Introduction de Gènes d'Intérêt Agronomique dans l'Espèce *Coffea canephora* Pierre par Transformation avec *Agrobacterium* Sp.

T. LEROY[1], M. ROYER[1], M. PAILLARD[3], M. BERTHOULY[1], J. SPIRAL[3], S. TESSEREAU[3], T. LEGAVRE[2], I. ALTOSAAR[4]

[1]CIRAD-CP, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 01, France
[2]CIRAD/GERDAT, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 01, France
[3]Centre de Recherches Nestlé, 101, avenue Gustave Eiffel, Notre-Dame d'Oé, B.P. 9716, 37097 Tours Cedex 2,France
[4]University of Ottawa, 40 Marie Curie, Ottawa on K1N6N5, Canada

SUMMARY

Transgenic coffee plantlets were obtained after coculture with *Agrobacterium rhizogenes* strain A4 and disarmed *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404 strain. Somatic embryos of *C. canephora* Pierre were used as primary explants. The binary plasmid used is derived from pBIN19 vector. The T-DNA contains the reporter gene gum with intron PICKENS, a selective gene cantering resistance against an herbicide (chlorsulfuron), and a native or synthetic gene encoding for a *Bacillus thuringiensis* CryIA(c) endotoxin, active against the coffee leaf miner, *Perileucoptera coffeela* Guérin-Méneville.

Transgenic tissues were selected after coculture during 2 or 3 days, and a delay of 21 to 28 days before applying selective agent. Transgenic plantlets were regenerated through somatic embryogenesis. Stable integration of T-DNA into coffee genome was confirmed by PCR and Southern blotting. Resistance against leaf miner will be studied later, and transformation of *C. arabica* genotypes is on progress. Developed method could allow stable integration in coffee of other genes of agronomical or technological interest.

RÉSUMÉ

Des plantules de caféier transgéniques ont été obtenues via *Agrobacterium rhizogenes* et *Agrobacterium tumefaciens*. Pour cela, des embryons somatiques de *C. canephora* Pierre ont été utilisés comme explants primaires. Ils ont été infectés avec les souches *A. rhizogenes* A4 et *A. tumefaciens* LBA4404 désarmée. Le plasmide binaire utilisé dérive du vecteur pBIN19, l'ADN-T comprend le gène rapporteur gus-intron, un gène de sélection conférant la résistance à un herbicide (chlorsulfuron) et un gène, natif ou synthétique, codant pour l'endotoxine de *Bacillus thuringiensis* Cry1A(c) active contre la mineuse des feuilles du caféier, *Perileucoptera coffeela* Guérin-Méneville.

Une coculture de 2 ou 3 jours et une application différée de l'agent sélectif de 21 à 28 jours ont permis la sélection de tissus transgéniques puis la régénération de plantules. L'intégration de la construction a été vérifiée par PCR et hybridation moléculaire. La résistance à la mineuse des feuilles des plantes transformées va être testée, et les essais seront élargis à l'espèce *C. arabica*. De plus, la méthode de transformation ainsi développée pourrait être étendue à d'autres gènes d'intérêt.