

AVALIAÇÃO DE PLANTAS TRANSGÊNICAS DE BATATA (*SOLANUM TUBEROSUM* L. CV. ACHAT) PARA RESISTÊNCIA AO VÍRUS DO MOSAICO (PVY)

Adriana T. Ferreira; Mônica K. Cattony; Thyerre Barros; César C. Cruz; Antonio C. Ávila & Antonio C. Torres*
(CNPq/EMBRAPA, Brasília, DF, e-mail: adriana@cnpq.embrapa.br)

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é uma cultura de importância relevante na alimentação humana e é cultivada mundialmente. Sua produtividade é severamente afetada por viroses e por ser uma cultura de propagação vegetativa exige caros programas de certificação de tubérculos para plantio. Para contornar esse problema, foi conduzido um trabalho de pesquisa que teve como objetivo transformar plantas de batata da cultivar Achat, introduzindo o gene da capa protéica do próprio vírus (PVY). As plantas foram transformadas via *Agrobacterium tumefaciens* (LBA 4404), contendo também o gene para resistência a canamicina. Foram obtidas 49 plantas selecionadas em canamicina e, destas, duas plantas portadoras do gene (Southern blot) mostraram, em casa de vegetação, resistência a inoculação mecânica utilizando-se extrato de planta infectada com o vírus causador do mosaico (estirpes O e N) em tampão de inoculação. Essas plantas não desenvolveram sintomas e não foi detectado a presença do vírus via ELISA utilizando-se anticorpos específicos para o PVY da batata. Em todos os testes as plantas mostraram-se resistentes. Foram realizados também testes de inoculação com afídeos, porém os isolados não eram transmissíveis. Experimentos estão sendo conduzidos para verificar a resistência em condições de campo. Esta cultivar não floresce e, não existem, na região para a qual a liberação do experimento de campo foi autorizada, parentes silvestres que sejam sexualmente compatíveis. Quanto a estabilidade da expressão do transgene em plantas, estão sendo feitos testes de translocação do vírus na planta e testes de progênie. (EMBRAPA, CNPq, FAP-DF, CABBIO)

DINÂMICA DE CRESCIMENTO E ASPECTOS CITOQUÍMICOS DE LINHAGENS CELULARES EMBRIOGÊNICAS DE FEJOA SELLOWIANA BERG.

Suzana Stefanello*¹, Ana Carla Oltramari¹, Jean-Pierre Ducroquet², Miguel Pedro Guerra¹ (¹Depto de Fitotecnia, CCA, UFSC, Florianópolis, SC. ²EPAGRI - SC - Estação Experimental de Videira. e-mail: mpgaerra@cca.ufsc.br)

A goiabeira serrana (*Feijoa sellowiana* Berg) é uma Mirtaceae nativa do planalto meridional brasileiro. Seu fruto apresenta sabor doce-acidulado e excelente aromaticidade. Métodos convencionais de propagação clonal são de baixa eficiência nesta espécie. Desta maneira, técnicas de micropropagação são ferramentas para o melhoramento e a propagação clonal massal de genótipos selecionados. O objetivo deste trabalho foi

estabelecer, manter e estimular a maturação de linhagens celulares embriogênicas, bem como estabelecer um sistema-referência para a embriogênese somática em espécies arbóreas. Empregou-se embriões zigóticos excisados de sementes maduras e imaturas do acesso 101, que foram inoculados no meio LP (von Arnold & Eriksson, 1981) suplementado com 3% de sacarose, 2,4-D (0, 10 e 20 μ M) e glutamina (0, 4, 8, 12 e 16 μ M). As culturas foram repetitivamente embriogênicas e proliferaram mesmo em meio de cultura isento de reguladores. Linhagens celulares mantidas em ciclos repetitivos de divisão celular foram transferidas do sistema de plaqueamento para o meio líquido formando suspensões celulares. Estudou-se então a dinâmica de crescimento utilizando a técnica de sedimentação do volume celular e peso fresco. As suspensões celulares revelaram um incremento de 13 vezes o volume inicial e de uma grama de inóculo inicial foram obtidas 15.65g após 52 dias em meio de cultura isento de reguladores. Linhagens celulares foram submetidas à diferentes tratamentos: ABA (5 e 10 μ M), 2-iP (5 μ M), PEG (5 μ M) e meio LPM isento de reguladores, em sistema de plaqueamento para determinação da capacidade de formação e maturação de embriões somáticos. Análises citoquímicas indicaram que o maior acúmulo de grãos de amido ocorreu com a utilização de 5 μ M de ABA, com uma média de 29,16 grãos de amido por célula após 30 dias (CAPES, CNPq).

