

IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE GENES DE POLIGALACTURONASE DE *Coffea arabica*

Sandra M. B. CAÇÃO¹, Rafaelo M. GALVÃO¹, Luiz F. P. PEREIRA², Luiz G. E. VIEIRA¹

¹IAPAR/ Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Caixa Postal 481, 86000-970 - Londrina - PR. ²Embrapa Café
Email: lpereira@pr.gov.br

As poligalacturonases (EC 3.2.1.15, PG) são responsáveis pela degradação dos ácidos poligalacturônicos da parede celular, contribuindo para desassociação celular. Durante a maturação dos frutos, as poligalacturonases estão envolvidas na solubilização e na despolimerização da pectina aumentando a maciez do fruto. As poligalacturonases também participam de outros processos fisiológicos onde ocorre a separação de células como a abscisão e deiscência, germinação do pólen, formação do tubo polínico e resposta a estresses bióticos. A caracterização de genes de poligalacturonases possibilitará um maior entendimento do padrão de expressão deste gene e do funcionamento da enzima, podendo ser o ponto de partida para aplicações quanto à qualidade do café. Portanto este trabalho tem como objetivo a identificação e caracterização de genes de poligalacturonase de *Coffea arabica* que, subseqüentemente, serão utilizados para experimentos de transformação genética visando o controle do amadurecimento de frutos. Oligonucleotídeos foram desenhados baseados no alinhamento de seqüências conservadas de genes da poligalacturonase do banco de dados GeneBank. A reação de PCR foi conduzida utilizando DNA total de *C. arabica*, os produtos amplificados foram eluídos do gel de agarose e clonados no vetor pCR[®] 2.1-TOPO utilizando o Kit de clonagem TOPO TA Cloning[®] (Invitrogen). Clones contendo um fragmento de 600pb foram selecionados para o seqüenciamento. As seqüências foram analisadas utilizando o programa BLASTN, apresentando homologia com as seqüências de poligalacturonase de *Lycopersicon esculentum*, *Cucumis melo* e *Nicotiana tabacum*. Alguns clones também apresentaram alta homologia a ESTs do banco de dados do Projeto Genoma Café (<http://arara.lbi.ic.unicamp/caf/>). Atualmente, estão sendo realizadas análises de Southern blot para verificar o número de cópias nas principais espécies de *Coffea* e análise de Northern blot para verificar a expressão da poligalacturonase em diferentes tecidos e estádios de maturação de frutos.

Palavras-chave: poligalacturonase, café, maturação, identificação de genes