1614-1621, 2007.

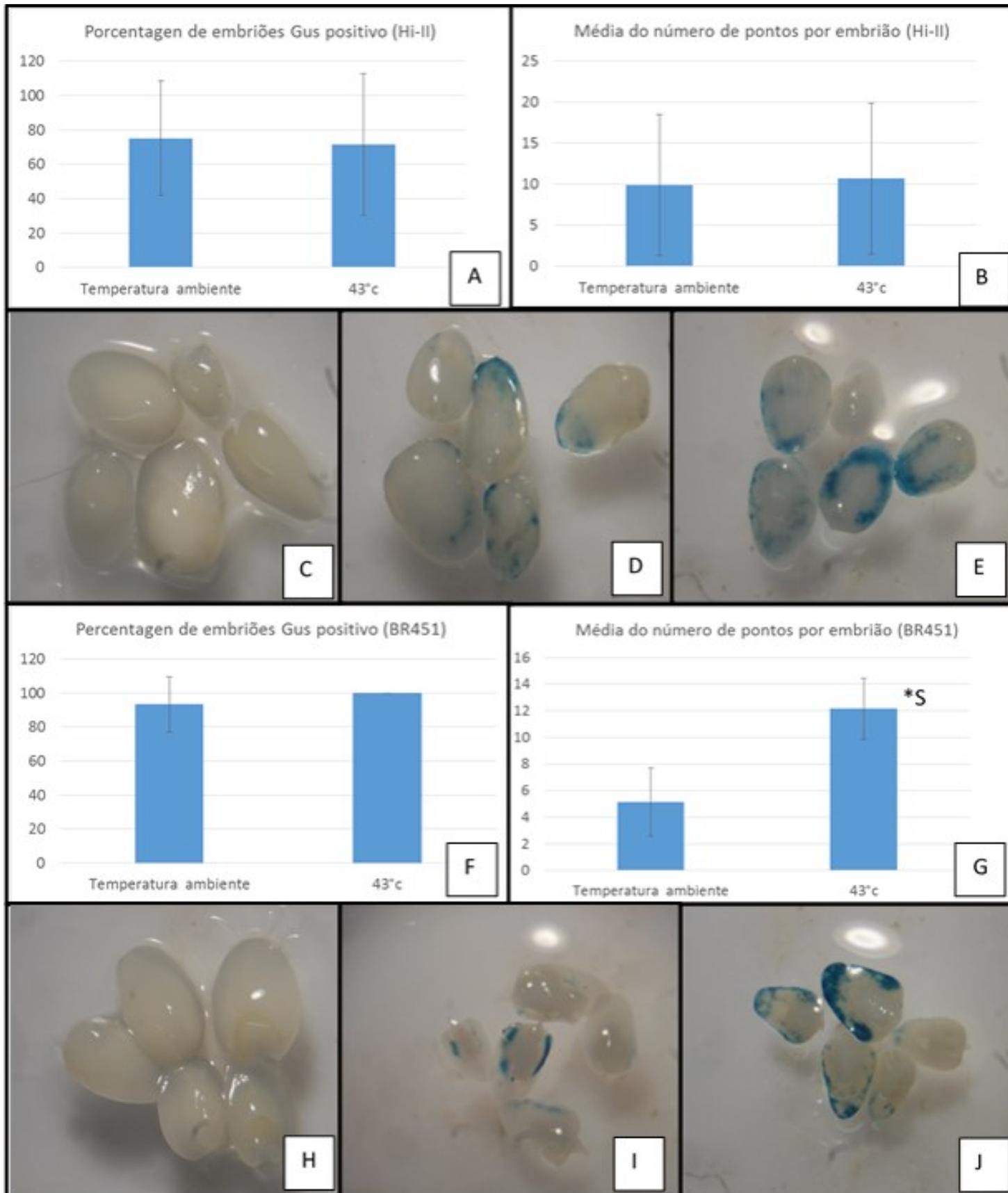


Figura 1-A) Gráfico da porcentagem de embriões Gus positivos do Hi-II; B) Gráfico da média de pontos azuis por embrião de Hi-II; C) Aspecto dos embriões do controle negativo não infectado com *A. tumefaciens* (Hi-II); D) Aspecto dos embriões infectados em temperatura ambiente (Hi-II); E) Aspecto dos embriões infectados a 43°C (Hi-II); F) Gráfico da porcentagem de embriões Gus positivos do BR 451; G) Gráfico da média de pontos azuis por embrião de BR 451; H) Aspecto dos embriões do controle negativo não infectado com *A. tumefaciens* (BR 451); I) Aspecto dos embriões infectados em temperatura ambiente (BR 451); J) Aspecto dos embriões infectados a 43°C (BR 451).

Assinatura do aluno

Assinatura do orientador