

OBTENÇÃO DE EMBRIÕES DE COFFEA CANEPhORA TRANSFORMADOS ATRAVÉS DO CO-CULTIVO COM AGROBACTERIUM

Paixão, André LD¹; Cruz, Andréa RR²; Machado, Flávia RB³; Barbosa, Maria FF⁴; Soares, Fábio Q⁵; Cabral, Gláucia B⁶; 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: co-cultura, *Coffea canephora*, PPT

O sistema cafeeiro brasileiro é um dos mais importantes complexos agroindustriais. O café é produzido em cerca de 1.700 municípios, abrangendo aproximadamente 300 mil unidades produtivas. Proporciona 7 milhões de empregos diretos e indiretos com a produção média de 28 milhões de sacas. Entretanto a cafeicultura brasileira sofre enormes prejuízos causados pela Broca-do-café (*Hypothenemus Hampei*) que ataca as espécies de *C. canephora* e *C. arabica* em todos os estádios de maturação e secos. A busca por novos materiais genéticos que respondam às necessidades de controle de pragas tem sido uma constante. Reunir os melhores genes numa variedade de forma que as características superiores sejam herdadas é um desafio para os melhoristas, uma vez que no cruzamento ocorre também a transferência de muitos caracteres indesejáveis. Este é um trabalho que leva cerca de 20 a 30 anos para ser avaliado. Assim, a transformação genética surge como uma nova ferramenta do melhoramento permitindo a introdução do gene de interesse para a seleção de variedades adaptadas em um menor espaço de tempo. Este trabalho apresenta o desenvolvimento de um protocolo de co-cultivo da massa embriogênica de *C. canephora*. As folhas foram inoculadas em meio de crescimento C com 10µM 2,4D, 5µM 2iP, 5µM de AIB, 2% de sacarose (denominado C10) onde se obtiveram calos friáveis. Estes calos foram co-cultivados com a linhagem de *Agrobacterium tumefaciens* EHA 105 contendo vetor binário pCAMBIA 3301. Os calos permaneceram em co-cultivo sólido por 4 dias, sendo então transferidos para meio C10 sólido sem seleção para células vegetais. Posteriormente o material foi selecionado em sólido 10µM 2,4D, 5µM 2iP, 5µM de AIB, 2% de sacarose contendo 10µM de glufosinato de amônio (PPT) e 200 mg/L de Timentin. Após 2 meses de sub-cultivo obtivemos calos embriogênicos expressando o gene indicador *gus*. Os calos foram transferidos para meio líquido de regeneração “R” + PPT sob agitação na luz. Após 2 meses de cultivo obtivemos embriões de *C. canephora* em estádio de torpedo e desenvolvendo cotilédones que expressam o gene *gus*. Estes resultados indicam o estabelecimento de uma metodologia de transformação genética de *C. canephora*. O método aqui descrito já está sendo utilizado em experimentos para introdução do gene da a-Al1, um inibidor natural das amilases digestivas da Broca-do-café que demonstrou ser efetivo em experimentos “in vitro”.

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