



# 0109 – RUBY COMO GENES REPÓRTERES NO PROCESSO DE TRANSFORMAÇÃO DE CALOS DA ESPÉCIE *Coffea canephora*

López Peña, Samanda; De Oliveira Timoteo, Caroline; Carmelina Da Silva, Paloma; Montañó Rodríguez, Cindy Marcela; Terassi Pinto, Renan; Vilela Paiva, Luciano

Universidade Federal de Lavras

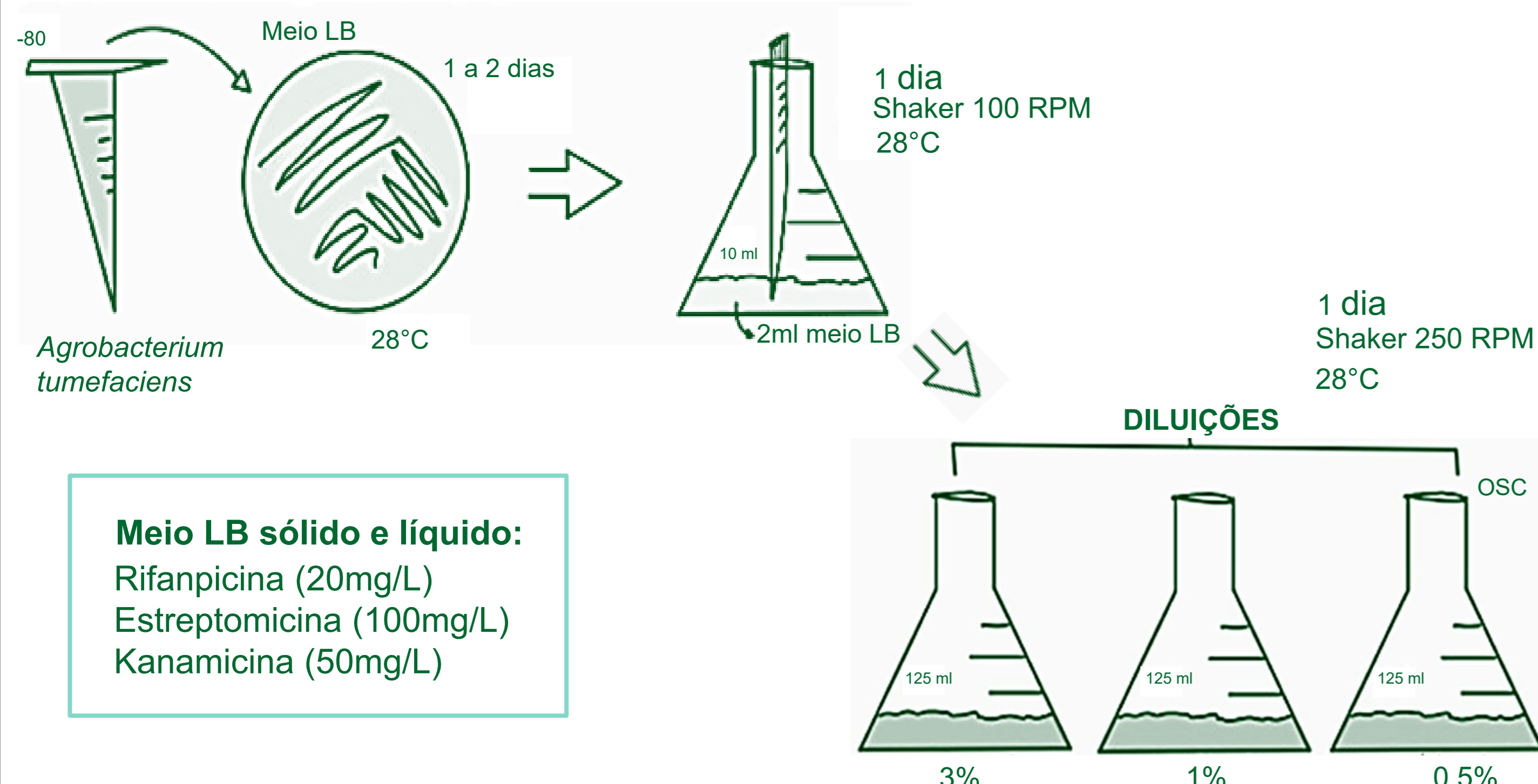
## INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a transgênese e a edição genômica têm desempenhado papéis relevantes no melhoramento de diversas espécies. No entanto, para atender as demandas crescentes, estas estratégias de melhoramento devem ser aprimoradas. No caso do cafeeiro, uma das etapas decisivas na obtenção de organismos transformados é a seleção de células efetivamente modificadas. Nesse quesito o sistema RUBY se destaca por sua praticidade como marcador de seleção, quando este é ativado leva à produção de betalaína que conseqüentemente promove a coloração avermelhada nas células transformadas. Portanto, o conjunto de genes pertencentes ao sistema RUBY têm o potencial de serem repórteres de triagem visual a olho nu durante o processo de transformação de plantas. Aqui, relatamos a resposta do sistema RUBY como método de detecção visual de células transformadas via *Agrobacterium* em calos recuperados de suspensão celular da espécie *Coffea canephora*.

