

TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE *COFFEA ARABICA* ATRAVÉS DO BOMBARDEAMENTO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS E SELEÇÃO EM CANAMICINA

Barros, Érika VSA de¹; Cunha, Welcimar G da²; Machado, Flávia RB³; Barbosa, Maria FF⁴; Soares, Fábio Q⁵; Paixão, André LD⁶; Vianna, Giovanni R⁷

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – CENARGEN Laboratório de *Agrobacterium* – PBI, PqEB Av. W5-Norte (final) Brasília – DF, Brasil, 707770-900.

erikavsa@cenargen.embrapa.br

Palavras-chave: *Coffea arabica* biobalística, transformação

A obtenção de novas cultivares adaptadas às necessidades da produção agrícola é um desafio constante no melhoramento genético do cafeeiro. Nos últimos anos, a criação de técnicas biotecnológicas vem trazendo novas perspectivas para a cultura do café ao permitir a introdução de genes específicos em variedades elite em um espaço de tempo significativamente reduzido. Entretanto, apesar dos vários estudos já desenvolvidos, ainda não foi descrito um protocolo de alta eficiência para a obtenção de plantas transgênicas de *C. arabica*. Como alternativa aos protocolos já existentes ou em estudo, o presente trabalho tem por objetivo o estabelecimento de um protocolo eficiente para a introdução de transgenes em *C. arabica*. Neste trabalho são apresentados resultados do bombardeamento de calos embriogênicos e seleção de transformantes em canamicina. Discos foliares de *C. arabica* variedade Catuaí Vermelho foram cultivados em meio C modificado contendo 20 µM de 2,4-D e incubados por 6 meses. A massa de calos embriogênicos formada foi bombardeada 24 h após pré-tratamento osmótico com manitol 0,5M. Para este procedimento foi utilizado o vetor pBI 426 contendo o gene *gus*, que codifica para a enzima βglucuronidase, e o gene *nptII* que confere resistência a canamicina. A massa de calos bombardeados foi então transferida para o meio C modificado e subcultivada em doses crescentes de canamicina. Os embriões regenerantes em canamicina 400 mg/L foram transferidos para o meio WPM e as plantas geradas a partir destes embriões estão sendo transferidas para a casa de vegetação. Até o momento, 178 embriões regenerantes em meio seletivo já foram transferidos para o meio de crescimento WPM e 30 plantas já se encontram em estado de aclimação na casa de vegetação. O teste histoquímico dos calos embriogênicos, embriões e das folhas e raízes das plantas regenerantes revelou a atividade da enzima GUS. As plantas que apresentaram o resultado positivo quanto a atividade da enzima GUS foram utilizadas para a extração do DNA total e este utilizado para a detecção dos genes *gus* e *nptII* através da técnica de PCR. A análise molecular revelou a presença dos genes *gus* e *nptII* nas 30 plantas que se encontram em estado de aclimação na casa de vegetação. Desta forma, os resultados obtidos indicam o estabelecimento de uma nova e promissora metodologia visando a introdução de genes de interesse em *C. arabica*. Até o momento, não foi relatado outro trabalho com obtenção de plantas transformadas de *C. arabica* através do processo de biobalística.

Apoio Financeiro: Embrapa, Consórcio Brasileiro de Pesquisa dos Cafés do Brasil e FAPEAGRO.