

Manose como agente seletivo na transformação genética de eucalipto

Alice Lichs Marssaro

Acadêmica do curso de Biotecnologia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Laudiane Bruna Zanella,

Acadêmica do curso de Biotecnologia, Universidade Tuiuti do Paraná

Juliana Degenhardt-Goldbach

Engenheira-agrônoma, Doutora, Pesquisadora da Embrapa Florestas

juliana@cnpf.embrapa.br

O sistema de seleção *PMI/Manose*, que utiliza o gene *phosphomannose-isomerase* (*pmi*) como marcador de seleção e a Manose como agente seletivo, pode ser uma alternativa na transformação genética de plantas, a fim de evitar o uso de antibióticos ou herbicidas e tem apresentado resultados tão ou mais eficientes que os sistemas tradicionais, em várias culturas. Nesse trabalho, objetivou-se a avaliação deste sistema na transformação genética de eucalipto. A transformação ocorreu via *Agrobacterium tumefaciens* (plasmídeo pNOV2918). Utilizou-se folhas com pecíolo do clone 3336 de *Eucalyptus urograndis* como explantes. Os explantes foram infectados com a bactéria, após a realização de ferimentos com bisturi. Os mesmos foram plaqueados em meio WPM (+30 gL⁻¹ sacarose + 500 mg L⁻¹ PVP + 0,25 µM TDZ + 0,1 µM ANA + 7 gL⁻¹ ágar) e cultivados em câmara de crescimento a 23±2 °C, por quatro dias (co-cultivo) no escuro, quando então foram lavados para eliminar a agrobactéria. Posteriormente, foram repicados para meio de regeneração seletivo WPM (anteriormente descrito), acrescido de diferentes concentrações de manose (2,5, 5,0 e 7,5 gL⁻¹) combinada com sacarose (27,5, 25 e 22,5 gL⁻¹, respectivamente). Após 30 dias, os explantes passaram a ser cultivados sob fotoperíodo de 16 h de luz em meios com maiores concentrações de manose (5, 10 e 15 mgL⁻¹) combinadas com menores de sacarose (25, 20 e 15 gL⁻¹, respectivamente). Cada tratamento continha 5 placas com 20 explantes. Após 30 dias foi avaliada a porcentagem de formação de brotos. Houve formação de brotos nos tratamentos com 2,5 gL⁻¹ e 10 gL⁻¹ de manose (1% e 3%, respectivamente). Embora os resultados não tenham diferido estatisticamente (teste t-student), observou-se que os explantes no tratamento com menor concentração de manose apresentaram menos necrose e maior formação de calos. Os resultados sugerem que a manose é promissora na seleção de plantas transgênicas de eucalipto. No entanto, a avaliação molecular das plantas regeneradas ainda deverá ser realizada para confirmar se houve a transformação.

Palavras-chave: *Eucalyptus urograndis*; *pmi/man*; seleção.

Apoio/financiamento: Embrapa Florestas.