

Transformação genética de citros visando a super expressão e silenciamento do gene *lcy-b2a*

Nadai, F.B.¹; Pinheiro, T.T.²; Figueira, A.²; Latado, R.R.¹

¹Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Centro APTA Citrus “Sylvio Moreira” (CCSM), Rodovia Anhaguera, km 158 – Caixa Postal 04, 13490-970, Cordeirópolis, Brasil. ² Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), Av. Centenário, 303, Caixa Postal 96, 13400-970, Piracicaba, Brasil. fabiodenadai@hotmail.com

Existem muitos trabalhos envolvendo transformação genética de *Citrus*, porém poucos são associados a características de coloração da polpa do fruto. Uma das principais razões para isso é o extenso período de juvenilidade, as quais se forem regeneradas de tecidos juvenis, leva-se muito tempo para análise do fenótipo resultante. Este projeto envolve o uso do o mutante espontâneo de laranjeira doce chamado ‘X11’, que possui plantas com florescimento precoce quando obtidas a partir de sementes, e uma variedade de laranjeira chamada de Sanguínea de Mombuca, possivelmente um mutante natural que produz frutos com polpa com coloração avermelhada, devido ao acúmulo de licopeno. Na via metabólica dos carotenoides em plantas, o gene Licopeno β -ciclase 2 (*LCY-b2* alelo a) já foi descrito como sendo os responsável pela conversão do trans-licopeno em β -caroteno, na polpa dos frutos. No entanto, alguns aspectos da regulação da sua expressão ainda permanecem obscuros, principalmente nas laranjas de polpa vermelha. O objetivo deste estudo é a transformação genética visando a super expressão ou o silenciamento do gene, em variedades de frutos de polpa amarela e variedades de frutos de polpa vermelha, seguido da avaliação da expressão dos genes. A metodologia utilizada para a transformação das laranjeiras ‘X11’ (polpa amarela) e ‘Sanguínea de mombuca’-SM (polpa vermelha) foi o co-cultivo *in vitro* de segmentos de epicótilo em solução de *A. tumefaciens* contendo diferentes plasmídeos, com o gene *LCY-b2a* (superexpressão ou silenciamento). Após a regeneração das brotações, a identificação das plantas transformadas foi realizada pela técnica de PCR qualitativo, utilizando-se o primer para o gene marcador *nptII*. As eficiências de transformação variaram entre 41,9% e 22%, para a construção *LCY-b2a*/super expressão nas variedades ‘X11’ e SM, respectivamente. Já a construção *LCY-b2a*/silenciamento, resultou em aproximadamente 16,47% e 18,75% de brotações transformadas das laranjeiras ‘X11’ e SM, respectivamente.

Palavras-chave: biotecnologia, melhoramento, transformação genética, carotenoides, laranja.

Agradecimento: CAPES.