

SALÃO DE  
INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
**XXIX SIC**  
  
**UFRGS**  
PROPESQ



múltipla   
**UNIVERSIDADE**  
inovadora  inspiradora

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2017
<b>Local</b>	Campus do Vale
<b>Título</b>	Plasmídeos Derivados de Vírus para Conferir Resistência a Herbicidas em Eucalyptus
<b>Autor</b>	ISADORA BIANCHIN
<b>Orientador</b>	GIANCARLO PASQUALI

## Plasmídeos Derivados de Vírus para Conferir Resistência a Herbicidas em *Eucalyptus*

Autora: Isadora Bianchin – UFRGS

Orientador: Giancarlo Pasquali – UFRGS

O gênero *Eucalyptus* inclui diversas espécies de importância florestal e industrial que se destacam pelas excelentes características silviculturais e pela aplicação na produção de madeira maciça, celulose e papel. A geração de variantes geneticamente modificadas (GM) de eucalipto que possam conferir vantagens fenotípicas e, conseqüentemente, atender a crescente demanda por produtos derivados da madeira, é de grande importância. Porém, a transgenia do eucalipto ainda apresenta grandes limitações, especialmente nas etapas de regeneração de mudas GM derivadas de matrizes “elite”. Recentemente, a tecnologia *TraitUP*<sup>TM</sup> foi desenvolvida pela empresa Morflora (Israel) como alternativa para a introdução de genes de interesse em plantas, tendo sido comprovadamente eficaz em diversas espécies e gêneros. O método está fundamentado em vetores virais desarmados denominados “IL-60” contendo o(s) gene(s) de interesse. Tais vetores comportam-se como verdadeiros plasmídeos e são capazes de se propagar pela planta de forma assintomática e episódica, levando à expressão do(s) gene(s) de modo sistêmico e duradouro. No presente trabalho, investigamos a aplicabilidade da tecnologia *TraitUP*<sup>TM</sup> em *Eucalyptus*, gerando e testando versões dos vetores IL-60 contendo genes capazes de conferir resistência a herbicidas e a antibióticos seletivos. Os genes *bar* (ou *pat*, fosfinotricina-acetiltransferase) e *nptII* (neomicina-fosfotransferase), capazes de conferir resistência ao herbicida glifosinato e amônio (fosfinotricina) e ao antibiótico canamicina, respectivamente, foram utilizados no estudo e inseridos no vetor p28\_35S\_Gateway, variante do vetor p28\_IR (Morflora) adaptado à tecnologia Gateway (Invitrogen). *Primers* específicos para as seqüências codificadoras dos genes foram projetados e utilizados em PCRs para a amplificação das mesmas a partir dos plasmídeos comerciais pCAMBIA2300 (Cambia) e pWBVec4a (Ming-Bo Wang, 1996). Os amplicons resultantes foram ligados direcionalmente no vetor de entrada pENTR/D-TOPO (Invitrogen) e, após, recombinados com o vetor de destino p28\_35S\_Gateway. Os vetores resultantes p28\_35S-*bar* e p28\_35S-*nptII* tiveram suas identidades e seqüências confirmadas por clivagens com enzimas de restrição e por sequenciamento dos cassetes gênicos. Em paralelo às clonagens moleculares, a concentração letal mínima de canamicina está sendo experimentalmente definida via curva de seleção com diferentes concentrações em plantas de *E. urophylla* cultivadas em hidroponia. A concentração ideal de glifosinato de amônio para a seleção de plantas foi experimentalmente definida em 10 mg/L. Plântulas de *E. urophylla* serão inoculadas com os plasmídeos p28\_35S-*bar* ou p28\_35S-*nptII* e com o plasmídeo auxiliar p1470 via contato direto com as raízes ou injeção no caule, em concentração experimental de 20 µg/mL. As plantas inoculadas serão submetidas à seleção e a resistência será aferida por meio da comparação fenotípica.