

DIVERSIDADE ALÉLICA DO GENE S QUE EXPRESSA A AUTOINCOMPATIBILIDADE EM *Coffea canéfora*

Carolina A. de Souza¹*, Simone C. Sangi¹, Rodrigo P. Depollo², Taynara R. Andrade², Victor M. Spinelli³, José R. Vieira Júnior⁴, Maurício R. A. dos Santos⁴, Rodrigo B. Rocha⁴

¹ Discente Curso do PPG Bionorte (UNIR)

²Discente Curso de Agronomia do Centro Universitário Aparício Carvalho (FIMCA)

³Docente do Curso de Agronomia (FIMCA) e Biologia (UNIR)

⁴Pesquisador da Embrapa Rondônia

* Autor correspondente: carolina_augusto@hotmail.com

Introdução:

O *C. canéfora* apresenta autoincompatibilidade gametofítica, a qual se caracteriza pela reação de incompatibilidade entre o tubo polínico e o grão de pólen, que não deve compartilhar o mesmo alelo da planta receptora. Nesta espécie, a autoincompatibilidade tem sua expressão governada por apenas um gene multialélico identificado pela letra S (NOWAK et al., 2011).

O mecanismo de determinação da compatibilidade coloca o gene S sob seleção negativa dependente da frequência, o que significa que a frequência de um alelo é inversamente proporcional ao seu valor adaptativo. Embora avaliações no centro de origem indiquem a existência de até cinco formas alélicas do gene S, observações de campo indicam a ocorrência de apenas três formas alélicas na expressão desta característica em germoplasma brasileiro (S₁, S₂ e S₃) (MORAES et al., 2018).

O objetivo desse trabalho é caracterizar a autoincompatibilidade de acessos do Banco de Germoplasma da Embrapa quantificando a diversidade alélica e genotípica de uma população de melhoramento fornecendo subsídios para manipulação dessa característica no desenvolvimento de novas variedades.

Material e Métodos:

Neste trabalho foram avaliados 28 genótipos de uma população de melhoramento contendo 80 matrizes das variedades botânicas Conilon e Robusta, do campo experimental da Embrapa Rondônia localizada no município de Porto Velho.

A polinização de pistilos *in vitro* consiste na deposição de grãos de pólen assépticos no estigma dos pistilos das flores receptoras, mantidos em cultura de tecido (LASHERMES et al., 1996). Essa estratégia permite eliminar a contaminação pela presença de grãos de pólen de plantas não doadoras.

