

192 – PAPEL DO METILOMA GLOBAL DURANTE A DESDIFERENCIAÇÃO E COMPETÊNCIA CELULAR EM LINHAGENS DE *Coffea arabica*

JOÃO PAULO DE MORAIS OLIVEIRA¹; NATALIA ARRUDA SANGLARD²; ADÉSIO FERREIRA³; WELLINGTON RONILDO CLARINDO⁴.

¹ Pesquisador, Pós doutorando – Universidade Federal do Espírito Santo, joapaulo.ueg@gmail.com; ² Pesquisadora, Doutora – Universidade Federal do Espírito Santo, nataliasanglard@gmail.com; ³ Professor, Doutor – Universidade Federal do Espírito Santo, adesioferreira@gmail.com; ⁴ Professor, Doutor – Universidade Federal de Viçosa, well.clarindo@ufv.br

INTRODUÇÃO

A cultura de tecidos vegetais é uma ferramenta biotecnológica para propagação e geração de novos germoplasmas em *Coffea*. Contudo, dados gerados a partir de diversos genótipos de uma mesma espécie do gênero *Coffea*, evidenciaram distintas respostas in vitro. A epigenética tem sido apontada como uma das principais causas das divergentes respostas in vitro. Assim, buscamos avaliar e comparar os níveis globais de metilação da citosina em três linhagens de *C. arabica* (Catuaí Vermelho, Caturra e Oeiras) durante a embriogênese somática indireta. Nós também investigamos os valores médios de DNA 2C nuclear e o nível de ploidia das plântulas regeneradas in vitro.

METODOLOGIA

Folhas de 'Caturra', 'Oeiras' e 'Catuaí Vermelho' foram coletadas e desinfetadas por imersão em etanol 70% por 20 s e solução de hipoclorito de sódio 1,5% por 20 min. Explantes foliares foram inoculados em meio de indução de calos (M1), mantidos por 90 dias. Posteriormente, foram transferidos para meio de regeneração de embriões somáticos (M2), mantidas no escuro a 25°C por 180 dias. Os embriões somáticos foram cultivados em meio de recuperação de plântulas (M3), mantidas em sala de crescimento sob regime claro/escuro de 16/8 h a 25°C. Para quantificar o nível de 5-metilcitosina, amostras de calos friáveis de 'Catuaí Vermelho', 'Caturra' e 'Oeiras' foram coletadas após 60 e 90 dias em M1. Amostras de calos embriogênicos de 'Catuaí Vermelho' e 'Caturra' foram coletadas após formação de embriões somáticos em M2. O DNA genômico foi extraído. A 5-metilcitosina foi analisada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. O nível genômico de citosina metilada foi calculado: nível de 5-metilcitosina = [5-metilcitosina/(citosina + 5-metilcitosina)] × 10. A determinação da estabilidade do nível de ploidia, fragmentos foliares de plântulas regeneradas in vitro de 'Catuaí Vermelho' e 'Caturra' e do padrão interno *Solanum lycopersicum* (2C = 2,00 pg) foram co-picados em tampão de extração de núcleos. O valor 2C foi medido considerando o pico dos núcleos G₀/G₁ do 'Catuaí Vermelho' ou 'Caturra' e de *S. lycopersicum*. Os meristemas radiculares das plântulas regeneradas de 'Catuaí Vermelho' e 'Caturra' foram coletados, lavados, fixados e macerados enzimaticamente. O valor 2C e número cromossômico, confirmaram a ploidia.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