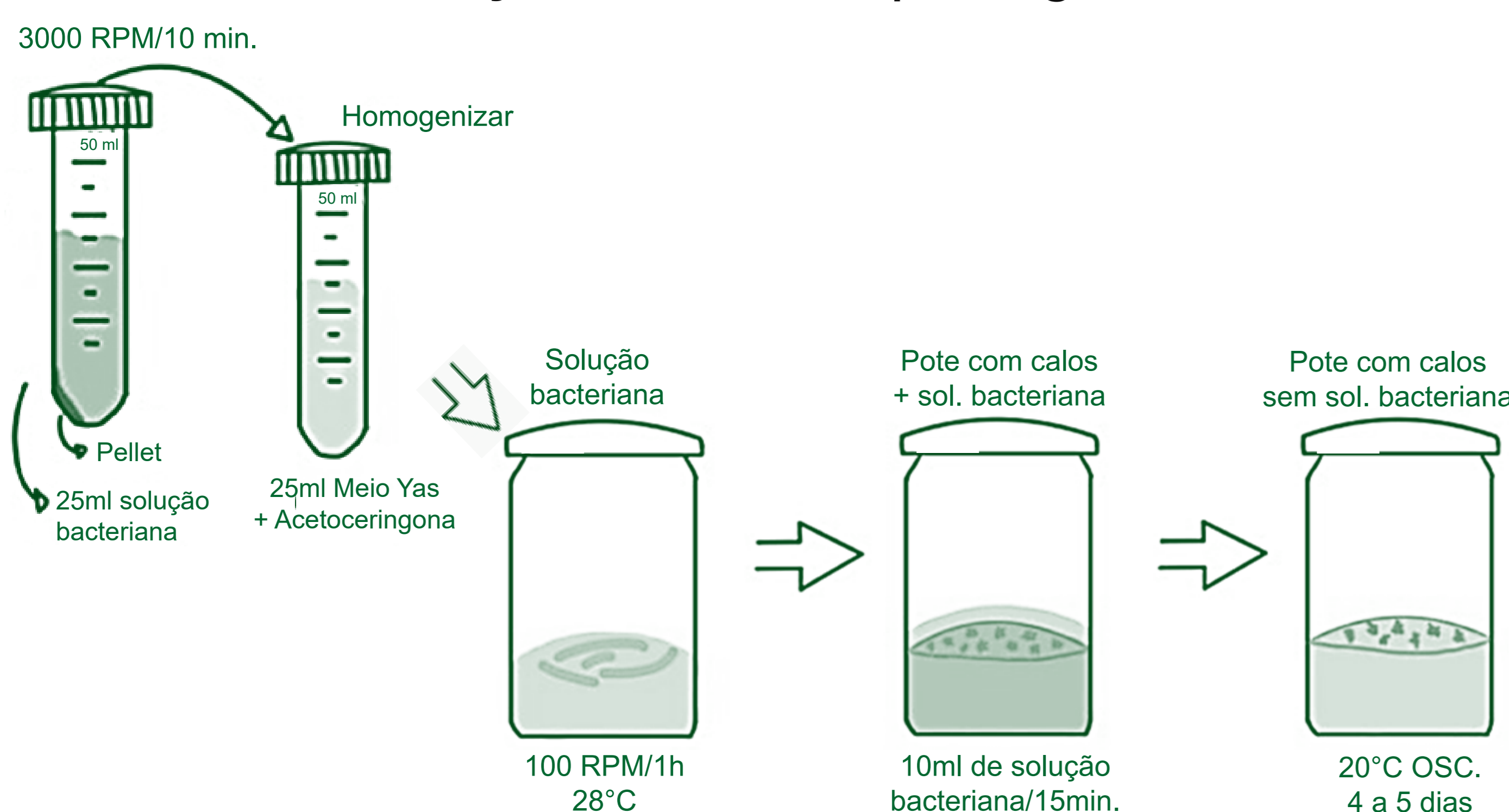
## METODOLOGIA

Etapas de transformação genética via *Agrobacterium tumefaciens*:

