

ACOMPANHAMENTO CITOLÓGICO DA EMBRIOGÊNESE DE MICRÓSPOROS DE TRIGO E DE CEVADA ATRAVÉS DE MICROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA

Poersch, L. B.¹; Brammer, S. P.^{2*}; Scagliusi, S. M.²

A produção de plantas haplóides é um dos meios mais rápidos para a obtenção de homozigotos recombinantes, constituindo-se em uma técnica de apoio ao melhoramento vegetal. Por meio deste processo, uma nova planta é originada de uma única célula, o micrósporo uninucleado. Este muda sua rota inicial de gametofítica para esporofítica (após sofrer determinados tipos de stresses), processo conhecido como embriogênese do micrósporo ou androgênese. A nova planta, assim originada, será haplóide e poderá ter seu genoma duplicado espontaneamente *in vitro* ou artificialmente, recuperando sua fertilidade e passando a ser chamada de duplo-haplóide. A obtenção de plantas duplo-haplóides via cultura de micrósporos isolados vem ocupando espaço significativo nos laboratórios e nas pesquisas da área da biologia celular. Desta forma, os objetivos deste trabalho são: acompanhar e compreender o processo da embriogênese dos micrósporos e avaliar a eficiência de diferentes pré-tratamentos (estresses) a fim de verificar maior eficiência quanto ao número de células para a rota esporofítica, bem como o aumento da taxa de duplicação espontânea dos cromossomos. Serão avaliados três diferentes pré-tratamentos: a) frio; b) frio + manitol e c) ácido hidroxí-nicotínico (HNA) em cinco genótipos de trigo e um de cevada (BRS 195), sendo esta última a cultura adotada como modelo para a técnica. Para o acompanhamento da evolução da embriogênese, bem como a ocorrência da primeira divisão mitótica e o tipo de divisão, serão coletadas a cada três dias, amostras da cultura *in vitro*. A metodologia de coloração das células será conforme Pulido et al. (2005), onde o material coletado será fixado brevemente em Carnoy (3:1 v/v etanol - ácido acético), seguido de enxágue em 70% de etanol por 10 minutos com 1 µg/ml de solução aquosa de DAPI (4',6-diamidino-2-phenyl-indole) contendo 1% de Triton X-100. As lâminas serão confeccionadas através da técnica de *squahs* e analisadas em microscópio de luz UV Axioplan 40 (Zeiss).

¹ Acadêmica do programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade de Passo Fundo.

² Pesquisador da Embrapa Trigo, *orientadora.