

## AVALIAÇÃO DE AUTOCOMPATIBILIDADE EM SELEÇÕES AVANÇADAS DE AMEIXEIRA JAPONESA

VIVIANE TAVARES DA SILVA<sup>1</sup>; ROBSON ROSA DE CAMARGO<sup>2</sup>; MARIA DO CARMO BASSOLS RASEIRA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – Bolsista CNPq – vivianean@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – robson.rcamargo@hotmail.com

<sup>3</sup>Embrapa Clima Temperado – maria.bassols@embrapa.br

### 1. INTRODUÇÃO

A ameixeira pertence à família Rosaceae e ao gênero *Prunus*, inclui várias espécies, sendo uma das mais importantes a *Prunus salicina* Lindl., conhecida como a ameixeira japonesa (NAKASU & CASTRO, 1989).

A ameixeira japonesa (*Prunus salicina*) é originária da China, e foi introduzida no Brasil no século passado. Ela é cultivada em regiões de clima temperado, por ter necessidade em frio inferior a outras espécies de ameixeira.

Entretanto, essa espécie apresenta alguns problemas. Além de diversas cultivares apresentarem suscetibilidade a *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* e à escaldadura da folha (*Xyllela*), há ainda o fato de que a maioria delas apresenta autoincompatibilidade, em maior ou menor grau. Por outro lado, a autoincompatibilidade é um importante mecanismo reprodutivo presente na maioria das angiospermas para manter e aumentar a diversidade dentro da espécie (ZHANG et al; 2009). A autoincompatibilidade nessa espécie é do tipo gametofítica. Nesse tipo, os grãos de pólen só irão crescer e só ocorrerá fecundação se o alelo S presente no grão de pólen não estiver no tecido diploide do estilete. Nesse processo, o grão de pólen germina e a reação de incompatibilidade ocorre entre o tubo polínico e o estilete. Supõe-se que a ação dos genes S seja ativada após a meiose e há envolvimento de RNAses e glicoproteínas (NEWBIGIN et al., 1993). O reconhecimento do pólen incompatível se dá em nível de interação proteína-proteína dos dois determinantes (masculino e feminino) (TAKAYAMA; ISOGAL, 2005). Como os grãos de pólen apresentam expressão independente e segregam 1:1, os cruzamentos podem ser compatíveis quando os alelos S do grão de pólen e do pistilo são diferentes; parcialmente compatíveis quando pelo menos um alelo S do grão de pólen é idêntico ao do pistilo e incompatível quando todos os alelos S do grão de pólen são idênticos aos do pistilo (RICHARDS, 1986).

O objetivo desse trabalho foi observar se seis das seleções do programa de melhoramento da Embrapa Clima Temperado, com potencial de virem a tornar-se cultivares, são autoférteis.

Se autoférteis, seria facilitado o trabalho do produtor já que não seria necessário o plantio de cultivares polinizadoras, para que haja a frutificação.

### 2. METODOLOGIA

Foram coletadas flores em estágio de botão das seleções 05, 10, 19, 28, 35 e 67, oriundas do programa de melhoramento da Embrapa Clima Temperado.

Dessas flores foram retiradas as anteras, as quais foram deixadas à temperatura ambiente, para que liberassem os grãos de pólen.

No mesmo dia ou no dia seguinte, foram colhidos ramos das mesmas seleções, os quais foram colocados em recipientes com 200ml de água destilada e 5g de açúcar. Nesses ramos, todas as flores em estágio de balão foram emasculadas e polinizadas com pólen da mesma seleção. Após três dias, os pistilos foram retirados e colocados por um período mínimo de 24 horas em fixativo FAA (formol, ácido acético e álcool 1:1:8). Assim que retirados do fixativo, os pistilos foram lavados três vezes com água destilada e, em seguida ficaram por 24 horas em solução 8N de NaOH para amaciar o tecido. Depois desse tempo eles foram retirados dessa solução, novamente lavados e colocados em água destilada. Pouco antes de serem observados ao microscópio, os pistilos foram retirados da água e colocados em hipoclorito de sódio 20%, por cerca de 10 minutos. Finalmente, foram novamente lavados por três vezes, com água destilada, e colocados em corante lacmóide 1%.

Na preparação das lâminas, os pistilos foram colocados com duas gotas de lacmóide, cobertos com lamínula e então pressionados cuidadosamente.

Em microscópio óptico foi observada a germinação dos pólen no estigma e o crescimento do tubo polínico através do estilete. Conforme a localização da extremidade do tubo polínico em relação ao estilete foi conferido um grau para cada pistilo observado, conforme a seguinte escala, adaptada de (FRANKEN et al., 1988) e utilizada por (BANDEIRA et al., 2011):

- 1 Tubo polínico no estigma, sem penetrar no estilete.
- 2 Tubo polínico no primeiro terço do estilete
- 3 Tubo polínico no segundo terço do estilete
- 4 Tubo polínico no terceiro terço do estilete
- 5 Tubo polínico no interior do ovário
- 6 Tubo polínico no polínico no óvulo

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos são apresentados na tabela 1.

