

## Morfogênese *in vitro* e potencial de transformação de genótipos de cana-de-açúcar IAC via *Agrobacterium tumefaciens*

Martins, APB<sup>1,2</sup>; Festucci, CDS<sup>2</sup>; Molinari, HBC<sup>3</sup>; Goldman, MHS<sup>1</sup>; Landell, MGA<sup>2</sup>; Creste, S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Molecular de Plantas – Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo

<sup>2</sup>Instituto Agrônomo de Campinas – Centro de Cana

<sup>3</sup>Embrapa Agroenergia

**Palavras-chave:** *Saccharum*, transformação genética, *Agrobacterium*, micropopagação, gene bar, GUS

Introdução: O cultivo de cana-de-açúcar geneticamente modificada ainda é um grande desafio para os programas de melhoramento, porém apresenta-se como uma grande oportunidade para sustentabilidade e eficiência do setor sucroalcooleiro, uma vez que deverá permitir ganhos não alcançados pelo melhoramento convencional. Nesse sentido, a otimização de técnicas de cultivo *in vitro*, como a embriogênese somática, aliada à padronização dos procedimentos envolvidos na transformação genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, são imprescindíveis para viabilizar esta tecnologia. Neste trabalho, objetivou-se avaliar a capacidade de regeneração e morfogênese *in vitro* de três cultivares de cana pertencentes ao Programa Cana IAC. Métodos: Foram avaliadas a capacidade de regeneração e morfogênese *in vitro* dos cultivares IACSP96-2042, IACSP96-3060 e IACSP95-5000, submetidas à infecção com *Agrobacterium tumefaciens*. Como fontes de explantes, foram utilizados cortes transversais provenientes da base de plântulas de cada um dos genótipos mantidos *in vitro*. Os explantes foram inoculados com as linhagens C58C1 e EHA-105 portando os vetores binários pSoup e pBract304, os quais contêm os genes *BAR (pat)* e *GUS (uidA)*. Três densidades ópticas (ODs) foram avaliadas em cada combinação genótipo-cepa: O.D.<sub>600</sub> 0,4, 0,6, e 0,8. Os frascos contendo os explantes em meio de cultura seletivo (fosfotricina - PPT) foram transferidos para a câmara de germinação e incubados em condições adequadas de luminosidade e temperatura para regeneração dos explantes. Resultados: As maiores taxas de regeneração (58%) foram obtidas com o cultivar IACSP96-3060, inoculado com a cepa C58C1, em uma O.D.<sub>600</sub> = 0,4, e em uma pressão de seleção de 1mg/L (PPT) no meio de cultura. As menores taxas (~ 4%) foram obtidas com esse mesmo cultivar, a linhagem EHA-105 em uma O.D.<sub>600</sub> = 0,8, sob as mesmas condições de seleção descritas anteriormente. Em relação às taxas de transformação, dados preliminares indicam o desenvolvimento de brotos resistentes a PPT (6mg/L) e *GUS*-positivos, com uma frequência variável entre 6,6% a 33%. Conclusões: Os resultados permitem concluir que muitos fatores afetam a eficiência da transformação genética via *Agrobacterium tumefaciens* em cana-de-açúcar. Sem dúvida, o genótipo tem sido apontado por diversos autores como um dos fatores determinantes no sucesso da transformação genética nesta cultura. Além disso, a origem do explante, o tipo de cepa, e as ODs bacterianas utilizadas parecem ser fatores relevantes para uma boa eficiência na transformação de cana-de-açúcar. Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FAPESP e FUNDAG