

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

PRODUÇÃO DE EXPLANTES DE MILHO PARA A TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA E MULTIPLICAÇÃO DE PLANTAS TRANSGÊNICAS EM AMBIENTE PROTEGIDO

AUTOR PRINCIPAL: Tiago Kumm Geller

CO-AUTORES: Me. Tiago Teixeira, Me. Dielli Didone, Me. Cássia Ceccon, Dra. Marília Rodrigues de Silva, Ph. D. Magali Ferrari Grando.

ORIENTADOR: Ph. D. Magali Ferrari Grando

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo - UPF

INTRODUÇÃO:

O melhoramento genético atualmente conta com a potente técnica da engenharia genética que visa acessar novas fontes de variabilidade genética para obtenção de genótipos superiores. O método da agrobactéria é o mais utilizado para transferência de genes para o milho, visto que apresenta a vantagem de inserir baixo número de cópias do transgene no genoma da planta (FRAME et al., 2007). O embrião imaturo do híbrido Hi-II é o material mais propício para transformação genética via agrobactéria. O presente trabalho teve como objetivo a realização do manejo na cultura do milho, produção do híbrido de milho Hi-II a partir dos cruzamentos entre as linhagens parentais, plantio do Hi-II e autofecundação visando à obtenção dos embriões imaturos apresentando qualidade para realizar a transformação genética e conduzir plantas transgênicas dentro das normas de biossegurança visando cruzamentos para produção de gerações avançadas para análises moleculares.

DESENVOLVIMENTO:

O trabalho foi desenvolvido em estufa (Figura 1A) e telado (Figura 1B) do Laboratório de Biotecnologia Vegetal da FAMV/UPF. O trabalho consistiu em três etapas distintas: (a) Plantio e cruzamento das linhagens parentais de milho A188 X B73 para produção do híbrido Hi-II em telado; (b) Plantio e autofecundação do híbrido Hi-II de milho para geração dos explantes a serem utilizados nos experimentos de engenharia genética e (c) Aclimatização e cruzamentos das plantas transgênicas em casa de vegetação.

(a) Foi realizado o preparo do solo para a semeadura das linhagens A188 e B73 que são linhagens parentais do híbrido Hi-II. Estas linhagens foram autopolinizadas para

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



obtenção de novas sementes para renovação do estoque e também cruzadas para obtenção do híbrido da F1 do híbrido Hi-II.

(b) Para produção dos embriões imaturos a serem utilizado na engenharia genética, O Hi-II foi semeado em telado e vasos, sendo semeadas 12 sementes/ semana. Estas plantas no período reprodutivo foram autopolinizadas de forma controlada anotando-se o tipo de cruzamento realizado e a data de polinização para possibilitar a o controle do período da checagem dos embriões. Esta verificação se dava 10 dias após a polinização sendo analisado o tamanho do tamanho dos embriões para coleta de espigas para excisão de embriões imaturos (1,2 – 1,8mm). Quando os embriões atingiam o tamanho ideal, a espiga era coletada e encaminhada para seu uso nos experimentos de transformação genética no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, onde era armazenada e depois feita a transformação.

(c) Os embriões imaturos produzidos em estufa e telado foram levados para o laboratório de Biotecnologia Vegetal, onde se procedeu a transferência de genes de resistência a insetos (gene Jaburetox) utilizando o método da agrobactéria. As plantas transgênicas do híbrido Hi-II regeneradas pela cultura de tecidos foram inicialmente aclimatadas no Laboratório e transferidas para vasos com substrato e vermiculita na proporção 1:1 e mantidas em casa de vegetação (figura 1C). Estas plantas foram cultivadas conforme normas técnicas da CTNBio para casa de vegetação .

Resultados: No telado foram semeadas linhagens parentais B73 e A188, resultando na produção de 190 plantas, as quais foram cruzadas para produção do híbrido Hi-II, sendo gerada uma produção de 28.500 sementes de F1 desse cruzamento. Também foi realizada a semeadura escalonada de sementes de Hi-II para a produção de explantes, que resultou num total de 44.400 embriões imaturos repassados ao Laboratório de Biotecnologia Vegetal para os experimentos de transformação genética. Em torno de 640 sementes da geração R1 de transgênicos foram semeadas em vasos na casa de vegetação. Das quais, após análise molecular de PCR para detecção do gene, 172 comprovaram ser transgênicas portadoras do gene jaburetox que determina a resistência a insetos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Foram produzidas plantas saudáveis a partir de sementes com poder germinativo significativo, obtendo embriões de alta qualidade que se mostraram muito efetivos na transformação genética em laboratório. Também foi produzido um número significativo de sementes, podendo estas serem selecionadas e garantidas para continuidade da pesquisa. Foi possível multiplicar as plantas transgênicas em casa de vegetação.

REFERÊNCIAS:

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO
REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



FRAME, B.; MAIN, M.; SCHICK, R.; WANG, K. Genetic Transformation Using Maize Immature Zygotic Embryos. In: THORPE, A.; YEUNG, E. C. Plant Embryo Culture: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology. v. 710, p. 327-341, 2011.

NÚMERO DA APROVAÇÃO CEP OU CEUA (para trabalhos de pesquisa): Número da aprovação.

ANEXOS:

Poderá ser apresentada somente uma página com anexos (figuras e/ou tabelas), se necessário.