



RESUMO

Transformação genética de dois genótipos de milho via *Agrobacterium tumefaciens* mediante tratamento de temperatura

AUTOR PRINCIPAL:

Cássia Canzi Ceccon

E-MAIL:

cassia_ceccon@hotmail.com

TRABALHO VINCULADO À BOLSA DE IC::

Não

CO-AUTORES:

Marília Rodrigues de Silva

Dielli Aparecida Didoné

Vinícius Oliveira Almeida

Bernardo Torres

Magali Ferrari Grando

ORIENTADOR:

Magali Ferrari Grando

ÁREA:

Ciências Agrárias

ÁREA DO CONHECIMENTO DO CNPQ:

50103059

UNIVERSIDADE:

Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO:

O milho é uma importante cultura alimentícia a nível mundial. O bom desempenho desta cultura deve-se em grande parte ao desenvolvimento de novas cultivares resultantes de programas de melhoramento. As novas tecnologias com a transformação genética permite o acesso a fontes de variabilidade externas à constituição genética da espécie. O método utilizando a *Agrobacterium tumefaciens* como vetor de transferência de genes para plantas tem sido preferido devido às vantagens sobre outros métodos como a alta expressão e estabilidade do gene de interesse (FRAME et al., 2002). A eficiência da transformação genética em milho é fortemente dependente de características genotípicas relacionadas à resposta ao cultivo in vitro, regeneração e a interação entre a agrobactéria com o genótipo utilizado. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes genótipos quanto à resposta à transferência de T-DNA via *Agrobacterium tumefaciens* visando estabelecimento de protocolo de transformação genética de milho.

METODOLOGIA:

Embriões imaturos (1,2 a 2,0 mm) do híbrido Hi-II e da variedade brasileira BRS 541 (Embrapa Milho e Sorgo) foram mantidos durante cinco minutos em meio de infecção com *A. tumefaciens* cepa EHA 101:pTF102, contendo os genes *gus* e *bar*. Nesta fase, os embriões foram submetidos ao tratamento com choque térmico de 40 °C durante a infecção. Os embriões infectados foram transferidos para o co-cultivo, permanecendo durante três dias no escuro a 20 °C (FRAME et al., 2002). Depois disso, realizou-se o ensaio histoquímico de GUS (JEFFERSON et al., 1987) para verificar a expressão transiente do gene *gus*. Este gene codifica para a enzima -glucuronidase, que em presença do substrato X-gluc produz a cor azul, possibilitando a visualização e contagem dos eventos de transformação. As variáveis analisadas foram porcentagem de embriões com pontos azuis (PECP) e número de pontos azuis por embrião (NPPE) *gus* positivo. Para comparação das médias foi utilizado +- 1 desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

O híbrido Hi-II obteve maior frequência de transformação transiente, visto que apresentou maior número de embriões *gus* positivos (50%) em relação à variedade brasileira BRS451 (11,7%). O híbrido Hi-II foi superior à variedade BRS451 também em relação ao número de pontos azuis por embrião (15,1 e 1,1 respectivamente) (Tabela 1). O genótipo do milho utilizado tem um papel extremamente importante na determinação da frequência de transformação. A melhor resposta do híbrido Hi-II era esperada, pois este genótipo tem sido utilizado como modelo na maioria dos protocolos devido a sua excelente resposta *in vitro* em termos de produção de calos embriogênicos com alto potencial de regeneração de plantas e tem sido amplamente utilizado nos experimentos de transformação genética de milho. A transformação de genótipos de milho agronomicamente mais adaptados tem sido objetivo de muitos grupos de pesquisa, pois a maioria dos genótipos de milho, especialmente as variedades elite, são pobres quanto à resposta a cultura de tecidos e isto limita o número de genótipos eficientemente transformados. Neste trabalho, foi possível a transformação da variedade brasileira BRS 451, embora em baixa frequência. O tratamento de temperatura utilizado neste trabalho visou adaptar esta tecnologia para genótipos agronomicamente relevantes. O protocolo utilizado demonstrou ser eficiente na transformação genética do genótipo modelo, devendo ser adaptado para genótipos de elite.

CONCLUSÃO:

O híbrido Hi-II de milho apresentou maior eficiência de transformação genética transiente via *Agrobacterium tumefaciens* comparado ao genótipo brasileiro BRS 451.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- FRAME, B. R.; SHOU, H.; CHIKWAMBA, et. al., *Agrobacterium tumefaciens*-Mediated Transformation of Maize Embryos Using a Standard Binary Vector System Breakthrough Technologies. *Plant Physiology*, v. 129, p.13-22, 2002.
- JEFFERSON, R. A.; KAVANAGH, T. A.; BEVAN, M. W. GUS fusions: Beta-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in high plants. *Embo Journal*, v. 6, p.3901-3907, 1987.

Tabela 1: Expressão do gene *gus* em explantes imaturos de milho do genótipo Hi-II e BRS 451

Genótipo	PECP*	NPPE**
Hi-II	50	15,1 S
BRS451	11,7	1,1
M+1DP***	54,16	3,11
M-1DP****	-10,68	-3,51

***PECP: Percentual de embriões com ponto**

****NPPE: Número de pontos por embrião**

*****M+1DP: Média mais um desvio padrão**

******M-1DP: Média menos um desvio padrão**

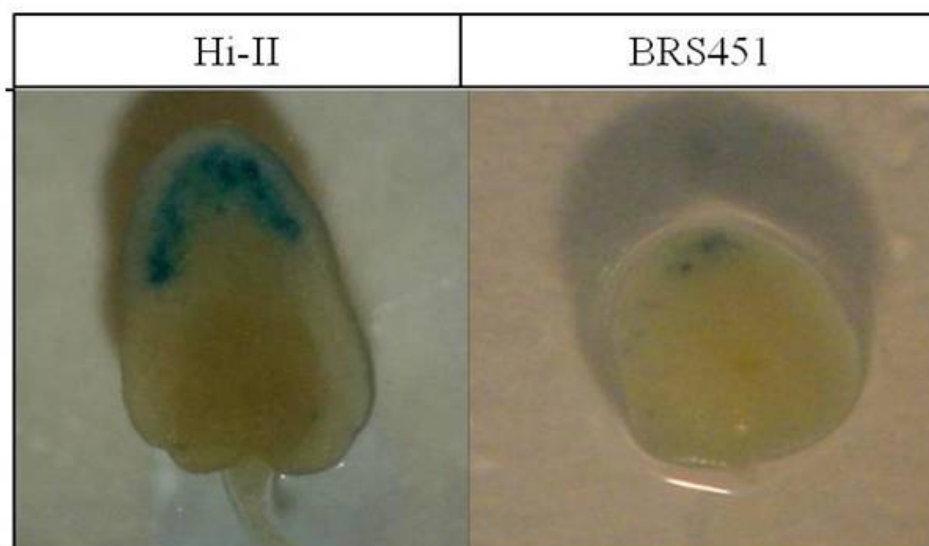


Figura 1: Teste histoquímico de GUS para identificação da transformação transiente em explantes imaturos do genótipo Hi-II e BRS 451.

Assinatura do aluno

Assinatura do orientador