



COMPORTAMENTO MEIÓTICO E VIABILIDADE DO PÓLEN EM *MORINGA OLEIFERA* (MORINGACEAE)

*Pedro Henrique Silvestre Duhatschek*¹; *Maria Fernanda Rodrigues De Tomasi*¹;
*Bruna Sisti Michelin de Polli*²; *Eduardo Augusto de Melo*²; *Adriana Gonela*³; *Andréa
Beatriz Diverio Mendes*⁴

¹ Mestrando do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias Universidade Estadual de Maringá,, PR. Bolsistas Capes. pg405983@uem.br; ra122596@uem.br

² Doutorando do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias Universidade Estadual de Maringá, PR. brunadepolli@gmail.com
eaugusto_melo@hotmail.com

³ Docente do Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias Universidade Estadual de Maringá, PR. agonela@uem.br

⁴ Docente do Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá, PR. abdmendes@uem.br

RESUMO

O estudo teve como objetivo caracterizar citogeneticamente a microsporogênese em *Moringa oleifera*, uma espécie amplamente conhecida por seu potencial nutricional e adaptabilidade a diferentes condições climáticas. Apesar da importância da espécie, os estudos citogenéticos ainda são escassos, especialmente os que envolvem a meiose. Para a análise, foram analisados meiócitos de botões florais coletados na Fazenda Experimental de Iguatemi (UEM/PR), utilizando a técnica de esmagamento com carmim propiônico 1% e observação em microscopia óptica. Os resultados demonstraram um comportamento meiótico predominantemente estável nas fases I e II da meiose, com poucas anormalidades. Entretanto foram observados cromossomos retardatários na anáfase I e fusos anormais durante a meiose II. Na meiose II, 20% dos meiócitos apresentaram fusos atípicos, incluindo fusos convergentes e perpendiculares. Ainda assim, a maioria das células gerou tétrades regulares (82,35%), indicando que os eventos anômalos não comprometem de maneira severa a viabilidade das plantas. Sugere-se que as tríades observadas sejam consequência das irregularidades de fusos observadas na fase II da meiose. Apesar da ocorrência dessas anormalidades, *M. oleifera* apresentou uma taxa de viabilidade meiótica de 100%, o que evidencia sua estabilidade genética e potencial reprodutivo. Estudos citogenéticos contribuem para a caracterização da espécie e fornecem subsídios para futuras pesquisas genéticas e de melhoramento vegetal.

PALAVRAS-CHAVE: Fusos convergentes; Fusos perpendiculares; Meiose, Tríade.

1 INTRODUÇÃO

Moringa oleifera, popularmente conhecida como “árvore milagrosa”, é capaz de se desenvolver com sucesso em praticamente todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, embora sua origem seja atribuída ao sul da Ásia, especificamente Afeganistão, Bangladesh, Índia e Paquistão (Fuglie, 1998). O gênero *Moringa* abrange 13 espécies: *M. oleifera*, *M. arborea*, *M. rivae*, *M. ruspoliana*, *M. drouhardii*, *M. hildebrandtii*, *M. concanensis*, *M. borziana*, *M. longituba*, *M. pygmaea*, *M. ovalifolia*, *M. peregrina* e *M. stenopetala*. Entre todas, *M. oleifera* é a mais amplamente conhecida devido às suas diversas aplicações nutricionais, na produção de biogás e fertilizantes (Gandji et al., 2018). Pesquisas indicam que *M. oleifera* está



entre as opções mais econômicas e eficazes para promover uma nutrição de qualidade (Gopinath et al., 2017). As folhas apresentam elevados níveis de betacaroteno, minerais como cálcio e potássio (Kasolo et al., 2010). Em forma de pó, as folhas são utilizadas em diversas bebidas, sendo a mais conhecida a “Zija”, especialmente popular na Índia (Ansar et al., 2012). Uma de suas características mais marcantes é a notável resistência à seca (Gandji et al., 2018).

Apesar da *M. oleifera* já ter sido objeto de alguns estudos, muito pouco se sabe sobre a variabilidade e citotaxonomia dessas plantas. A citogenética tem se consolidado como uma importante ferramenta dentro da citotaxonomia vegetal, contribuindo significativamente para a caracterização de espécies, bem como para a compreensão das relações evolutivas e dos mecanismos de diversificação entre elas. No entanto, dentro do gênero *Moringa*, os estudos citogenéticos ainda são escassos, com poucos trabalhos abordando análises citogenéticas convencionais e moleculares. Diante dessa lacuna e considerando a relevância dessas informações para o aprimoramento do conhecimento genético e reprodutivo da espécie, o presente estudo tem como objetivo realizar uma descrição detalhada da microsporogênese em *Moringa oleifera*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Plantas de *M. oleifera* da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) da Universidade Estadual de Maringá (Maringá, Paraná, Brasil) foram analisadas para determinação do comportamento meiótico. Para os estudos meióticos, os botões florais foram coletados e fixados em Carnoy (3 álcool:1 acético ácido) por 24 h e, em seguida, armazenados sob refrigeração em álcool 70% até o momento da confecção das lâminas. Os meiócitos foram obtidos pela técnica de esmagamento com carmim propiônico 1%. Todas as fases meióticas foram avaliadas sob microscopia de luz em um microscópio Olympus CX 31. **As anormalidades meióticas foram classificadas de acordo com Silva et al. (2011). Foram observadas 100 células por fase da meiose e foram determinados o total de células analisadas, a porcentagem de anormalidades em cada fase**

