

CONSTRUÇÃO DE VETORES PARA BOMBARDEAMENTO DE *COFFEA ARABICA* E *COFFEA CANEPHORA*

Barbosa, Maria FF¹; Vianna, Giovanni R²; Machado, Flávia RB³; Paixão, André LD⁴; Soares, Fábio Q⁵, Sá, Maria FG de⁶; Barros, Érika VSA de⁷

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: bombardeamento, transformação, vetor, café

O café é o mais tradicional produto de exportação brasileiro, sendo que atualmente o país ocupa a posição de maior produtor e exportador mundial. Apesar disso, a cafeicultura brasileira sofre enormes prejuízos causados por pragas e doenças. A broca-do-café, *Hypothenemus hampei*, constitui uma das principais pragas do café em vários países produtores, atacando as espécies *Coffea canephora* e *Coffea arabica*. O melhoramento tradicional de plantas perenes para obtenção de resistência é um processo bastante demorado, além do que a base genética do café é considerada estreita. A transformação genética destas espécies de café, utilizando vetores contendo um gene de interesse, pode levar a resultados mais rápidos na obtenção de plantas resistentes à broca. O gene da α -AI 1, retirado do feijão comum, é um inibidor natural das amilases digestivas da broca-do-café, conforme demonstrado em ensaios “in vitro”. Como a análise da expressão do gene em frutos das plantas transformadas dependerá do longo ciclo juvenil desta cultura, serão utilizadas nos experimentos de transformação diversas opções de construções variando: terminador, promotor tecido específico e gene de seleção na planta. Neste trabalho, são descritas as construções de dois vetores para inserção de terminadores de transcrição de diferentes origens e tamanhos no vetor pTA2, que contém o gene estrutural da α AI 1 sob controle do promotor da fitohemaglutinina. O terminador OCST (650pb) da octopina sintase foi isolado do plasmídeo pMD4 e o PHAt (3.500pb), da própria fitomagnutina, do plasmídeo Puc18/PHAt através de digestão com as enzimas XbaI e EcoRI. Posteriormente os fragmentos correspondentes ao vetor e os terminadores foram isolados através do kit Wizard SV Gel, ligados ao pTA2 tratado com as mesmas enzimas e transformados em *E.coli*. Foram obtidos os vetores p α AI1tocs e p α AI1tpha, contendo os terminadores da octopina e fitohemaglutinina, respectivamente. O mapa de restrição das construções foi confirmado e os vetores foram então amplificados para o co-bombardeamento, com vetores da série pCAMBIA, de calos embriogênicos tanto de *C. canephora* quanto *C. arabica*. Este sistema de transformação visa a obtenção de plantas para fins comerciais, não contendo portanto genes marcadores para análise de expressão transiente.

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