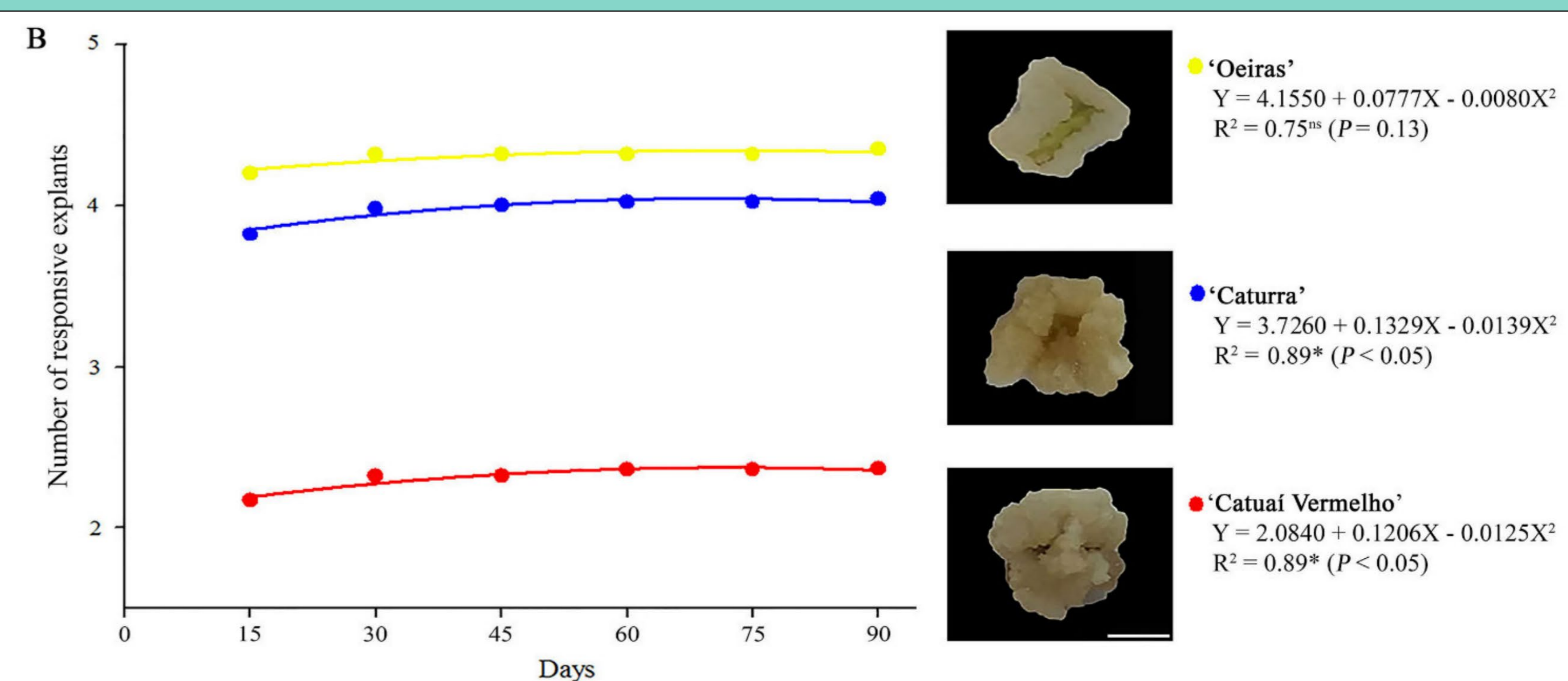
