

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA**

GLAUCIA BARBOSA CABRAL

**Cultura de tecidos e transformação genética de espécies
da família Poaceae**

Piracicaba

2012

GLAUCIA BARBOSA CABRAL

**Cultura de tecidos e transformação genética de espécies
da família Poaceae**

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente

Orientadora: Prof^a Dra. Adriana Pinheiro Martinelli

Piracicaba

2012

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Cabral, Glaucia Barbosa

Cultura de tecidos e transformação genética de espécies da família Poaceae / Glaucia Barbosa Cabral; orientadora Adriana Pinheiro Martinelli. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2012. 158 f.: il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Aceleração de partículas 2. Agrobacterium 3. Arroz 4. Brachiaria 5. Cultura de células vegetais 6. Expressão Gênica 7. Plantas transgênicas I.
Título

CDU 631.52 : 582.542.11

DEDICO

Aos meus amados pais

Socorro e Gerson,

e a minha irmãzinha Glécia

Pelo amor, apoio e confiança incondicionais sempre.

OFEREÇO

*A minha amada filha Ana Clara - minha pequena Cacao
Que do seu jeitinho adoslescente soube entender, ser amiga e
solidária de forma meiga, companheira e inteligente
durante mais esta caminhada juntas. Obrigada minha linda!*

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN), pela oportunidade concedida para realização da pós-graduação e pela bolsa de estudos.

À Universidade de São Paulo e ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) pelo aceite para realização do curso.

À minha orientadora, professora Dra. Adriana Pinheiro Martinelli por aceitar o desafio de me orientar à distância, e por toda a sabedoria e apoio neste período.

À Dra. Diva Dusi, da Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia pelo suporte incondicional, ensinamentos ao longo deste trabalho, e também pela amizade.

À Dra. Vera Carneiro, líder do projeto de APOMIXIA do Laboratório de Reprodução Vegetal (LRV) pelos recursos e suporte técnico para realização desta tese.

À Dra. Ana Claudia Guerra Araújo, ao Dr. Júlio Carlyle e a Lilian Hasegawa Florentino, colegas do LRV pelos debates apomíticos calorosos nas reuniões.

Às meninas doutoras do LRV Larissa e Aninha, pela amizade e cumplicidade no laboratório.

À Ana Cristina, do Laboratório de Microscopia do CENARGEN, e à Mônica, do Laboratório de Histopatologia Vegetal do CENA pelo apoio na microscopia. Assim como, ao Laboratório de Microscopia da ESALQ (NAP/MEPA), na pessoa do professor Kitajima, pelo uso dos equipamentos.

Aos colegas vizinhos de laboratório Dr. Francisco Aragão, Elsa, Andréia, e Thaís do LTG pela convivência amigável, troca de reagentes e experiências durante essa caminhada.

Às amigas Lucília e Eliana por sempre estarem prontas a ouvir e compartilhar os momentos difíceis e alegres, muito obrigada meninas! Sem vocês a vida não teria tanto brilho.

À Neuda da CPG-CENA pela atenção e suporte, e a Marília, bibliotecária do CENA, pela confecção da ficha catalográfica e dicas para correções das referências bibliográficas.

À Fernanda, Walmira e Craveiro do SGP-CENARGEN e à Neuza do DGP-SEDE por todo o suporte ao longo desses anos.

A Moacir do setor de compras do cenargen por sempre tentar viabilizar nossas pesquisas.

À toda minha família, meus pais e minha irmã Glecinha (Gré), pelo apoio incondicional, suporte, convívio harmônico e de muita paz, onde sempre recarrego minhas baterias.

À minha filha Cacao, por ser minha fiel escudeira e uma figura muito especial, me apoiando sempre.

À Xaca (Carmen Morales Ruiz) pela inestimável amizade a qualquer momento, pela franqueza das palavras e total suporte durante essa jornada.

Ao meu namorado Reginaldo, que tem feito toda a diferença, me dando todo apoio e sendo meu companheiro e cúmplice em todos os momentos.

À banca examinadora pelo aceite do convite para participar da defesa.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, muito, mas muito obrigada!

RESUMO

CABRAL, G. B. **Cultura de tecidos e transformação genética de espécies da família Poaceae**. 2012. 158f. Tese (Doutorado) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

Brachiaria é um gênero de forrageiras da família Poaceae que apresenta plantas que se reproduzem por sementes sexualmente e assexualmente por apomixia. A apomixia desperta interesse biológico e biotecnológico, pela perspectiva de levar esta característica de clonagem de plantas via sementes a outras espécies. As cultivares plantadas de *B. brizantha* cv. Marandu e *B. decumbens* cv. Basilisk são poliplóides e reproduzem-se por apomixia, enquanto as plantas sexuais da mesma espécie são diplóides, dificultando sobremaneira o melhoramento pelo não pareamento dos cromossomos nos cruzamentos. A transformação genética é uma estratégia que vem sendo incorporada aos programas de melhoramento genético. A natureza apomítica dessas plantas pode permitir a clonagem e estabilidade das plantas obtidas através de transformação genética. Para transformação genética é necessário o desenvolvimento de um método eficiente de regeneração *in vitro*. *B. brizantha* é considerada recalcitrante ao cultivo *in vitro*, desta forma, métodos eficientes associados com os sistemas de transformação genética ainda não foram descritos na literatura. O arroz (*Oryza sativa*) é uma Poaceae modelo para estudos de genética reversa, no entanto cultivares tropicais do grupo Japônica são recalcitrantes à transformação genética, como é o caso da cultivar Primavera. O método direto de transformação genética mais amplamente utilizado é a biobalística e vem sendo aplicado em espécies de monocotiledôneas, uma vez que essas não são hospedeiros naturais de *Agrobacterium tumefaciens*. No entanto, vários fatores têm sido testados no sentido de favorecer a interação e transferência de genes durante a cocultura para obtenção de transgênicos em diversas espécies de monocotiledôneas. Os objetivos deste estudo foram obter sistemas de regeneração *in vitro* de *B. brizantha* e de *Oryza sativa* cultivar Primavera para transformação genética destas espécies. Para *B. brizantha* foram obtidos sistema de micropropagação, organogênese, calos embriogênicos, unidades embriogênicas e suspensões celulares e para a cultivar Primavera de arroz foram obtidas unidades

embriogênicas, que foram caracterizadas morfo-anatomicamente e quanto às condições de indução, multiplicação e regeneração *in vitro*. Métodos de expressão transiente e estável de genes marcadores foram estabelecidos para *B. brizantha* via biobalística e *Agrobacterium tumefaciens*. A transgenia foi confirmada por métodos histoquímico e molecular como PCR e *Southern blot*. Os sistemas de regeneração e transformação obtidos mostraram-se eficientes e contribuirão para os estudos da apomixia e introdução de genes de interesse em braquiária.

Palavras-chave: *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. *Oryza sativa* cv. Primavera. embriogênese somática. organogênese. biobalística. *Agrobacterium tumefaciens*. genes marcadores.

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

