

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Hortaliças
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Transformação Genética de Plantas via *Agrobacterium*: Teoria e Prática

*Antonio Carlos Torres
André Nepomuceno Dusi
Maria do Desterro Mendes dos Santos*
Editores Técnicos

*Embrapa Hortaliças
Brasília, DF
2007*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Hortaliças

BR 060, Rodovia Brasília – Anápolis, Km 9

Caixa Postal 218, 70359-970 Brasília, DF

Fone: (61)3385-9009

Fax: (61)3556-5744

sac@cnph.embrapa.br

www.cnph.embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Hortaliças

Presidente: Gilmar P. Henz

Secretária-Executiva: Fabiana S. Spada

Editora Técnica: Flávia A. de Alcântara

Membros: Alice Maria Quezado Duval, Edson Guiducci Filho,

Milza Moreira Lana e Rosane Mendes Parmagnani

Normalização bibliográfica

Rosane Mendes Parmagnani

1ª edição

1ª impressão (2007): 500 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Hortaliças

Transformação genética de plantas via *Agrobacterium*: teoria e prática / editores técnicos, Antonio Carlos Torres, André Nepomuceno Dusi, Maria do Desterro Mendes dos Santos. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2007.
195 p. : il.

ISBN 978-85-86413-11-7

1. Biotecnologia – Manejo. I. Torres, Antonio Carlos. II. Dusi, André Nepomuceno. III. Santos, Maria do Desterro Mendes dos.

CDD 631.52 (21. ed.)
CDD 635.642 (21. ed.)

©Embrapa 2007

Apresentação

A transformação genética de plantas é hoje uma realidade no País. Apesar de as liberações comerciais serem ainda de poucos eventos e das recorrentes ações judiciais embargando novas liberações, a pesquisa nessa área avança a passos largos.

As informações sobre conceitos, técnicas e protocolos de transformação genética de plantas são amplamente encontradas na literatura. Entretanto, estão de forma dispersa em artigos científicos, alguns livros e teses, principalmente em outras línguas que não o Português.

Dessa forma, na elaboração deste livro, procurou-se condensar, de forma simples, conceitos sobre o tema, englobando os princípios técnicos da transformação genética de plantas, questões associadas à biossegurança, orientações de como estruturar um laboratório para esse tipo de trabalho e uma coletânea de protocolos de transformação de diferentes espécies de plantas. Espera-se, com esta publicação, contribuir especialmente na orientação de novos profissionais que ingressam na área, para que possam estruturar sua linha de trabalho de modo mais ágil.

Os editores e autores dos capítulos deste livro agradecem, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), o apoio no financiamento de bolsas e projetos de pesquisa que propiciaram o desenvolvimento dos protocolos aqui apresentados.

José Amauri Busi
Chefe-Geral da Embrapa Hortaliças

Sumário

Capítulo 1

Laboratório de cultura de tecidos de plantas 11

Maria do Desterro Mendes dos Santos
Sílvia Lopes Teixeira
Antonio Carlos Torres

Capítulo 2

Transformação genética via *Agrobacterium tumefaciens* 31

Maria do Desterro Mendes dos Santos
Antonio Carlos Torres

Capítulo 3

Identificação de plantas transgênicas 59

Lucília Helena Marcellino
Eduardo Romano
Eugen Silvano Gander

Capítulo 4

Plantas transgênicas e biossegurança 81

André Nepomuceno Dusi

Capítulo 5

Transformação genética de citros 95

Marcio Gilberto Cardoso Costa
Maria Lulza Peixoto de Oliveira
Elisonete Ribeiro Garcia Lani
Wagner Campos Otoni

Capítulo 6

Transformação genética de maracujazeiros 123

*Wagner Campos Otoni
Maureciline Lemes da Silva
Andreia Barcelos Passos Lima
Daniela Lopes Paim Pinto
Elisonete Ribeiro Garcia Lani
Luciano Bueno dos Reis*

Capítulo 7

Transformação genética de tomateiro 143

*Marcio Gilberto Cardoso Costa
Lúcio Mauro da Silva Guimarães
Gustavo Augusto Moreira Guimarães
Fábio Tebaldi Silveira Nogueira
Wagner Campos Otoni*

Capítulo 8

Transformação genética de berinjela 163

*Edgard Augusto de Toledo Picoli
Ana Paula de Oliveira Ribeiro
Wagner Campos Otoni*

Capítulo 9

Transformação genética de batata 179

*Maria do Desterro Mendes dos Santos
José Getúlio da Silva Filho
Antonio Carlos Torres*

Capítulo 10

Transformação genética de alface 189

*Maria do Desterro Mendes dos Santos
José Getúlio da Silva Filho
Antonio Carlos Torres*

Laboratório de cultura de tecidos de plantas

*Maria do Desterro Mendes dos Santos
Silvio Lopes Teixeira
Antonio Carlos Torres*

A cultura de tecidos de plantas refere-se às técnicas de cultura em meio nutritivo, em condições assépticas, de células, tecidos ou órgãos de planta, sob condições controladas de luminosidade e temperatura. Essas técnicas exigem elevado padrão de assepsia. Na elaboração do projeto de um laboratório de cultura de tecidos deve-se considerar a sua finalidade, ou seja, se for para pesquisa, ensino ou para uso comercial. Laboratórios de grande porte costumam ser dotados de sistema de pressão positiva, que consiste em pressionar continuamente ar filtrado, externo, para o interior do laboratório, de modo que mantenha uma pressão interna maior que a externa. O motivo de maior pressão no ambiente limpo é o de forçar a eventual saída do ar limpo através de fendas, rachaduras para o exterior, não permitindo, dessa forma, a entrada de ar contaminado para o interior. Para garantir uma maior assepsia, também recomenda-se a compartimentalização das atividades dentro do laboratório, separando as atividades que lidam com material contaminado daquelas que trabalham com material esterilizado e que exigem ambiente asséptico.

Durante o planejamento do laboratório, deve-se dimensionar a sala para manutenção das culturas (sala de cultura ou de crescimento) em função da produção diária, mensal ou anual desejada. A partir