

V SEMANA DO CONHECIMENTO

**CONSTRUINDO CONHECIMENTOS
PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES**

1 A 5 DE OUTUBRO DE 2018



Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

Produção de material genético e explantes de milho para uso na engenharia genética e avanço de gerações de eventos transgênicos em ambiente protegido

AUTOR PRINCIPAL: Tiago Kumm Geller.

CO-AUTORES: Me. Cássia Ceccon, Dra. Dielli Aparecida Didoné, Isabele Mariana Weber dos Santos, Dra. Marília Rodrigues de Silva, Raphael Aguiar, Me. Tiago Teixeira, Ph. D. Magali Ferrari Grando.

ORIENTADOR: Ph. D. Magali Ferrari Grando.

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo - UPF.

INTRODUÇÃO

O melhoramento genético possui uma série de ferramentas que podem ser utilizadas nas estratégias de melhoramento genético. Dentre elas a engenharia genética está presente efetivamente no cenário da produção de vários cultivos no país, visando acessar novas fontes de variabilidade genética. O método da *Agrobacterium tumefaciens* é mais utilizado para estudos de transformação genética de milho, apresentando vantagem com a inserção de baixo número de cópias de transgene no genoma da planta (FRAME et al., 2007). O trabalho teve como objetivo realizar o plantio de milho e seu manejo para produção de embriões imaturos (explantes utilizados na transformação genética de milho), visando à introdução de novos genes de resistência a insetos dentro das normas de biossegurança; produzir sementes do híbrido Hi-II e seus parentais para continuidade dos experimentos e; realizar o cultivo, aclimatização e produção de sementes de diferentes gerações das plantas transgênicas.

DESENVOLVIMENTO:

O trabalho foi desenvolvido no telado, na estufa e na casa de vegetação do Laboratório de Biotecnologia Vegetal (LBV) da FAMV/UPF. Foi realizado em etapas: (1) Plantio e cruzamento das linhagem parentais A188 X B73 para formação do híbrido F1

V SEMANA DO CONHECIMENTO

**CONSTRUINDO CONHECIMENTOS
PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES**

1 A 5 DE OUTUBRO DE 2018



Hi- II; (2) Plantio e autofecundação do híbrido Hi-II para geração de explantes a serem utilizados nos experimentos de transformação genética; (3) Aclimatização e cruzamento das plantas transgênicas em casa de vegetação.

(1) No telado foi realizada correção necessária do solo de acordo com a sua análise, juntamente com o preparo do solo para a semeadura das linhagens parentais (A188 e B73) e do híbrido Hi-II. As linhagens parentais foram autopolinizadas para manter a renovação das sementes e também cruzadas para obtenção da geração F1 do híbrido Hi- II. Foi produzido um total de 145 plantas, gerando 21.750 sementes do F1 desse cruzamento e 31.500 sementes dos parentais.

(2) Para a produção de embriões imaturos utilizados na transformação de plantas, o híbrido de milho Hi-II foi semeado no telado de setembro a janeiro e na estufa de março a maio. Foram semeadas 24 sementes por semana no telado e 12 sementes por semana dentro de vasos na estufa. No período reprodutivo as plantas foram autopolinizadas de forma controlada, realizando o registro do cruzamento (autopolinização ou fecundação cruzada) e a data de polinização para facilitar o período de checagem do tamanho dos embriões imaturos. A checagem era realizada após 10 - 12 dias da polinização na qual o embrião apresentava de 1,2 - 1,8 mm, tamanho ideal para realização dos experimentos de transformação genética. As espigas apresentando tamanho ideal do embrião era retirada, registrada e encaminhada para o LBV. Foi possível obter um total de 3.235 embriões imaturos.

(3) Os embriões armazenados no LBV passaram pela transferência do gene Jaburetox, que confere resistência a insetos, através do método de *A. tumefaciens*. Seis plantas geneticamente modificadas do híbrido Hi-II regeneradas (geração R0) foram transferidas para a casa de vegetação em vasos com substrato e vermiculita na proporção 1:1. Essas plantas foram cultivadas seguindo todas as normas técnicas da CTNBio para casa de vegetação.

Além disso, 850 sementes da geração R1 de plantas geneticamente modificadas foram semeadas em vasos na casa de vegetação, após análise molecular de PCR para detecção da presença do gene, 140 plantas comprovaram a presença do Jaburetox em seu genoma, essas plantas produziram 1410 sementes. Também, foram semeadas 241 sementes da geração R2, das quais, 116 comprovaram a inserção do gene Jaburetox e produziram 2280 sementes. As sementes obtidas nas diferentes gerações de plantas transgênica serão semeadas no próximo ano para continuação das análises moleculares necessárias para a identificação da melhor planta com características de resistência a insetos, visando a obtenção de um novo produto tecnológico para o mercado agrícola.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Foi possível obter através de plantas com poder germinativo e vigor significante plantas saudáveis com embriões de alta qualidade que obtiveram resultados positivos na transformação genética no Laboratório. Também, foi possível obter um número



V SEMANA DO CONHECIMENTO

**CONSTRUINDO CONHECIMENTOS
PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES**

1 A 5 DE OUTUBRO DE 2018



significativo de sementes para a continuidade da pesquisa, bem como avançar gerações de plantas transgênicas em casa de vegetação.

REFERÊNCIAS

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

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