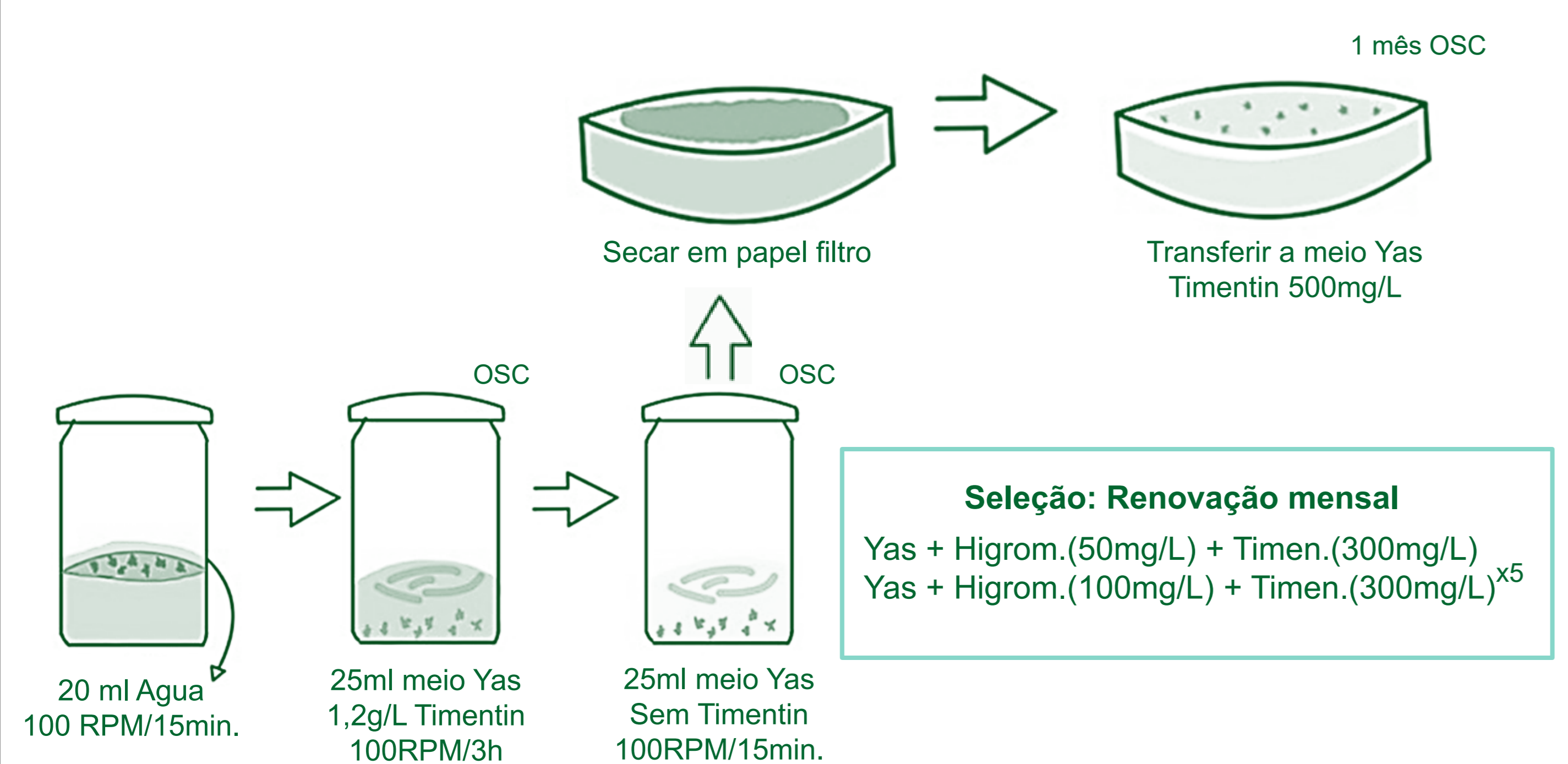
**Pré-inoculo:** Crescimento bacteriano (OD= 0,6).