Genótipo	Nº de pistilos observados / 2012	Nº de pistilo com ETP ≥ 3** / 2012	Nº de pistilos observados / 2013	Nº de pistilo com ETP ≥ 3** / 2013
Seleção 5	NA	NA	20	19
Seleção 10	NA	NA	11	11
Seleção 19	6	6	4	4
Seleção 28	4	4	10	10
Seleção 35	NA	NA	10	10
Seleção 67	5	4	10	10

\* *Elongação do tubo polínico*

\*\* *Grau 3 = Tubo polínico no segundo terço do estilete*

NA = Não avaliado

Nikolic e Milatovic, 2009, usaram microscopia fluorescente para o estudo de compatibilidade de 18 cultivares de ameixeira europeia. No presente trabalho foi utilizado microscópio óptico com corante diferencial, por ser um equipamento facilmente encontrado em qualquer instituição de ensino ou pesquisa. Os citados

autores consideraram autoincompatíveis genótipos cujo pólen paralisava o crescimento no estilete com formação de alargamento (inchamento) característico na extremidade devido à maior acúmulo da calose. Outro sinal característico de incompatibilidade é a expansão e bifurcação das extremidades dos tubos polínicos.

A incompatibilidade gametofítica ocorre com mais frequência no terço superior do estilete (NIKOLIC E MILATOVIĆ, 2009; SCHIFINO-WITTMANN ; DALL' AGNOL, 2002). Apesar disso, Nikolic e Milatovic, 2009, verificaram a chegada do tubo polínico na base do estilete, quatro dias após a polinização. Como no presente trabalho, os pistilos foram colocados em fixativo apenas três dias após a polinização e a temperatura ambiente era baixa, optou-se por observar apenas se os tubos passavam esta barreira de incompatibilidade que se localiza no terço médio do estilete (SCHIFINO-WITTMANN ; DALL' AGNOL, 2002).

Pelas médias obtidas pode-se verificar que todas as seleções observadas tinham tubos polínicos no segundo terço do estilete e, portanto, podem ser consideradas com auto grau de compatibilidade.

Cumprido destacar também que as seleções 19, 28 e 67 haviam sido observadas também no ano anterior e os tubos polínicos estavam pelo menos entre o primeiro e segundo terço do estilete.

#### 4. CONCLUSÕES

Nas condições em que foram testadas as seleções pode-se concluir que todas elas apresentam satisfatório grau de autocompatibilidade.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANDEIRA, J.M.; THUROW, L.B.; PETERS, J.A.; RASEIRA, M.C.B.; BIANCHI, V.J. Caracterização fisiológica da compatibilidade reprodutiva de ameixeira japonesa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, p.860-867, 2011

FRANKEN, J.; CUSTERS, J.B.M.; BINO, R.J. Effects of temperature on pollen tube growth and fruit set in reciprocal crosses between *Cucumis sativus* and *C. metuliferus*. **Plant Breeding**, v.100, p.150-153, 1988.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas Brasileiras e Exóticas Cultivadas**. São Paulo: Instituto Plantarum de estudos da flora LTDA, 2006.

NIKOLIĆ, D., MILATOVIĆ, D., (2009). Examining self-compatibility in plum (*Prunus domestica* L.) by fluorescence microscopy. **Genetika**, Belgrado, v.42, n.2, p.387-396, 2010

NAKASU, B.H.; CASTRO, L.A.S. Indicação de cultivares de ameixeiras para o sul do Brasil. **HortiSul**, Pelotas RS v.1, n.2, p.24-28, 1989.

NEWBIGIN, E.; ANDERSON, M.A.; CLARKE, A.E. Gametophytic self-incompatibility systems. **The Plant Cell**, Melbourne v.5, p.1315-1324, 1993

RICHARDS, A.J. **Plant breeding systems**. London: George Allen & Unwin, 1986.

SCHIFINO-WITTMANN, M.T. & DALL'AGNOL, M. Self-Incompatibility In 441 Plants. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.6, p.1083-1090, 2002.

TAKAYAMA, S.; ISOGAI A. Self-incompatibility in Plants. **Annual Review Plant Biology**, Palo Alto, v.56, p.467-489, 2005.

ZHANG, Y.; ZHAO, Z.; XUE, Y. Roles of proteolysis in plant self-incompatibility. **Annual Review of Plant Biology**, v.60, p.21-42, 2009.