



Transformação genética e regeneração de plantas transgênicas de *Eucalyptus* usando *Agrobacterium tumefaciens*.

Kleitton Lima de Godoy Machado¹, Eliane Romanato Santarém¹(orientador)

¹ *Laboratório de Biotecnologia Vegetal; Faculdade de Biociências, PUCRS.*

Resumo

Plantas de *Eucalyptus* são amplamente utilizadas como matéria prima para produção de papel e madeira. A partir da década de 1960 o cultivo de *Eucalyptus* tornou-se extensivo, sendo a árvore mais cultivada no Brasil. Entretanto, as espécies de eucalipto são suscetíveis a diversos fatores bióticos e abióticos, levando a perdas na produtividade. Desta forma, inúmeras tentativas de melhoramento genético, envolvendo protocolos de transformação, vêm sendo feitas melhorando a propagação e custeio desta monocultura. Este trabalho teve como objetivo estabelecer protocolo de organogênese *in vitro* e transformação das espécies *Eucalyptus globulus* e *E. saligna*, utilizando *Agrobacterium tumefaciens* como vetor de transformação genética. Sementes de eucalipto foram semeadas em substrato preparado com terra e areia (70:30 v/v) e mantidas em casa de vegetação. Para indução de calos foram utilizados como explantes hipocótilos, cotilédones, segmentos foliares e nodais. Os explantes foram inoculados em meio MS com metade da concentração de sais e vitaminas e PVP (1 g/L), suplementados com ANA (1 e 3 mg/L) e BAP (1 e 3 mg/L), em ausência de luz. Os calos obtidos foram transferidos para meio MS, suplementado com ANA (0,1 e 0,5 mg/L) e BAP (1 e 2 mg/L) para indução de brotos adventícios. Em *E. globulus*, calos foram obtidos em todos os tipos de explantes e combinações de reguladores de crescimento. Os cotilédones apresentaram 70% de calogênese, calos compactos e pouco oxidados. Pulverulência e aspecto friável foram características observadas nos calos cultivados em presença de maiores concentrações de ANA. Organogênese foi obtida somente em segmentos nodais de *E. globulus*. Em *E. saligna*, os calos formados não apresentaram diferença em intensidade e seu aspecto foi similar aos obtidos em *E. globulus*. Brotos adventícios não foram obtidos nos

explantes testados nesta espécie. Segmentos nodais foram utilizados para transformação por *A. tumefaciens*, LBA4404, D.O_{600nm} = 0,2 e 0,4, contendo GFP e resistência a canamicina. Explantes inoculados foram cultivados em meio de indução de calos, com adição de acetoseringona. Resultados desta fase ainda estão sendo obtidos.