

RESUMO

CARVALHO, Juliana Oliveira. **Cultura de tecidos e transformação genética da cultivar de arroz IRGA 426 com o gene da lectina *bvl* de *Bauhinia variegata***. 2018. 92 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

O Rio Grande do Sul é considerado o maior produtor de arroz irrigado do Brasil. Contudo, devido às condições climáticas da região, o potencial produtivo da lavoura de arroz ainda é limitado pela incidência de doenças fúngicas. A utilização de cultivares resistentes ou tolerantes é uma forma alternativa sustentável para reduzir as perdas na produção orizícola. A transformação genética, aliada a cultura de tecidos, vem auxiliando os programas de melhoramento vegetal na geração de plantas resistentes e tolerantes a estresses bióticos e abióticos, contribuindo para a sustentabilidade da orizicultura. Lectinas são proteínas que se ligam a carboidratos e estão envolvidas em diferentes processos biológicos, inclusive na defesa de plantas contra diversos tipos de patógenos. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi introduzir o gene da lectina *bvl* de *Bauhinia variegata* em diferentes explantes da cultivar IRGA 426 a fim de se obter plantas transformadas geneticamente com o gene *bvl*. Para a obtenção das plantas transformadas foram usados calos organogênicos, mesocótilos e a técnica de transformação de botões florais. No experimento para a obtenção de calos via organogênese indireta, o 2,4-D na concentração de 2,0 mg L⁻¹ foi efetiva, induzindo uma média de 47,3 calos, sendo 89% calos organogênicos aptos para a regeneração. Na regeneração dos calos, observou-se a formação média de 12,73 brotações no meio com 0,5 mg L⁻¹ de ANA e 2,5 mg L⁻¹ de BAP. Já na regeneração do mesocótilo, o incremento de BAP no meio de cultivo reduziu diretamente o comprimento das brotações primárias, no entanto esse efeito foi compensado pelo aumento da multiplicação dos explantes, principalmente com 5 mg L⁻¹ de BAP, onde observou-se uma média de 21,16 brotações. Após o processo de infecção com o vetor pH7WGD2::*bvl* e seleção com antibiótico, os calos da cv. IRGA 426 apresentaram hiperhidricidade e não foram regenerados. Dos mesocótilos que passaram pela transformação, 20,66% sobreviveram ao meio de seleção. A análise de PCR revelou uma eficiência de transformação de 6,35% em relação ao total de brotos e, a partir do Western Blot, confirmou-se que 3 plantas estavam expressando a lectina BVL. No método de transformação imersão floral, em todas as sementes putativamente transformadas o gene *gfp* estava ativo, sendo observada a expressão transiente. De acordo com os resultados obtidos, os protocolos de regeneração dos explantes foram eficientes. Análises moleculares das plantas transformadas deverão ser realizadas para determinar o número de cópias do transgene no gDNA e o papel da lectina BVL na fisiologia vegetal e defesa da planta de arroz.

Palavras-chave: lectina; BVL; transformação genética; IRGA 426; fungos

ABSTRACT

CARVALHO, Juliana Oliveira. **Tissue culture and genetic transformation of cv. IRGA 426 with *Bauhinia variegata* lectin *bvl* gene.** 2018. 92 f. Dissertation (Master's Degree in Plant Physiology) - Postgraduate Program in Plant Physiology, Institute of Biology, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2018.

Rio Grande do Sul is the largest producer of irrigated rice in Brazil. However, due to the region's climate, the productive potential of crop farms is still limited by fungal diseases. The use of tolerant or resistant cultivars is a sustainable alternative to reduce loss in rice production. Genetic transformation, coupled with tissue culture, has been assisting vegetable breeding in the production of crops resistant and tolerant to abiotic/biotic stress, contributing to the sustainability of rice culture. Lectins are proteins that bind to carbohydrates and are involved in several biological processes, including defense against diseases in plants. The main goal of this study was the insertion of the *Bauhinia variegata* BVL Lectin gene in different explants of cultivar IRGA 426 to obtain transformed plants with the BVL gene. To obtain the transformed plants, organogenic callus, mesocotyls and flower buds transformation technique were used. In the experiment for obtaining callus through indirect organogenesis, 2,4-D at 2,0 mg L⁻¹ was effective, inducing the formation of an average of 47,3 calluses, of which 89% of embryogenic callus were apt for regeneration. In the regeneration step, an average of 12,73 sprouts in medium with 0,5 mg L⁻¹ of ANA and 2,5 mg L⁻¹ of BAP was observed. In the mesocotyls regeneration, the BAP increment in the growing medium directly reduced the length of primary shoots; however, this effect was compensated by the increase of explant multiplication, mainly with 5 mg L⁻¹ of BAP, where an average of 21,16 sprouts were observed. After infection with the pH7WGD2::*bvl* vector and antibiotic selection, the callus of cv. IRGA 426 showed hyperhydricity and were not regenerated. Of the mesocotyls that went through transformation, 20,66% survived the selection medium. PCR analysis revealed a transformation efficiency of 6,35% in all sprouts and, through Western Blot, 3 plants were confirmed to express the BVL lectin. In the floral immersion transformation method, in all transformed seeds the GFP gene was active, with transient expression being observed. Based on the results obtained, the explant regeneration protocols were efficient. Molecular analysis of the transformed plants should be made to determine the number of copies of the transgene in gDNA and the role of BVL lectin in the plant physiology and its role in the plant's defense.

Keywords: lectin; BVL; genetic transformation; IRGA 426; fungi