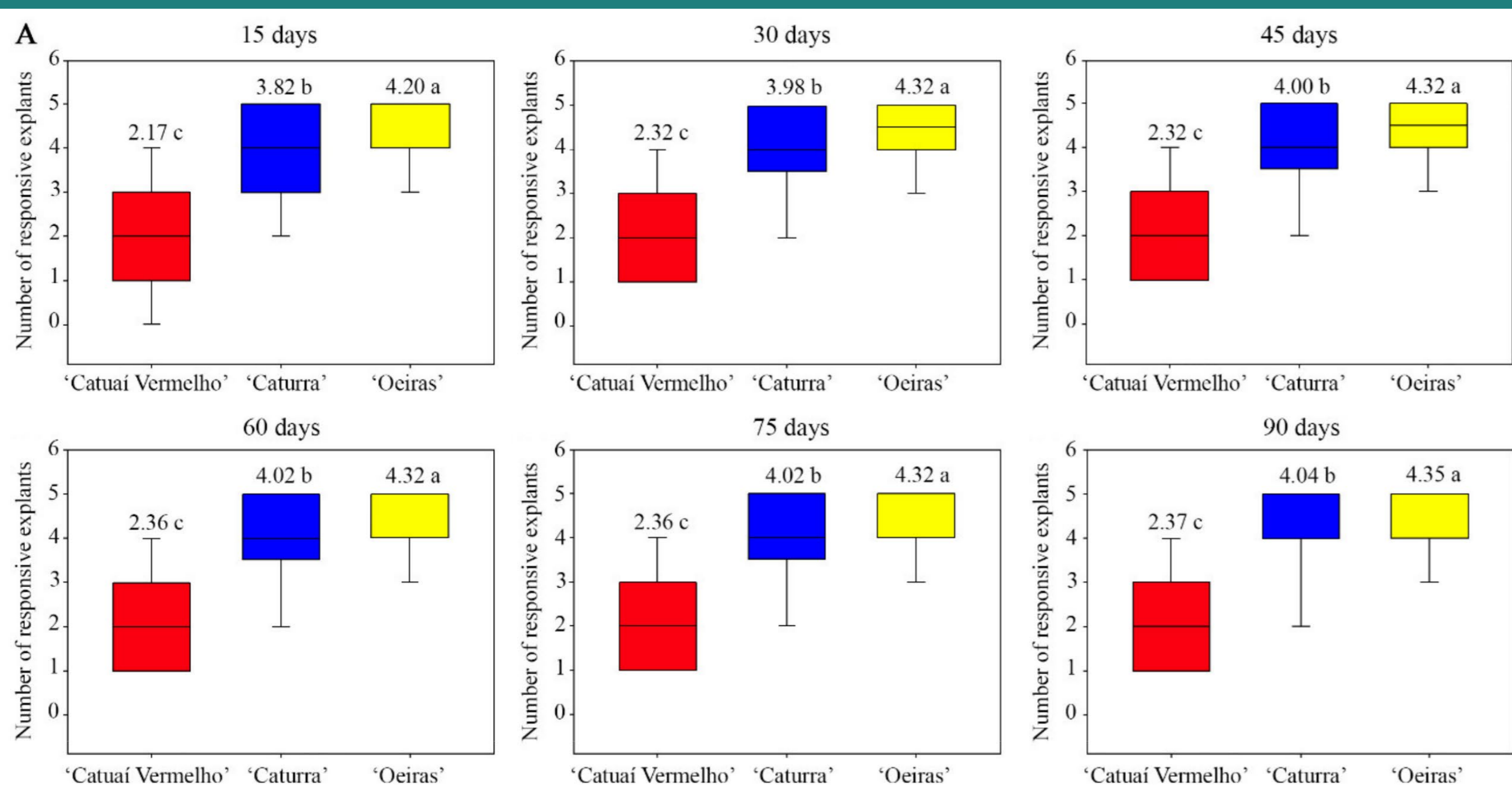