EFEITO DA SACAROSE E VERMICULITA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MOGNO (*SWIETENIA MACROPHYLLA* KING)¹

Sebastião da Cunha Lopes* (UFPEL, Pelotas, RS), Osmar Alves Lameira (EMBRAPA/CPATU, Belém, PA), Gerson Renan de Lucas ForteS (EMBRAPA/CPACT, Pelotas, RS), Ilmarina Campos de Menezes (EMBRAPA/CPATU, Belém, PA) & José Eduardo Brasil Pinto (Depto. Agricultura, UFLA, Lavras, MG)

O mogno, dentre as madeiras de lei, é uma das mais valiosas no mercado internacional; pertence à família Meliaceae e ocorre naturalmente entre os paralelos de 18° Sul e 20° Norte de latitude. Atualmente, tem sofrido grande pressão de exploração, devido à ocupação antrópica na região Amazônica e o elevado valor no mercado internacional, que tem levado seu desaparecimento nas áreas de ocorrência naturais. Com o objetivo de melhorar a germinação e a formação de plântulas, que serão utilizadas como fonte de explantes assépticos, para estudos de propagação *in vitro*, foram testados como substrato o meio MS e diferentes concentrações de sacarose, bem como a vermiculita com ou sem os sais básicos de MS. As sementes foram inicialmente desinfestadas com álcool 70% por 2 minutos, seguido da imersão em hipoclorito de sódio 2% (NaClO) por 15 minutos, após inoculadas em seis tratamentos que constaram de: T1- meio MS + sacarose 2%; T2-meio MS; T3-meio MS + sacarose 1%; T4-sais básicos de MS +

vermiculita; T5-água e água; T6-vermiculita. Para verificar o percentual de germinação, sementes de mesma procedência foram semeadas em areia + vermiculita (1:1), previamente autoclavadas. Foi verificado que o percentual de emergência de plântulas foi de 66,7%. O melhor resultado para os tratamentos testados foi T4 e T6 com 90 e 70% de plântulas emergidas, respectivamente, enquanto que o menos eficiente, T3, apresentou apenas 7,14%. A vermiculita com ou sem MS revelou ser um excelente substrato para a emergência de plântulas *in vitro* de mogno. (EMBRAPA/CAPES)

MICROPROPAGAÇÃO DO CURAUÁ (*ANANAS ERECTIFOLIUS*): RESPOSTAS PRELIMINARES

Ilmarina Campos de Menezes (Embrapa Amazônia Oriental, Lab. de Biotecnologia, Belém, PA), Oriel Figueira de Lemos (Embrapa Amazônia Oriental, Lab. de Biotecnologia, Belém, PA), Marco Antonio Menezes (Depto de Botânica, UFPA), Osmar Alves Lameira (Embrapa Amazônia Oriental, Lab. de Biotecnologia, PA) & Sebastião da Cunha Lopes* (UFPEL)