Para a realização da viabilidade do pólen, foram utilizadas inflorescências em estádios de desenvolvimento próximos à antese. Para o teste colorimétrico foi utilizado o corante carmim propiônico 1,0%, que colore o material genético, principalmente o DNA. A técnica de esmagamento também foi utilizada para os testes de viabilidade polínica. **Foram considerados anormais aquelas células que apresentaram tamanho anormal, coloração fraca e protoplasma reduzido. As células que apresentaram protoplasma completo e coloração intensa foram consideradas normais.**

As imagens contendo os meiócitos com as anormalidades mais representativas foram capturadas através do microscópio Olympus CX 31, câmera SC 30 pelo programa *AnalySIS getIT*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES



A análise da microsporogênese de *Moringa oleifera* evidenciou um comportamento cromossômico predominantemente estável durante as fases meióticas I e II. As poucas anormalidades observadas foram atribuídas, principalmente, à segregação irregular dos cromossomos.

Durante a anáfase I, 55,88% das células exibiram cromossomos retardatários. A presença de cromossomos ascendendo precocemente na anáfase I pode estar relacionado a falhas na sinapse cromossômica, na formação ou terminalização dos quiasmas (Mendes-Bonato et al., 2001). Pesquisadores observaram que, em *Arabidopsis thaliana*, micronúcleos se formam durante a meiose I e permanecem até a telófase II (Khaitova et al., 2024). Esse fenômeno ocorre principalmente devido à má segregação cromossômica, sendo induzido por falhas no fuso mitótico, anomalias nos quiasmas ou checkpoints defeituosos.

Na telófase I foi observado 18,18% de meiócitos com micronúcleos. Entretanto, sugere-se que estes tenham sido incluídos no núcleo principal, uma vez que não foram mais observados durante o processo meiótico. A inclusão de micronúcleos formados na meiose I no núcleo principal na fase II da meiose restaura o processo normal e não afeta a viabilidade da planta (Mendes-Bonato et al., 2002; Ragalzi et al., 2021; Sales et al., 2021). Os resultados obtidos por de Silva et al. (2011), corroboram com os dados obtidos nesse estudo, pois esses autores também relataram uma meiose I estável, com baixa frequência de anormalidades. Entretanto, relataram predominância de alterações durante a metáfase I.

A partir da metáfase II, foi registrada a incidência de anormalidades na formação do fuso meiótico. Especificamente, 20,00% dos meiócitos apresentaram fusos atípicos nessa fase, caracterizados pela presença de uma placa metafásica invertida e a outra normal. Na anáfase II, 18,92% apresentavam a migração de cromossomos a partir dessa placa invertida. Já na telófase II, 23,08% dos meiócitos apresentaram fusos anormais. Nesta fase foi possível visualizar três tipos diferentes de fuso: paralelos, convergentes e perpendiculares. Os fusos paralelos são decorrentes da formação normal das placas metafásicas na metáfase II. Os convergentes e perpendiculares são considerados anormais e decorrentes das placas invertidas e migração dos cromossomos nas fases de metáfase II e anáfase II, respectivamente.

Apesar dessas frequentes alterações no fuso, observou-se uma alta proporção de produtos finais normais: 82,35% das tétrades eram regulares e apenas 17,65% eram tríades. As tétrades normais se originaram das telófases com fusos paralelos e perpendiculares. As tríades possivelmente foram formadas como consequência dos fusos convergentes pois todas apresentaram dois núcleos em um dos micrósporos da tríade. Estudos em *Brassica napus* e *B. campestris* relatam fusos anormais na segunda divisão meiótica, com frequência entre 3,2% e 8,1%, incluindo fusos conjugados e tripolares, e sugerem que essas anormalidades podem ser influenciadas por estresse ambiental (Souza & Pagliarini, 1997). Pesquisadores observaram em *Capsicum annuum* e *C. frutescens* ocorrência de fusos convergentes e perpendiculares durante a metáfase II, mas esses eventos nem sempre resultam em produtos finais anômalos (como tríades ou micronúcleos) (Souza et al., 2017). Em *Crotalaria spectabilis* fuso paralelos e tripolares em metáfase II têm sido indicados como a causa da formação de tríades e gametas $2n$ (Ferreira et al., 2022). Silva et al. (2011) observaram fusos tripolares em metáfase II de *M. oleifera*, levando à formação de telófases II trinucleadas e, conseqüentemente, à ocorrência de tríade



