

Confirmação da indução da hexaploidia do alotriploide “Híbrido de Timor” ‘CIFC 4106’ por contagem cromossômica

Sanglard, N.A.¹; Amaral-Silva, P.M.¹; Oliveira, S.C.¹; Sattler, M.C.²;
Carvalho, C.R.²; Clarindo, W.R.¹

Abstract/Resumo

As diversas estratégias empregadas para indução da duplicação cromossômica geram indivíduos com diferentes níveis de ploidia, inclusive mixoploides. Nesse sentido, é fundamental o uso de métodos que distinguem os indivíduos com base no nível de ploidia. Dentre os métodos diretos, o único que inequivocamente confirma o nível de ploidia é a contagem cromossômica. Dessa forma, o presente trabalho tem por objetivo determinar o número cromossômico de alotriploides e hexaploides putativos oriundos da indução da duplicação cromossômica do alotriploide Híbrido de Timor (HT) ‘CIFC 4106’. A partir de um novo procedimento envolvendo calos embriogênicos friáveis tratados com colchicina, 48 plântulas foram regeneradas. A citometria de fluxo (CF) foi realizada a partir de fragmentos foliares dos indivíduos regenerados, pré-selecionando os alotriploides e os supostos hexaploides. Meristemas radiculares desses indivíduos foram tratados com 90 µM de ciclohexamida e 4 µM amiprofos-metil durante 1 h 45 min a 25°C e macerados em *pool* enzimático (celulase 4 %, macerozime 1% e hemicelulase 0,4%) por 2 h a 34°C. Em lâminas preparadas por dissociação celular e secagem ao ar, metáfases com $2n = 3x = 33$ e com $2n = 6x = 66$ cromossomos foram encontradas. A técnica empregada permitiu a obtenção de cromossomos bem espalhados na lâmina, garantindo uma contagem precisa do número de cromossomos. O procedimento citogenético foi primordial em virtude do elevado número de cromossomos, uma vez que, a técnica de esmagamento amplamente empregada, possivelmente resultaria em cromossomos sobrepostos. A CF possibilita o *screening* de muitas plântulas em um curto período de tempo, mas a contagem cromossômica é primordial para a determinação do nível de ploidia, uma vez que, pequenas alterações aneuploides podem não ser detectadas pelo citômetro de fluxo. Por se tratar de um experimento conduzido *in vitro*, a obtenção de cromossomos metafásicos é favorecida pela alta taxa proliferativa do material biológico, aliado a uma padronização refinada dos pré-tratamentos citogenéticos. A associação da CF com a citogenética permitiu avaliar o nível de ploidia a partir de diferentes tecidos, folhas e raízes, respectivamente. Dessa forma, a determinação do número de cromossomos deve ser parte indispensável do rigor experimental em experimentos de duplicação cromossômica.

Keyword/Palavras-chave: *Coffea*; Citogenética; Duplicação cromossômica

1 Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos, UFES, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Biologia, Alegre-ES, nataliasanglard@gmail.com

2 Laboratório de Citogenética e Citometria, Universidade Federal de Viçosa, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Biologia Geral, Viçosa-MG