



Padronização de Metodologia para Transformação Genética de *Arabidopsis thaliana* e sua Aplicação na Introdução de Genes de Resistência a Estresses Ambientais

Mariana Ramos Leandro, Suzane Ariádina de Souza, Luciano de Souza Vespoli, Stephany Ventieri Ferreira Pereira Mendes, Gonçalo Apolinário de Souza Filho,

Nos últimos anos, a engenharia genética vem se destacando no setor agrônomo, por ser uma alternativa importante na obtenção de novos cultivares resistentes a estresses ambientais. Bactérias tolerantes estresses ambientais, como estresses osmótico e oxidativo, são importantes fontes de genes para obtenção de plantas transgênicas que apresentem tolerância a tais estresses. Uma das técnicas para a transformação de plantas é via *Agrobacterium tumefaciens*, uma vez que esta técnica permite a incorporação de genes exógenos no genoma do vegetal. O objetivo do presente trabalho é padronizar a metodologia de transformação de plantas de *Arabidopsis thaliana* para, em seguida, realizar a introdução de genes potencialmente envolvidos na resistência a estresses. Para tanto, na primeira etapa, células da bactéria *A. tumefaciens* foram submetidas a um banho de CaCl_2 para obtenção de células competentes. Posteriormente, 500ng de DNA plasmidial (vetor de expressão pA19-pde1001-RFP) foram adicionados a um tubo de 1,5 mL contendo 200 μL de células competentes e, para a incorporação do vetor pelas células, a amostra foi submetida às seguintes etapas do método de congelamento/descongelamento: 15 minutos no gelo, 5 minutos no nitrogênio líquido, 5 minutos a 37°C e, por fim, 5 minutos no gelo. Para que seja realizada a transformação de *A. thaliana*, plântulas de 18-21 dias de idade serão submetidas à técnica de *Floral Dip*, onde ocorrerá o mergulho floral de suas inflorescências em uma solução de imersão contendo *A. tumefaciens* em suspensão. A fim de aumentar a eficiência de transformação, algumas variáveis serão testadas na técnica de *Floral Dip*, tais como a D.O. da *A. tumefaciens* na solução de imersão e número de repetições de aplicação da solução. Após a identificação da metodologia de transformação mais eficiente, genes de bactérias tolerantes a estresses ambientais poderão ser utilizados visando a obtenção de plantas transgênicas que melhor atendam aos interesses do setor agrícola.

Palavras-chave: *Arabidopsis thaliana*, *Agrobacterium tumefaciens*, transformação genética

Instituição de fomento: FAPERJ, INCT-FBN, CNPq, CAPES