



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

Pedro Henrique Silvestre Duhatschek¹; Maria Fernanda Rodrigues De Tomasi¹; Bruna Sisti Michelin de Polli²; Eduardo Augusto de Melo²; Adriana Gonela³; Andréa Beatriz Diverio Mendes⁴

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 annum* 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.