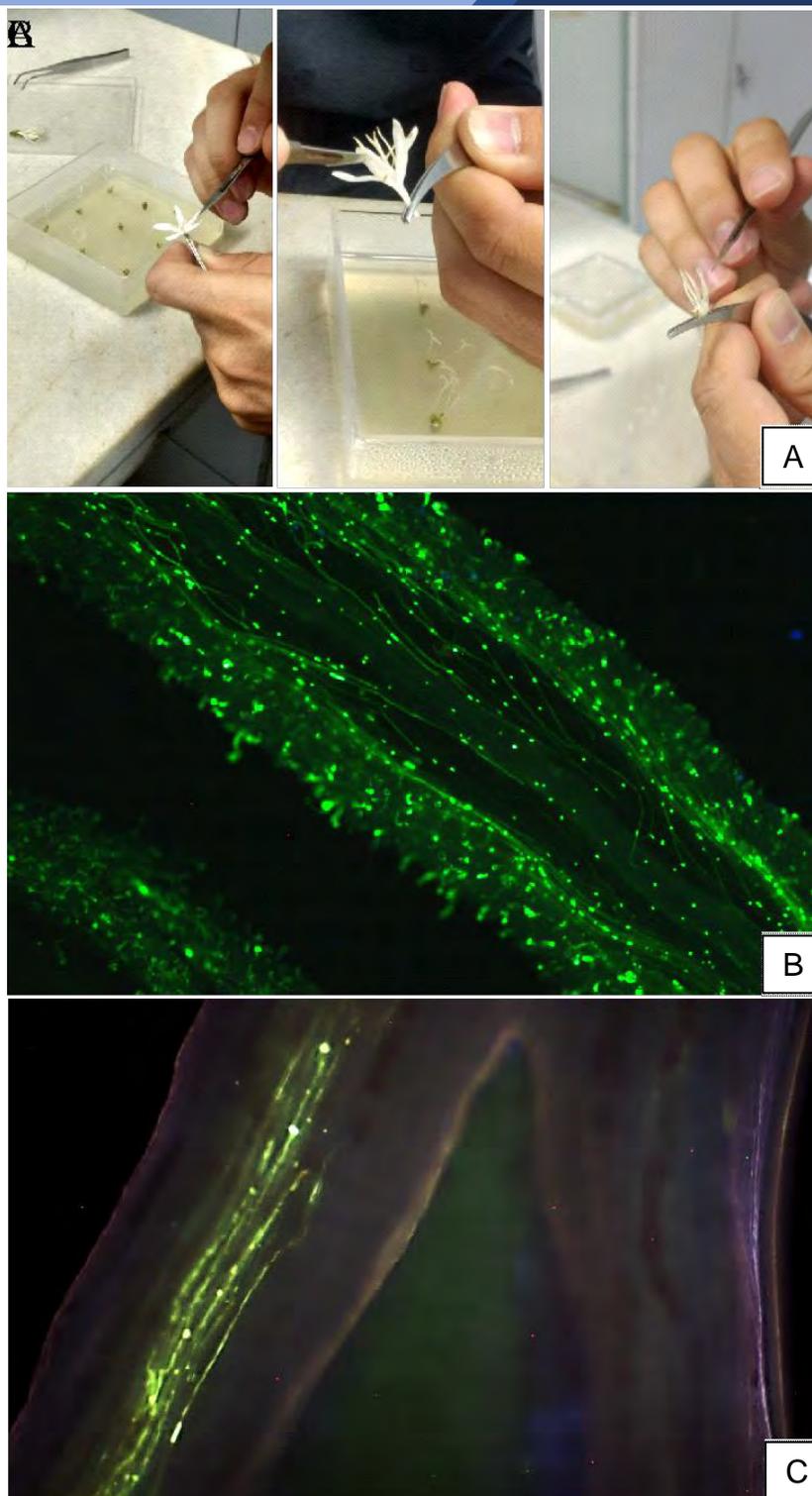


Figura 1. Etapas da polinização *in vitro* e visualização dos tubos polínicos utilizando microscopia de fluorescência. A: Polinização *in vitro* dos estigmas. B: Visualização dos tubos polínicos microscopia de fluorescências (200x), C: Desenvolvimento dos tubos polínicos (200 x).

Foram utilizadas plantas testadoras dos grupos de compatibilidade I, II e III. O diagnóstico da compatibilidade dos cruzamentos fundamenta-se na avaliação do desenvolvimento dos tubos polínicos diretamente no pistilo das plantas, trinta horas após a hibridação artificial.

A visualização dos pistilos foi realizada em microscópio de fluorescência, em aumento de 10 e 20 vezes, contabilizando o número de pistilos que apresentaram tubos polínicos completamente desenvolvidos (LASHERMES et al., 1996). A eficiência de polinização foi estimada pela relação entre o número de estigmas fertilizados e o número total de estigmas polinizados.

Resultados e Discussão:

Entre os 28 clones caracterizados 17 genótipos (61%) foram incompatíveis com a planta testadora do grupo I, 5 clones (18%) apresentaram incompatibilidade com a planta testadora do grupo II e 6 clones (21%) foram incompatíveis com o testador do grupo III (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição dos acessos caracterizados de acordo com os grupos de compatibilidade determinados pela visualização *in vitro* do desenvolvimento do tubo polínico.

Grupos	Genótipo	N _o	f(g)	N _e	Alelos	f(a)
I	S ₁ S ₂	17	0,61	14,15	S ₁	0,39
II	S ₁ S ₃	5	0,18	6,77	S ₂	0,41
III	S ₂ S ₃	6	0,21	7,08	S ₃	0,20
Total		28	1,00	28		1,00
χ^2		1.10 ^{NS}				

χ^2 Teste de qui-quadrado, N_o: número observado de plantas em cada um dos grupos de compatibilidade, f: frequência simples, N_e: Número esperado de plantas em cada um dos grupos de compatibilidade.

Apesar da diferença observada entre as frequências alélicas, as frequências genotípicas não apresentaram diferenças das proporções esperadas para uma população em Equilíbrio de Hardy Weinberg (EHW), de acordo com o teste de qui-quadrado com 1% de probabilidade. Segundo Vekeman e Slatkin (1994) o gene S apresenta genealogia semelhante à de genes neutros, que não têm sua frequência alterada pela seleção natural. Ao considerar essa característica, em uma população em EHW, em que as frequências alélicas são idênticas ($p=q=r\dots z$), a probabilidade de um cruzamento ser compatível é de 0% quando estão presentes apenas duas formas alélicas, de 66,7% quando estão presentes três formas alélicas e de 83,3% quando estão presentes quatro formas alélicas diferentes (CHARLESWORTH; GUTTMAN, 1997).

Conclusões:

A microscopia de fluorescência permite reduzir o tempo diagnóstico da compatibilidade em *Coffea canephora*. Apesar da diferença entre as frequências alélicas, as frequências genotípicas observadas não diferem das proporções esperadas para uma população em EHW. A caracterização da segregação do gene S nas populações, impacta na eficiência de polinização desse cultivo com o favorecimento natural de cruzamentos compatíveis.

Palavras-chave: Hibridação direcionada; Café canéfora; Conilon; Robusta.

Apoio financeiro: Trabalho financiado pelo Consórcio Pesquisa Café e pela FAPERO. Os autores agradecem ao CNPQ e a CAPES pela concessão de bolsas.

Referências bibliográficas

CHARLESWORTH, D.; GUTTMAN, D. S. Plant genetics: Seeing selection in S allele sequences. **Current Biology**, v. 7, n. 1, p. R34-R37, 1997.

LASHERMES, P. et al. Inheritance and genetic mapping of self-incompatibility in *Coffea canephora* Pierre. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 93, n. 3, p. 458-462, 1996.

MORAES, M. S. et al. Characterization of gametophytic self-incompatibility of superior clones of *Coffea canephora*. **Genetics and Molecular Research**, v. 17, p. 1-11, 2018.

NOWAK, M. D. et al. Expression and Trans-Specific Polymorphism of Self-Incompatibility RNases in *Coffea* (Rubiaceae). **Plos One**, v. 6, n. 6, 2011.

VEKEMAN, X.; SLATKIN, M. Gene and allelic genealogies at a gametophytic self-incompatibility locus. **Genetics and Molecular Biology**, v.137, p.1157-1165, 1994.