

Seleção de Genótipos de Algodão para Transformação por Biolística⁽¹⁾

Nátaly Duarte Lopes da Costa², Rafaela Gonçalves da Silva³, Josias Correa de Faria⁴, Camilo Leles Morello⁵, Francisco José Lima Aragão⁶ e Lucia Vieira Hoffmann⁷

¹ Pesquisa financiada pela Embrapa.

² Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, estagiária da Embrapa Algodão - Núcleo Cerrado, Santo Antônio de Goiás, GO

³ Bolsista PIBIC, estudante de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Goiás, estagiária da Embrapa Algodão - Núcleo Cerrado, Santo Antônio de Goiás, GO

⁴ Engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

⁵ Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Algodão - Núcleo Cerrado, Santo Antônio de Goiás, GO

⁶ Engenheiro-agrônomo, doutor em Biologia Molecular, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

⁷ Engenheira-agrônoma, doutora em Microbiologia Agrícola, pesquisadora da Embrapa Algodão - Núcleo Cerrado, Santo Antônio de Goiás, GO

Resumo - Parte dos desafios da cultura do algodão pode ser solucionada por transgenia, se o procedimento de obtenção de transgênicos for facilitado. Um dos métodos de transformação genética do algodoeiro é a biolística, utilizando partículas de tungstênio como carreador do DNA a ser introduzido na região apical do meristema embrionário, extraído, portanto, da semente em germinação. Nesse processo é necessário um bom agente seletivo que seja translocado e acumule nessa região, podendo ser utilizado o herbicida Imazapyr, por sua translocação ao meristema. Neste caso, o gene *ahas* isolado de *Arabidopsis thaliana*, que confere resistência ao Imazapyr, deve ser introduzido na transgenia, ligado ao gene de interesse. Os objetivos deste trabalho foram: i) desenvolver um modo prático de exposição na região apical do meristema embrionário que permita preparo de vários explantes no mesmo dia para o bombardeamento; ii) selecionar genótipos de algodão com boas características agrônômicas e de qualidade de fibra que se adequem bem a esse método; iii) verificar se sementes colhidas a campo e beneficiadas mecanicamente têm qualidade fitossanitária e podem ser adequadamente utilizadas sem gerar contaminação; e iv) fazer curva de resistência ao Imazapyr em meio Murashige e Skoog (MS). Oito genótipos de algodoeiro adaptados, do ensaio de linhagens avançadas ou de ensaios de valor, cultivo e uso foram comparadas quanto à característica de exposição do meristema apical no eixo embrionário, não ocultado pelas folhas primárias após a retirada das folhas cotiledonares, em lupa. Foram escolhidos três genótipos com boa exposição do meristema apical. A desinfestação das sementes foi realizada por exposição a álcool 70% por um minuto, seguida de hipoclorito de sódio 2,5% por dez minutos e enxaguadas três vezes com água estéril. As sementes desinfestadas foram colocadas em tubos tipo Falcon, com capacidade de 50 ml, e submersas em água esterilizada, os quais foram então levados ao escuro por 24 horas e, após esse período, ocorre a retirada da água, aguardando mais 24 horas no escuro para a germinação, no caso do genótipo utilizado, ou até a radícula ter cerca de um centímetro, logo o tempo depende da velocidade de germinação de cada genótipo de algodão. Testou-se retirar o tegumento da semente com pinça e estilete ou usando as mãos revestidas de luvas cirúrgicas comuns, desinfestadas com álcool. No caso do uso de luvas, os meristemas foram desinfestados mais uma vez em álcool 70% por um ou dois segundos e hipoclorito de sódio 0,5% por oito minutos e enxaguadas três vezes em água estéril. O método de desinfestação foi eficiente, com contaminação por bactérias em dois dos 75 explantes utilizados. Foram testadas diferentes doses de Imazapyr para determinar a dosagem de seleção. A dose de 100 nM de Imazapyr já afetou o desenvolvimento de explantes, conforme observação aos 20 dias de desenvolvimento em meio MS, e a inibição do desenvolvimento aumenta com a dosagem de Imazapyr (200, 300, 400 500 e 600 nM). O projeto está sendo continuado, realizando o bombardeamento de um dos genótipos escolhidos, após o processo de desinfecção, com o DNA de interesse.