

Ensaio de transformação da videira BRS Clara

Renata Dal Magro¹; Valéria Aquino Canterle²; Márcia Maria Auxiliadora Naschenveng Pinheiro Margis³; Regina Beatriz Bernd⁴

A transformação genética é uma técnica de transferência não sexuada de genes ou fragmentos de DNA para organismos receptores, que cria a possibilidade da incorporação de características com importância agrônômica em plantas. Este trabalho teve como objetivo a definição de um protocolo para transformação genética da cultivar de uva de mesa apirênica BRS Clara, utilizando-se como vetor de transformação a cepa AGL1 de *Agrobacterium tumefaciens*, com vetor binário *pA19GUSH1* contendo os genes que codificam a enzima β -glucuronidase (*GUS*) e a enzima higromicina fosfotransferase (*hpt*). Embriões somáticos obtidos a partir de anteras imaturas foram imersos durante 10 minutos em meio líquido de co-cultivo (*GS1CA* com 100 μ g/mL de acetoseringona), com suspensão de *A. tumefaciens*. O excesso de líquido foi removido e os embriões foram plaqueados em meio sólido de co-cultivo e incubados à 25°C, escuro, durante 72 horas. Após o co-cultivo, os embriões foram lavados em água estéril com antibióticos (200mg/L de cefotaxima e 150 μ g/mL de timentina) e transferidos para meio *GS1CA* com os antibióticos supracitados, mais o antibiótico de seleção (50 mg/L de higromicina), sendo repicados a cada 30 dias. A partir do 37º dia em cultivo, os embriões maduros e não-oxidados foram sendo semanalmente transferidos para meio de regeneração sem antibióticos. Apenas um embrião regenerou e enraizou, mas a plântula possuía deformidades e não se desenvolveu. O DNA total desta plântula foi isolado e submetido a *PCR*, com *primers* para os genes *hpt* e *GUS*. Raízes desta plântula e os embriões selecionados foram submetidos a testes histoquímicos, onde tecidos transformados com gene *GUS* apresentam coloração azul, mas não houve resultado positivo. A plântula regenerada em meio seletivo não apresentou a inserção dos genes *hpt* e *GUS*. Novos experimentos serão realizados com outras cepas de *A. tumefaciens* e variações nas condições de co-cultivo e seleção com antibiótico.

¹ Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, 95700-000, Bento Gonçalves, RS. renatadm@cnpuv.embrapa.br

² Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, 95700-000, Bento Gonçalves, RS. valeria@cnpuv.embrapa.br

³ UFRGS, Instituto de Biociências, Departamento de Genética, Campus do Vale, Caixa Postal 15053, 91501-970, Porto Alegre, RS. marcia.margis@ufrgs.br

⁴ Embrapa Uva e Vinho, Caixa Postal 130, 95700-000, Bento Gonçalves, RS. bernd@cnpuv.embrapa.br