Fig 1. Média de explantes responsivos de 'Catuaí Vermelho', 'Caturra' e 'Oeiras'. (A) As linhagens de *C. arabica* exibem valores distintos. (B) A regressão foi significativa para 'Catuaí Vermelho'.

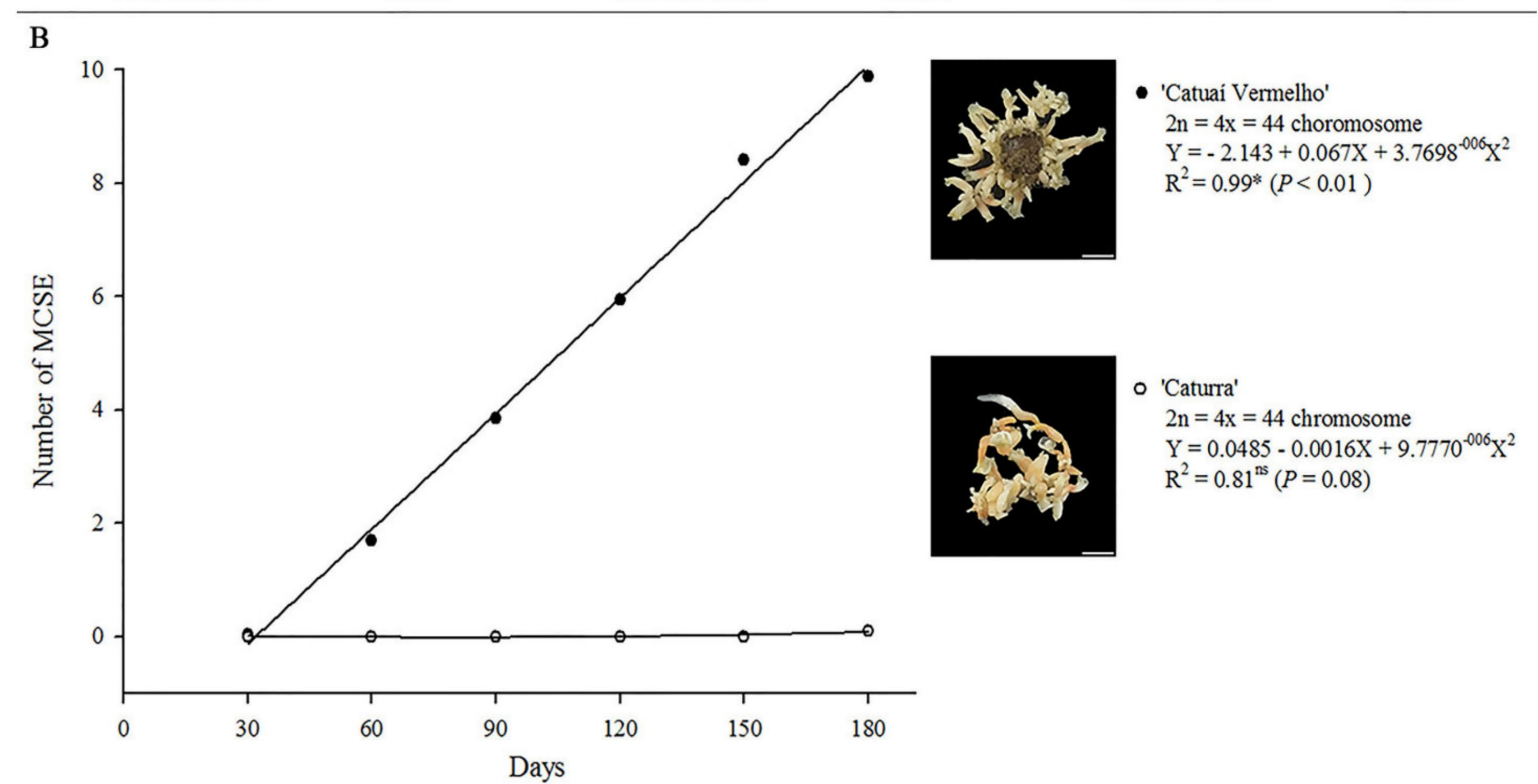
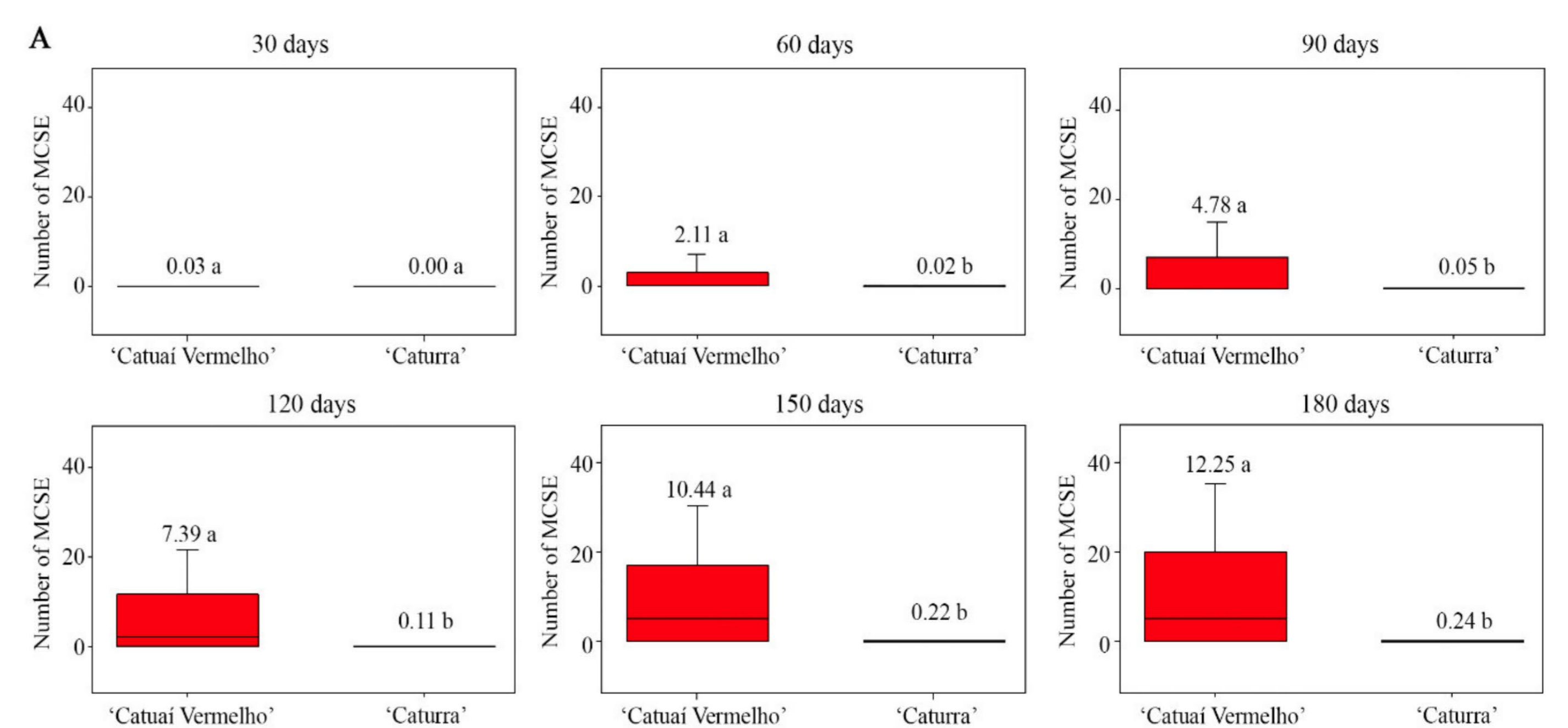


