

Transformação genética de laranja doce com gene *EDS5* isolado de *Citrus sinensis*

Gabriel Oliveira Matsumoto¹, Liliane Cristina Libório Stipp¹, Juliana de Freitas Astúa², Francisco de Assis Alves Mourão Filho¹

¹Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, ²Embrapa Mandioca e Fruticultura

gabriel.matsumoto@usp.br

Objetivos

Frente aos desafios da citricultura, principalmente, relacionados ao manejo de doenças, este trabalho teve por objetivo a introdução do gene *EDS5* isolado de *Citrus sinensis* L. Osbeck em dois cultivares de laranja doce, visando a superexpressão deste gene, originando indivíduos potencialmente tolerantes a doenças.

Métodos e Procedimentos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia de Plantas Hortícolas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Para realização dos experimentos de transformação genética, foram utilizados dois cultivares de laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck), ‘Hamlin’ e ‘Valência’, coletando-se explantes de epicótilo (0,8 a 1,0 cm) provenientes de sementes germinadas *in vitro*. Os explantes foram imersos em solução bacteriana de *Agrobacterium tumefaciens* da estirpe EHA 105, contendo o vetor pCAMBIA 2301 com gene *EDS5* clonado de *C. sinensis* e dirigido pelo promotor Ubiquitina 10. Estudos sugerem que este gene está relacionado com o acúmulo de ácido salicílico (SA) e expressão das proteínas relacionadas à patogênese (PRP), especialmente a PR-1 (NAWRATH; MÉTRAUX, 1999; NAWRATH et al. 2002). Após a transformação genética e regeneração dos brotos, foi realizada a identificação da transgenia pelo teste histoquímico do GUS e confirmação pelo teste de PCR. Os brotos obtidos foram enxertados em citrange ‘Carrizo’

(*C. sinensis* X *Poncirus trifoliata*). Os eventos identificados e confirmados como GUS e PCR positivos foram aclimatizados em condições de alta umidade e fotoperíodo de 16 horas a 27°C.

Resultados

Foram realizados nove experimentos de transformação genética, utilizando-se 2722 explantes de epicótilo, dos quais 60 brotos regeneraram e foram identificados como GUS positivos. Destes, 36 foram confirmados como PCR positivos. A eficiência média de transformação foi de 2,20% sendo que a laranja ‘Hamlin’ foi mais eficiente comparada a laranja ‘Valência’. O cálculo da eficiência de transformação foi realizado através da razão entre o número de brotos GUS positivos e número de brotos regenerados.

Conclusões

Obtiveram-se plantas transgênicas de laranja doce de ambos os cultivares ‘Hamlin’ e ‘Valência’ com o gene *EDS5*.

Referências Bibliográficas

- NAWRATH, C.; MÉTRAUX, J. P. Salicylic acid induction-deficient mutant of *Arabidopsis* express PR-2 and PR-5 and accumulate high levels of camalexin after pathogen inoculation. **The Plant Cell**, Rockville, v.11, p. 1393-1404, 1999.
- NAWRATH, C.; HECK, S.; PARINTHAWONG, N.; MÉTRAUX, J. P. *EDS5*, na Essencial component os salicylic acid-dependent signaling dor disease resistance in *Arabidopsis*, is a member of MATE transporter family. **The Plant Cell**, v.14, p. 275-286, 2002.