

Transformação genética de *Eucalyptus* por bombardeamento de partículas

Luísa M. Ramos¹, Eliane R. Santarém¹ (orientador)

¹*Escola de Ciências, PUCRS, Laboratório de Biotecnologia Vegetal*

Resumo

A aceleração de partículas é um dos métodos mais eficientes para transferência direta de novos genes para melhoramento genético em plantas, pois não depende da relação patógeno-hospedeiro, da espécie e do genótipo. A técnica de bombardeamento de partículas, ou biobalística, a partir do “Particle Inflow Gun”, consiste na aceleração de micropartículas de ouro ou tungstênio adsorvidas com DNA plasmidial a partir de uma descarga de alta pressão de gás hélio em direção a células vegetais. As partículas atravessam a parede celular, inserindo o DNA exógeno de interesse na célula-alvo. O eucalipto é uma espécie de grande interesse comercial e não há relatos de transformação genética por biobalística. O objetivo do trabalho é o estabelecimento de um protocolo eficiente de transformação genética de eucalipto através do método de bombardeamento. Segmentos nodais de eucalipto cultivados *in vitro* foram utilizados como tecido-alvo para a transformação e submetidos aos seguintes testes: duas distâncias de percurso de microprojéteis em relação aos segmentos nodais (D1=12cm; D2=10cm) e número de disparos de DNA plasmidial (T1:um disparo; T2: dois disparos). O gene *GUS* que codifica a enzima β -glucoronidase foi utilizado como marcador repórter. A avaliação da expressão transiente do gene repórter foi realizada pelo ensaio histoquímico 24h após a introdução do DNA nos tecidos. A penetração das partículas também foi avaliada por análise histológica. A penetração de partículas apresentou baixa frequência nos tecidos-alvos, sendo apenas observada nas camadas celulares mais superficiais do explante. Da mesma forma, não foi observada a expressão do gene *GUS* nos tecidos bombardeados, o que levou à modificações na metodologia já estabelecida. Alterações na metodologia de preparação das micropartículas, no número de disparos aplicados, no uso de anteparo para maior dispersão das partículas, na distância percorrida pelos microprojéteis, na pressão de gás hélio e no tipo

de tecido-alvo são condições que estão sendo avaliadas para otimizar o processo de transformação.

Palavras-chave: “expressão transiente”; ”transgenia”; “eucalipto”