**Cocultivo:** Infecção dos calos por *Agrobacterium*.

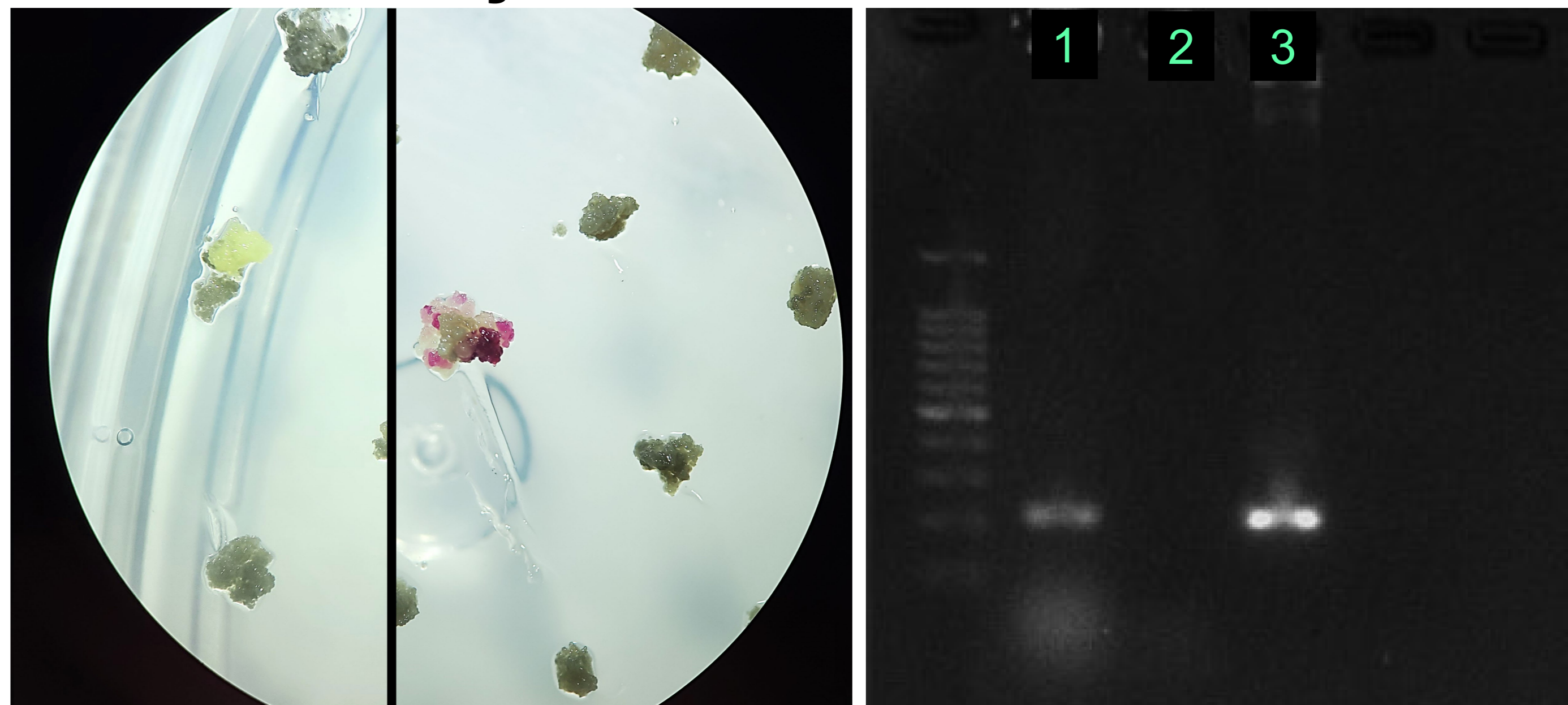


**Pós-cocultivo:** Lavado e multiplicação do explante



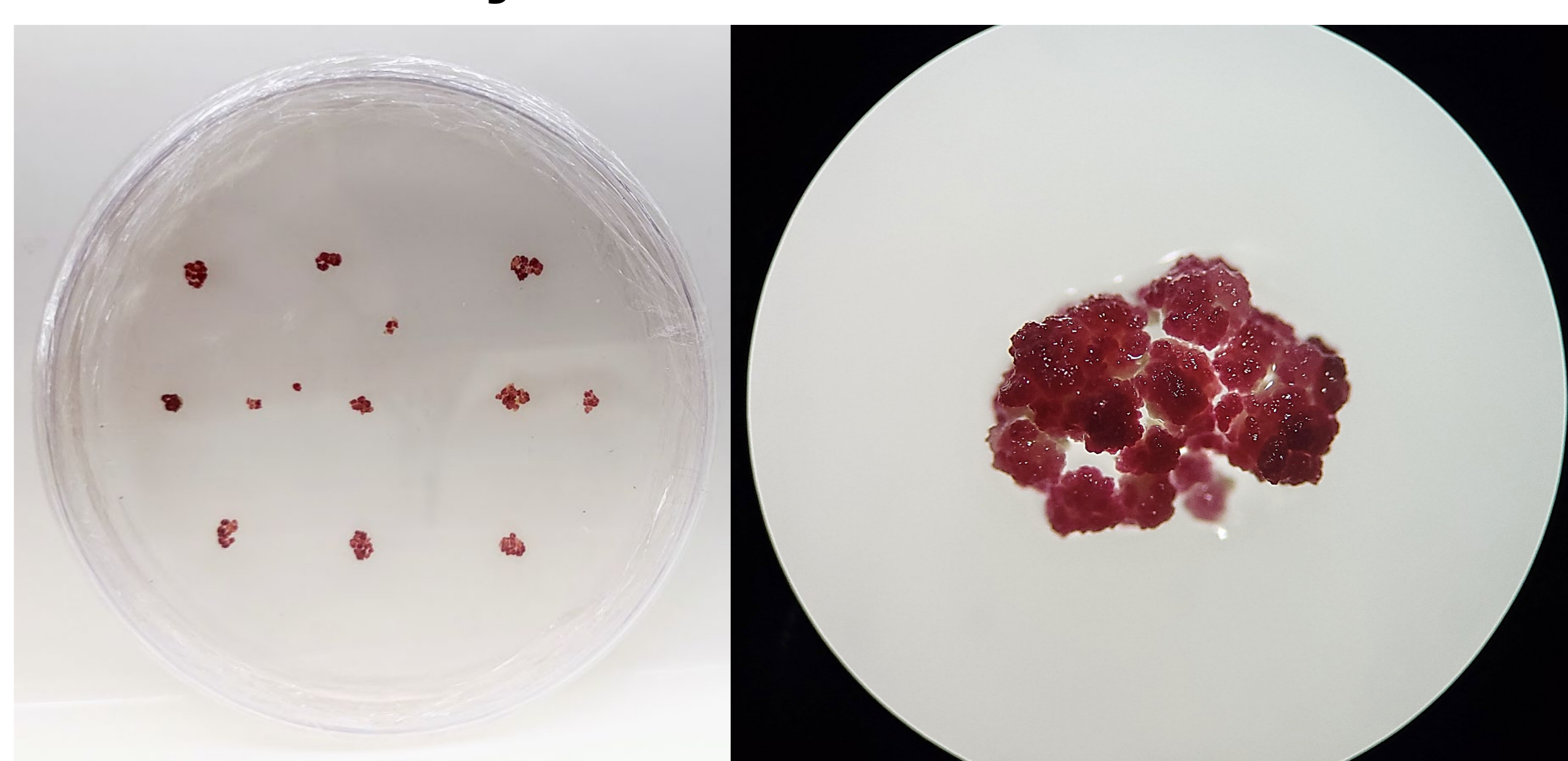
## RESULTADOS E CONCLUSÕES

**2º mês de seleção**



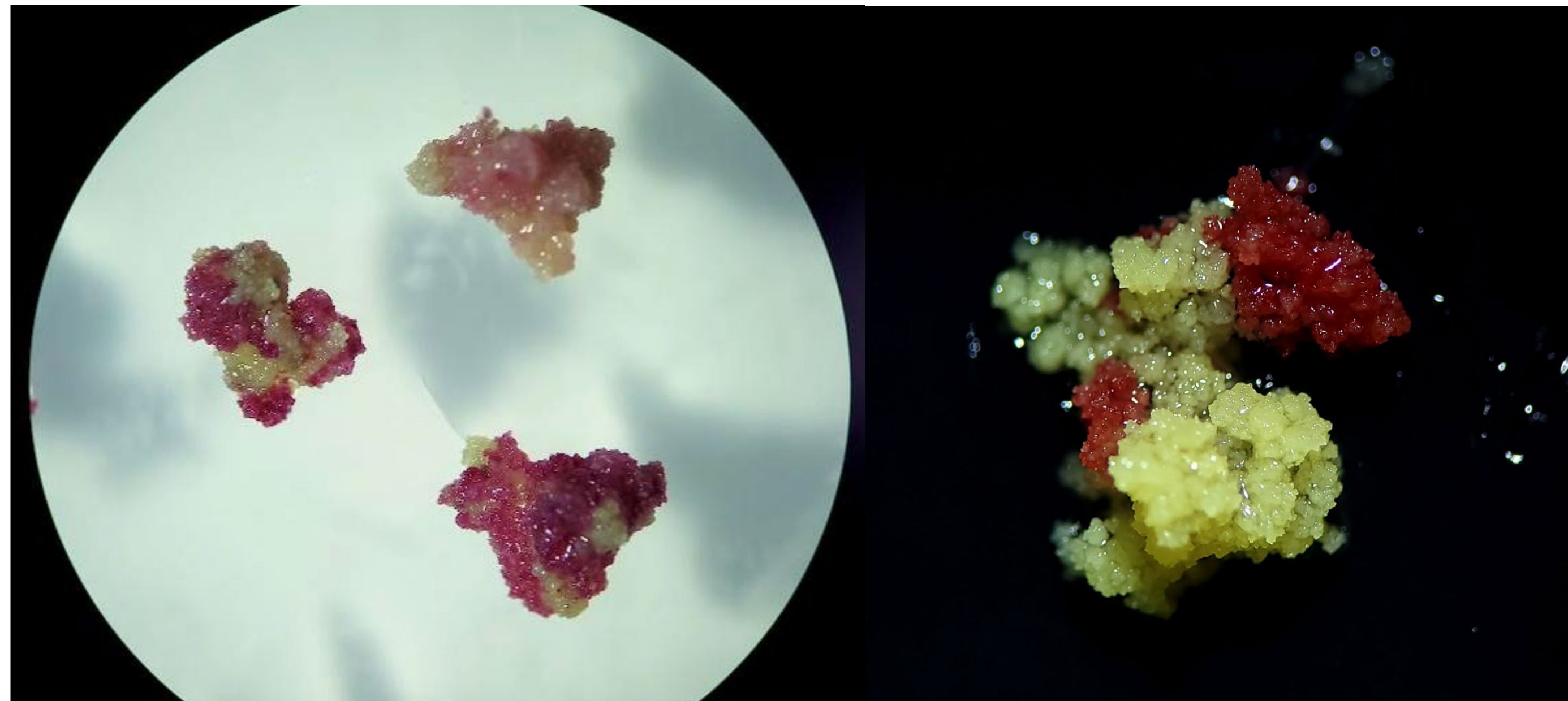
Multiplicação de calos avermelhados e incolores. PCR corrobora a presença do sistema RUBY em calos avermelhados e ausência em calos incolores (1. Plasmideo; 2. Calos incolores; 3. Calos avermelhadas)

**4º mês de seleção**



O sistema de detecção se mostrou eficiente no momento de diferenciar a olho nu as células transformadas.

**10º mês de multiplicação**



O material se mostrou instável ao decorrer das multiplicações.

A medida que ocorreram as fases de seleção e multiplicação dos calos, observou-se que o material se mostrou propenso à formação de quimeras, não apresentando estabilidade de expressão do sistema RUBY como agente de seleção em experimentos de transformação da espécie *Coffea canephora*.

## AGRADECIMENTOS

