

Criação de variedades de citros mediante o desenvolvimento de linhagens homozigotas a partir da obtenção de haploides

Manoela Guimarães Ferreira da Paz¹; Antônio da Silva Souza²; Karen Cristina Fialho dos Santos³; Walter dos Santos Soares Filho²

¹Estudante de Agronomia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ²Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura; ³Analista da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: manoelagfpaz@gmail.com, antonio.silva-souza@embrapa.br, karen.santos@embrapa.br, walter.soares@embrapa.br

Introdução – O melhoramento convencional em citros é tido como uma técnica lenta e cara, podendo levar de 25 a 30 anos para um lançamento de uma nova variedade. Visando agilizá-lo, existem diversas técnicas biotecnológicas, dentre elas a androgênese, que consiste na obtenção de haploides mediante a cultura in vitro de anteras. Como fatores relevantes para justificar a obtenção de haploides podem ser citados alguns como: economia no tempo, previsibilidade de cruzamentos de interesses, já que o mascaramento causado pela heterozigose será eliminado e aumento da eficiência na seleção.

Objetivo – Desenvolver uma metodologia para a geração de linhagens homozigotas a partir de plantas haploides, visando eliminar o efeito da heterozigosidade em cruzamentos convencionais.

Material e Métodos - Botões florais de diferentes tamanhos de seis genótipos de toranjeira [*Citrus maxima* (Burm.) Merr.], *C. webberi* wester, tangerineira ‘Sunki Comum’ [*C. Sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka], tangerineira ‘Cléopatra’ (*C. reshni* hort. ex Tanaka), tangerineira ‘Ponkan’ (*C. reticulata* Blanco) e cidreira (*C. medica* L.), foram coletados no campo. Cada genótipo foi avaliado em um experimento isolado, tendo em vista a diferença de tamanho dos botões florais e da quantidade de anteras em cada botão floral. Para cada experimento, os botões foram medidos em comprimento e diâmetro com o auxílio de um paquímetro digital e separados em grupos de acordo com os diferentes tamanhos. Após a etapa inicial, em câmara de fluxo laminar, todos os botões florais selecionados foram submetidos a um processo de desinfestação em álcool 70% por 3 minutos e em solução de hipoclorito de sódio a 0,5% com Tween 20[®] por 20 minutos, seguidos por três lavagens com água destilada autoclavada. A partir daí, uma antera de cada conjunto de botões (tratamento) foi coletada, colocada sobre uma lâmina de vidro, coradas com carmim acético 2%, maceradas, com o auxílio de seringas e levadas ao microscópio estereoscópio para uma pré-visualização. Na microscopia puderam ser identificados os tipos celulares existentes nos diferentes grupos, variando entre células iniciais de formação, tétrades, micrósporos e pólen. Após a identificação, as demais anteras foram retiradas dos botões florais e transferidas para placas de Petri 60 mm x 15 mm, contendo o meio de cultura N6. Em cada placa foram distribuídas 13 anteras, e para cada tratamento (diferentes estádios dos botões florais, de acordo com o genótipo) cinco repetições (placas de Petri) foram utilizadas, resultando em um total de 65 anteras por tratamento. Logo após, estas foram incubadas em sala de crescimento na total ausência de luz, em uma temperatura 27° ± 1 °C por 15 dias. Após esse período, as placas foram transferidas para uma sala de crescimento com a mesma temperatura, densidade de fluxo de fótons de 30 μmol.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas. O delineamento experimental empregado em cada experimento foi inteiramente casualizado. Todas as placas dos diversos experimentos foram avaliadas continuamente em relação à oxidação das anteras, número de calos e contaminações fúngicas e bactericidas.

Resultados – Dos seis genótipos introduzidos in vitro, apenas o *Citrus medica* L. apresentou uma calogênese acentuada em relação a quantidade e tamanho. Apenas as anteras com formação de calos foram aproveitadas, sendo as demais descartadas. Na segunda etapa, foi realizada uma análise de todos os calos viáveis, em relação à quantidade, tamanho e peso. Os calos com tamanho menor que 2 mm foram medidos e transferidos para o meio de cultura MS modificado. Os demais, com tamanho igual ou superior a 2 mm foram pesados, alguns seccionados e também transferidos para o mesmo meio. O número médio de calos por placa, bem como no primeiro experimento, foi mantido em 13. Os calos menores foram colocados em placas 60 mm x 15 mm e os maiores em placas de 90 mm x 15 mm, para um maior espaçamento entre os explantes e, conseqüentemente, uma melhor condição para o crescimento dos calos. Após o alcance da quantidade de calos necessários, estes passarão por um processo de diferenciação celular a fim de gerar plantas, análise do nível de ploidia, e a confirmação do alcance dos haploides.

Conclusões – A obtenção de plantas haploides em citros, apesar de difícil, é possível ser alcançada. Dentre os seis genótipos testados, *Citrus medica* responde bem a indução de calos a partir de anteras, para a posterior geração de indivíduos homozigotos completos (linhagens).

Palavras-chave: Melhoramento genético; cultura de tecidos; cultura de anteras.