

## USO DA PARTENOGENÊSE *IN SITU* VISANDO A OBTENÇÃO DE PLANTAS HAPLÓIDES DE LARANJA DOCE

**Salomão, K.<sup>1</sup>; Nadai, F.B.<sup>1</sup>; Henrique, F.H.<sup>1</sup>; Cardoso, J.C.<sup>2</sup>; Latado, R.R.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Centro APTA Citrus “Sylvio Moreira” (CCSM), Rodovia Anhaguera, km 158 – Caixa Postal 04, 13490-970, Cordeirópolis, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de São Carlos - Centro de Ciências Agrárias, Rodovia Anhanguera, Km 174 – Caixa Postal 153, 13600970, São Carlos, Brasil. kasalomao@gmail.com.

A técnica da partenogênese *in situ* é utilizada para estimular a divisão celular dos óvulos não fertilizados através da polinização com grãos de pólen irradiados, não-irradiados de espécies sexualmente incompatíveis, ou ainda sem o uso de grãos de pólen. No presente estudo foram realizados experimentos de partenogênese *in situ* em condições de estufa, com plantas de laranjeira Pêra-de-abril, que produz sementes monoembriônicas. Foram utilizados para a polinização, pólenes frescos dessa variedade, colhidos na pré-antese. Após a abertura das anteras, os grãos de pólen foram imediatamente levados para irradiação com as seguintes doses de raios gama: 0, 150, 300 e 450 Gy, na fonte de Co<sup>60</sup> do CENA/USP. Os frutos imaturos com idade de três meses foram colhidos e utilizados para a fase de resgate de embriões. Após desinfestação superficial dos frutos, as sementes foram transferidas para meio de cultura MS sólido, acrescido de 0,5 g.L<sup>-1</sup> de extrato de malte, 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 1 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, o pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem. As sementes foram mantidas a 27±1 °C, no escuro, por 120 dias. Nesse período, foram realizadas análises de ploidia dos calos regenerados, através de citometria de fluxo, que revelaram a presença de três calos haploides putativos, dentre 14 calos analisados. Dois calos obtidos a partir de frutos originados de polinização com pólen irradiado com dose de 150 Gy, e um, com pólen irradiado com dose de 450 Gy. Para determinação da origem molecular dos calos, foram realizadas análises com microssatélites (SSR), onde esses calos mostraram padrão heterozigoto, possivelmente devido à mistura física de calos nucleares (diplóides e heterozigotos), com calos de embriões haploides (homozigotos). Posteriormente, os calos foram transferidos para meio sem reguladores vegetais na presença de luz para a indução de embriogênese somática e regeneração de plântulas haploides ou duplo-haploides de laranja.

**Palavras Chave:** doses, irradiação, citometria, microssatélites, haploides

**Agradecimentos:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)