O curauá (*Ananas erectifolius*) é uma bromeliácea nativa da região de Lago Grande, município de Santarém, Pará. Estudos recentes tem demonstrado o grande potencial desta planta como produtora de fibra de excelente qualidade, podendo ser utilizada na atividade industrial automobilística em substituição à fibra de vidro. Devido a pressão para utilização de produtos naturais, o mercado Europeu tem mostrado interesse na fibra do Curauá. Apesar deste fato ainda não se dispõe de um sistema de cultivo para a espécie, havendo também dificuldades na propagação de mudas em larga escala. Este trabalho objetiva utilizar as técnicas de cultura de tecido para estabelecer as fases do processo de micropropagação de curauá tais como: assepsia de explantes; estabelecimento de cultura; proliferação, alongamento e enraizamento de brotos; aclimação e formação de mudas. Para tanto, plantas de campo foram coletadas e após retiradas as folhas, o caule foi lavado com água corrente e sabão neutro. As gemas axilares foram excisadas e imersas em álcool 70% por 30 segundos e após, transferidas para solução de hipoclorito de sódio 2% (NaClO) por 15 minutos e lavadas com água esterilizada por cinco vezes em câmara de fluxo laminar. Para estabelecimento da cultura, as gemas foram inoculadas em meio MS e BAP (Benzilaminopurina) a 1,0 mg/L durante 40 dias. Após este período, as gemas foram transferidas para o mesmo meio porém com 4,5 mg/L de BAP para proliferação de brotos onde permaneceram por 60 dias. Para o subcultivo, brotos menores que 5mm foram transferidos para meio MS com metade dos sais e os maiores para meio MS com 3 mg/L de BAP. Os resultados preliminares mostraram possível efeito tóxico pela concentração de BAP utilizada (3 mg/L), oxidando 100% dos explantes submetidos a este meio, em contrapartida a média de indução de brotos

no meio MS/2 foi de 4,3 brotos por explantes. (Embrapa Amazônia Oriental)

ESTRUTURA, ORGANIZAÇÃO E FUNÇÃO DO GENE BIP DA SOJA: IDENTIFICAÇÃO DE ELEMENTOS REGULATÓRIOS DO PROMOTOR

Buzeli, Reginaldo A.A. (DBB/BIAGRO/UFV); Almeida*, Raul S. (DBB/BIAGRO/UFV); Cascardo, Júlio C.M. (DBV/BIOAGRO/UFV) & Fontes, Elizabeth P.B. (DBB/BIAGRO/UFV, Viçosa, MG)

Os membros da família HSP70 são proteínas relacionadas com estresses. Como membro dessa família, a proteína BiP (Binding Protein), residente no retículo endoplasmático, tem sido descrita como um importante chaperone molecular, envolvida no processo de dobramento e montagem de proteínas secretórias. Em soja, BiP é codificado por uma família multigênica. A família dos genes BiP da soja exibe expressão e regulação diferencial em resposta a estresses fisiológicos. Com a finalidade de caracterizar os elementos regulatórios que controlam a regulação e a expressão dos genes BiP sob diferentes estresses e em diferentes órgãos, procedeu-se ao screening de bibliotecas genômicas de soja, propagadas em λ ZAPII e em λ gt11, usando o cDNA de BiP como sonda. Pelo menos dois clones positivos foram isolados, cujas identidades foram confirmadas por Southern blot e sequenciamento. O clone genômico gsBiP6 contém um inserto de 15 kpb em λ gt11 e possui toda a região codificadora de BiP, além de sequências do promotor. Uma vez que o clone gsBiP9 foi isolado de uma biblioteca selecionada por tamanho, como estratégia para isolar um gene contendo a região promotora, foi também utilizado como sonda um fragmento de cDNA correspondente à região amino terminal da proteína. O clone isolado gsBiP9 contém um inserto de 5,4 kpb em λ ZAPII, possui a região promotora, mas está incompleto uma vez que não possui a região que codifica o carboxi terminal de BiP. A região codificadora incompleta do clone GSBiP9 está organizada em sete introns e oito exons. A proteína traduzida a partir do clone GSBiP9 possui 98% de homologia com soyBiPD. A região promotora estende até 2,2 kpb e apresenta tanto "motifs" gerais característicos de promotores de genes de plantas, como: CAP e TATAbox, quanto motifs específicos de genes hsp70 (HSF box). A análise funcional dos promotores estão sendo conduzidas por meio de ensaios de expressão de genes repórteres em plantas de fumo. (PADCT/CNPq, FAPEMIG, FINEP e CNPq)

REGENERAÇÃO DE PLANTAS DE CACAU (*THEOBROMA CACAO* L.) VIA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA

Phellippe Arthur Santos Marbach* & João Batista Teixeira (Embrapa-Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília – DF, batista@cenargen.embrapa.br)