Fig 2. Média de embriões somáticos de 'Catuaí Vermelho' e 'Caturra'. (A) Box plots mostram que 'Catuaí Vermelho' e 'Caturra' exibem valores distintos. (B) A regressão foi significativa para 'Catuaí Vermelho'.

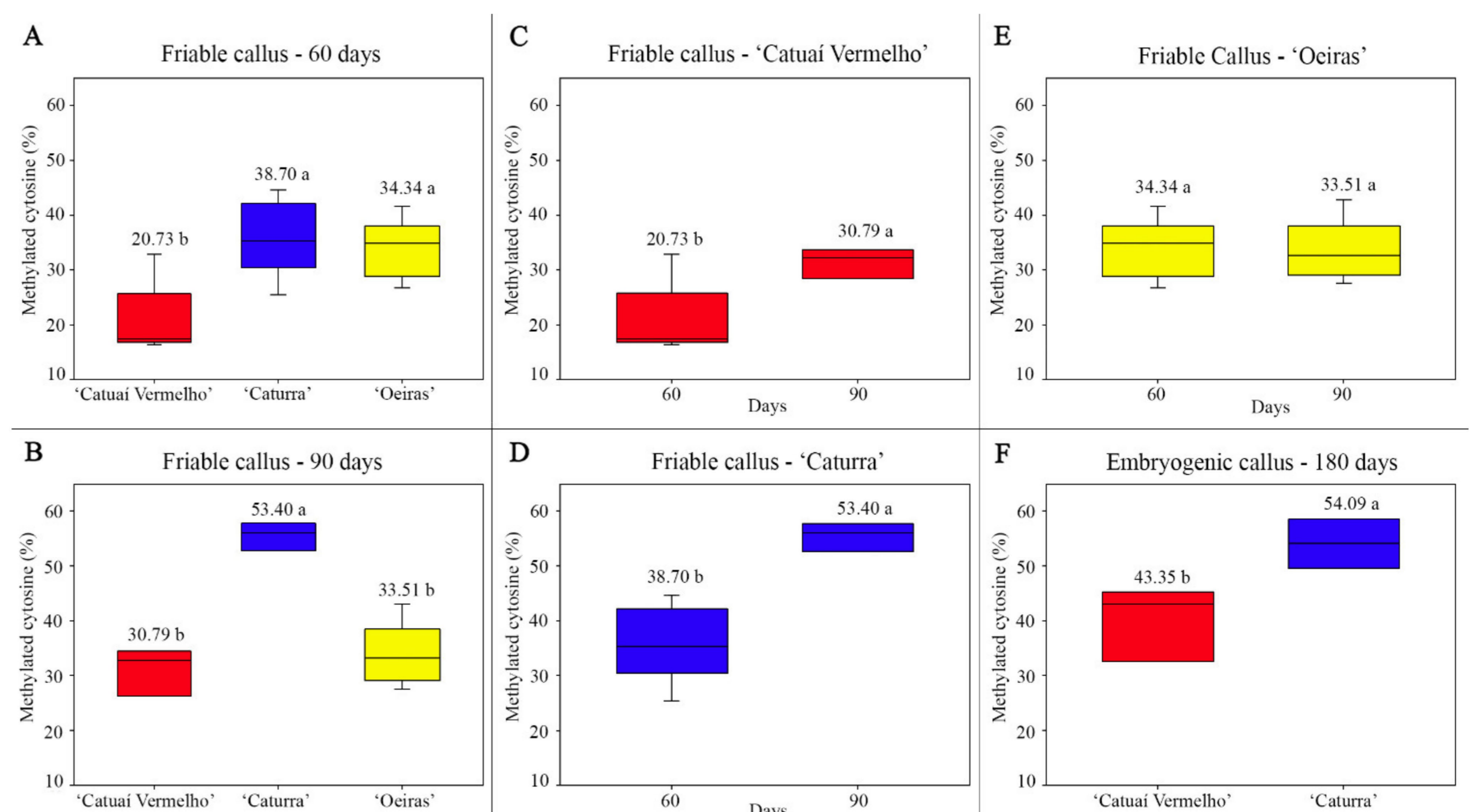


Fig 3. Metilação global do DNA genômico em linhagens de *C. arabica* durante embriogênese somática indireta.