O teste colorimétrico indicou 100% de viabilidade do pólen nas plantas de *M. oleifera* analisadas. Plantas de *M. oleifera* apresentaram 88% de viabilidade de pólen (Silva et al., 2011). Estes resultados estão de acordo com a estabilidade meiótica observada nas análises.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de fusos normais durante a meiose em *Moringa oleifera* favorece a formação de tétrades regulares, o que indica um processo meiótico estável. A alta taxa de viabilidade observada reforça a estabilidade meiótica da espécie, sugerindo que *M. oleifera* possui um bom potencial reprodutivo. Estas informações contribuem para a caracterização da espécie e são importantes para os futuros programas de melhoramento.

REFERÊNCIAS

- ANSARI, M. M.; KUMAR, S. D. Fortification of food and beverages with phytonutrients. **Public Health Nutrition**, v. 2, p. 241–253, 2012.
- ANWAR, F.; ASHRAF, M.; BHANGER, M. I. Interprovenance variation in the composition of *Moringa oleifera* oilseeds from Pakistan. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 82, p. 45–51, 2005.
- CHAUDHARY, K.; CHOURASIA, S. Nutraceutical properties of *Moringa oleifera*: a review. **European Journal of Pharmaceutical and Medical Research**, v. 4, p. 646–655, 2017.
- CRHAK KHAITOVA, L. MILKULKOVA, P. PECINKOVA, J. Heat stress impairs centromere structure and segregation of meiotic chromosomes in *Arabidopsis*. **eLife**, v. 12, e90253, 2024. DOI: 10.7554/eLife.90253.
- FERREIRA, K. Anormalidades meióticas em *Crotalaria spectabilis* (Leguminosae): fusos paralelos e tripolares na metáfase II geram tríades e pólen 2n. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 46, e007022, 2022.
- FUGLIE, L. J. *Producing food without pesticides: local solutions to crop pest control in West Africa*. 1. ed. Dakar: **Church World Service**, 1998. p. 1–158.
- GANDJI, K. CHADARE, FJ. Status and utilisation of *Moringa oleifera* Lam: a review. **African Crop Science Journal**, v. 26, p. 137–156, 2018.
- GOPINATH, L. R. JEEVITHA, S. GOKILADEVI, T. ARCHAYA, S. Isolation and identification of therapeutic compounds from *Moringa oleifera* and its antimicrobial activity. **IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 12, p. 1–10, 2017.
- KASOLO, J. N. BIMENYA, G.S. OJOK, L. Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in Ugandan rural communities. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 4, p. 753–757, 2010.



MENDES-BONATO, A. B. PAGLIARINI, M.S. VALLE, C, B. Unusual cytological patterns of microsporogenesis in *Brachiaria decumbens*: abnormalities in spindle and defective cytokinesis causing precocious cellularization. **Cell Biology International**, v. 26, p. 641–646, 2002. DOI: 10.1006/cbir.2002.0929.

MENDES-BONATO, A. B. PAGLIARINI, M.S. VALLE, C, B. A severe case of chromosome stickiness in pollen mother cells of *Brachiaria brizantha* (Hochst) Stapf (Gramineae). **Cytologia**, v. 66, p. 287–291, 2001.

RAGALZI, C. M. MENDES-BONATO, A. B. VALLE, C, B. Microsporogenesis associated with seed yield in *Urochloa* sexual polyploid hybrids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 21, n. 4, e37652148, 2021. DOI: 10.1590/1984-70332021v21n4a57.

SALES, G. L. M. VIDAL ARAUJO, I. J. RAGALZI, C. M. Microsporogênese em híbridos intraespecíficos sexuais de *U. humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga [syn. *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick.]. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 37565, 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n4-293.

SILVA, N.; MENDES-BONATO, A. B.; PAGLIARINI, M. S. Meiotic behavior and pollen viability in *Moringa oleifera* (Moringaceae) cultivated in Southern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, p. 1728–1732, 2011.

SOUZA-MACEDO, V. D. GARCIA, M. Cytogenetic evaluation of chili (*Capsicum* spp.) genotypes: fusos paralelos, perpendiculares e convergentes na metáfase II. **Revista Colombiana de Genética Vegetal**, 2017.

SOUZA, A. M.; PAGLIARINI, M. S. Cytomixis in *Brassica napus* var. *oleifera* and *Brassica campestris* var. *oleifera* (Brassicaceae). **Cytologia**, v. 62, p. 25–29, 1997.