



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2014
<b>Local</b>	Porto Alegre
<b>Título</b>	Análise de plantas de soja geneticamente modificadas pela inserção de gene com potencial para conferir resistência a insetos fitófagos.
<b>Autor</b>	BRUNO ASCHIDAMINI PRANDI
<b>Orientador</b>	MARIA HELENA BODANESE ZANETTINI

O Brasil é o segundo maior produtor de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] do mundo e as previsões indicam que a produção continuará crescendo. Mesmo com este cenário positivo, diversos estresses ambientais limitam o rendimento desta oleaginosa. Insetos estão entre os principais limitadores bióticos. Já existe disponível comercialmente a soja Bt, que é resistente a lagartas, mas ainda não há plantas de soja geneticamente modificadas com resistência a percevejos. A identificação de genes que possibilitem a obtenção de plantas de soja mais resistentes a estes insetos pode contribuir para a obtenção de cultivares agronomicamente superiores. A atividade inseticida de uma proteína de *Canavalia ensiformis* contra insetos fitófagos foi descrita pelo grupo de pesquisa da Dra. Célia R. Carlini, sendo o gene que codifica esta proteína eleito como candidato para a transformação de soja. O presente projeto tem como objetivos principais a regeneração e análise molecular das plantas potencialmente transgênicas resultantes da transformação de embriões de soja com o gene que codifica um peptídeo derivado da urease de *C. ensiformis*. Quatro vetores contendo parte da sequência codificadora do gene foram previamente construídos por meio da tecnologia Gateway: pEarleyGate100-del, pEarleyGate100-V5, pH7WGD2-del e pH7WG2D-V5. Paralelamente à construção dos vetores, culturas embriogênicas de soja das cultivares Bragg e IAS5 foram estabelecidas para garantir o tecido alvo para os experimentos de transformação. Os conjuntos de embriões somáticos foram submetidos à transformação via bombardeamento. Os tecidos transformados foram selecionados em meio contendo os agentes seletivos apropriados. Meios de cultura específicos foram utilizados para indução da histodiferenciação, maturação e regeneração dos embriões recuperados após quatro meses em sistema de seleção. As plantas regeneradas foram aclimatadas e transferidas para solo a fim de continuar o seu desenvolvimento. Para a análise molecular, foram coletadas três folhas expandidas de cada planta. Em um primeiro momento, foram realizadas as extrações de DNA e RNA pelos métodos CTAB e Trizol, respectivamente. A fim de verificar a qualidade das amostras de DNA e RNA, as mesmas foram analisadas em gel de agarose 1,5% e quantificadas no espectrofotômetro NanoDrop Lite. Reações de PCR foram feitas para amplificação das sequências do transgene (*jbtx*), e dos genes marcadores de seleção *bar* e *hpt*. Para amplificação do transgene, foi utilizado o oligonucleotídeo senso da sequência promotora (35S) e o antisense do transgene. Os produtos da PCR foram resolvidos em gel de agarose 1,5%. Até o momento, o estado transgênico de plantas de 76 eventos, obtidos via bombardeamento, já foi verificado por PCR. A síntese do cDNA foi feita a partir de 1µg de RNA utilizando-se a enzima transcriptase reversa M-MLV. Como perspectivas para o presente projeto destacam-se a caracterização molecular das mesmas quanto ao padrão de expressão do transgene (qPCR), análise da estabilidade e padrão de segregação do transgene e bioensaios. Os bioensaios com insetos alvo e não-alvo servirão como prova de conceito para a capacidade inseticida do peptídeo e confirmarão seu potencial para geração de um futuro produto biotecnológico.