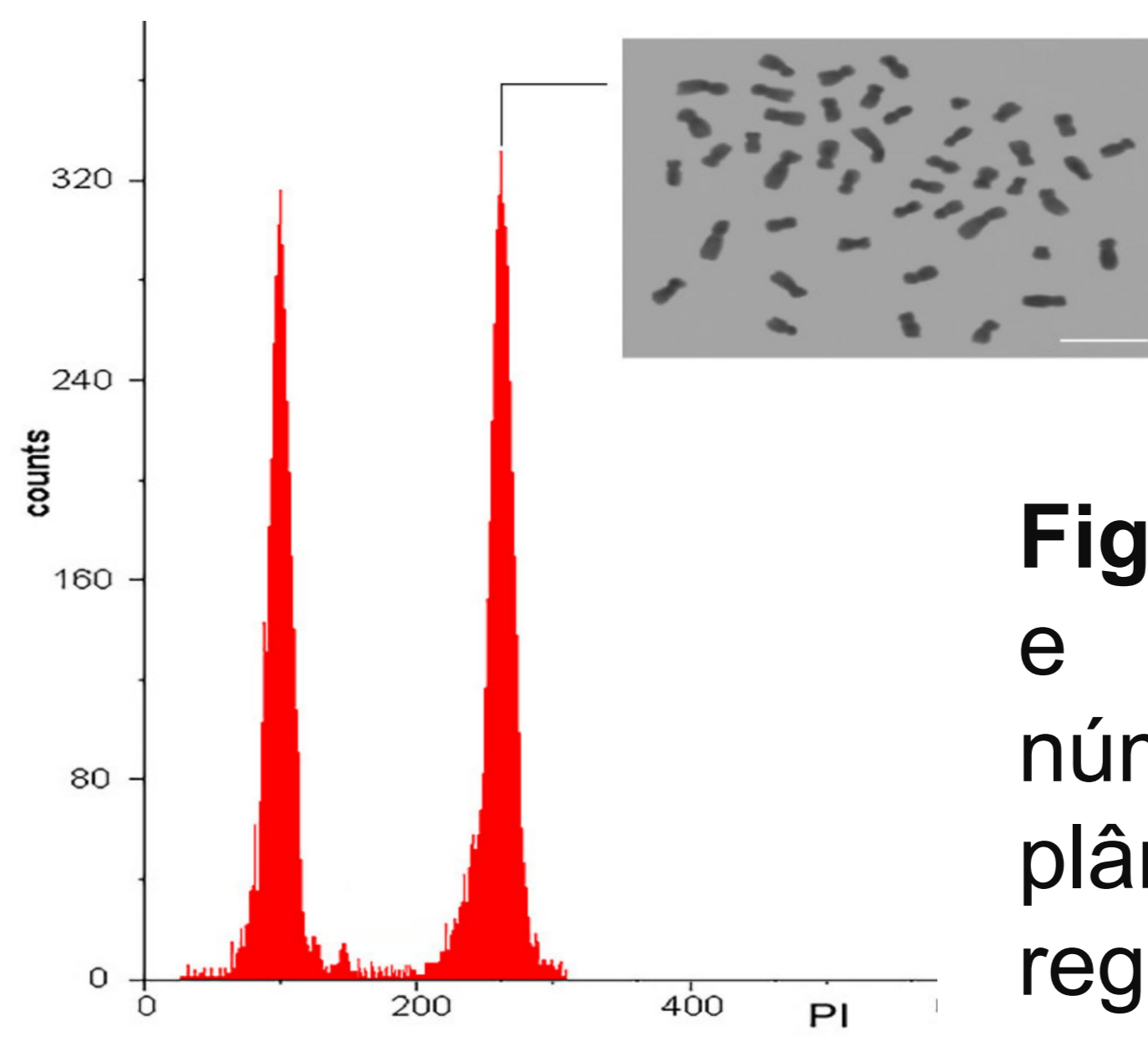


Fig 5. Conteúdo de DNA nuclear e confirmação de ploidia e número cromossômico de plântulas de *C. arabica* regeneradas in vitro.

AGRADECIMENTOS

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).