

DESENVOLVIMENTO DE “FERRAMENTAS” BIOLÓGICAS E MOLECULARES PARA TRANSFORMAÇÃO DE MILHO ATRAVÉS DE BOMBARDEAMENTO COM MICROPARTÍCULAS

Márcio José da Silva (expositor) e Paulo Arruda. CBMEG/Unicamp

Utilizando-se o milho como modelo, “ferramentas” biológicas e moleculares foram desenvolvidas no sentido de propiciar estratégias alternativas para produção de plantas transgênicas. Estas “ferramentas” visaram facilitar a transformação dos cereais que atualmente constitui-se de um processo trabalhoso requerendo longo período de tempo, de difícil reprodutividade o qual restringe-se a alguns genótipos. Um acelerador de micropartículas foi construído e testado, sendo demonstrada sua eficiência em transformar vários tecidos de milho. Algumas inovações foram realizadas neste aparelho visando torná-lo mais prático e eficaz durante os experimentos. Na versão original o sistema Kapton foi substituído pelo sistema direto para aceleração das micropartículas, eliminando-se o “flying disk”. O sistema direto mostrou superioridade em relação ao sistema Kapton tanto em relação à eficiência de transformação transitória quanto a variação entre os tratamentos. Um dispositivo para bombardeamento de grãos de pólen maduros foi elaborado e testado, mostrando índices de transformação compatíveis com os citados na literatura científica. Algumas estratégias para a transformação de milho foram idealizadas, onde a identificação dos transformantes apresentasse como uma característica fenotípica qualitativa, passível de visualização. Os genes *c1* e *B-peru* foram utilizados para a transformação de milho. Estes genes são reguladores de expressão responsáveis pelo o acúmulo de antocianina, um pigmento purpura das plantas que acumula-se principalmente na camada de aleurona das sementes. A efetividade dos respectivos produtos gênicos foi demonstrada quando sementes imaturas de milho F352AG foram bombardeadas com os vetores p35SI-C1 e p35SI-B-peru. Calos embriogênicos de milho foram bombardeados com estes vetores, sendo selecionado visualmente setores com acúmulo de antocianina. A partir destes setores, vários clones celulares foram obtidos através de subculturas e 508 plantas regeneradas. Algumas destas plantas apresentaram padrão diferenciado de acúmulo de antocianina nas pontas das raízes, estigmas e sementes, contrastando com os controles. A análise molecular destas plantas não evidenciou a ocorrência de transgênese, tendo sido considerado variação epigenética, possivelmente devido às condições de cultura *in vitro*.