

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

DETERMINAÇÃO DE ESTÁDIOS MEIÓTICOS EM *ELAEIS OLEIFERA* (KUNTH) CORTÉS.

Marcelo Picanço de Farias^I, Luiz Henrique Galli Vargas^{II}, André Pereira Leão^{III},
Eduardo Fernandes Formighieri^{IV}, Alexandre Alonso Alves^{IV}, Guy de Capdeville^{IV},
Manoel Teixeira Souza Júnior^V

OBJETIVO

Este trabalho objetivou a análise citológica de microsporócitos de flores masculinas de *Elaeis oleifera* (Kunth) Cortés e a identificação dos diferentes estádios meióticos (leptóteno, paquíteno, díade e tétrade) nas regiões apical, central e basal da ráquila e da inflorescência. Desta forma, este trabalho visa auxiliar futuros estudos envolvendo técnicas de hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) e de cultura de micrósporo para obtenção de plantas haplóides.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Microscopia Eletrônica (LME) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN).

O material utilizado pertence ao Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Estação Experimental do Rio Urubu - EMBRAPA/CPAA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Centro de Pesquisas Agroflorestais da Amazônia Ocidental).

A coleta da inflorescência masculina de *Elaeis oleifera* (Kunth) Cortés foi realizada antes da antese. No presente estudo utilizou-se a inflorescência desenvolvida na axila da folha +14. O número atribuído à inflorescência corresponde ao da folha, seguindo uma numeração crescente, a partir da folha bandeira (zero).

As flores masculinas foram removidas da ráquila e fixadas em etanol absoluto: ácido acético (3:1), mantidas por 24 horas à 4 °C e estocas em etanol 70% gelado. As anteras foram removidas da estrutura da flor estaminada e colocadas sobre uma lâmina de vidro para microscopia. Aplicou-se 20µl de ácido acético 60% sobre a lâmina e realizou-se um esmagamento (*spread*) da antera para liberação dos microsporócitos dos sacos polínicos. Posteriormente procedeu-se a coloração com DAPI (4'-6-diamidino-2-fenilindole) utilizado por Capdeville et al., 2009 com modificações. Após montadas, as lâminas foram analisadas e fotodocumentadas em microscópio de fluorescência Axiophot Zeiss.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inflorescência em caiaué tem sua base localizada na axila de cada folha, a partir de onde ela se desenvolve. Em sua composição, encontra-se uma espata com um eixo central denominado ráquis. No caso da inflorescência masculina, a ráquis é formada por 20-200 ráquias, onde se desenvolvem flores estaminadas. (Figura 1a-b) (Cunha et al., 2009). A formação do pólen se dá através de uma meiose seguida de mitose (Figura 1c).

Experimentos preliminares envolvendo diversas fases foliares revelaram que a partir da folha +14 é possível isolar uma maior variedade de estádios meióticos

^I Mestrando, Universidade Federal de Lavras, mpfarias@gmail.com; ^{II} Engº Agrônomo, Bolsista CNPq DTI nível 3 Embrapa Agroenergia; ^{III} MSc., Analista A, Embrapa Agroenergia; ^{IV} DSc, Pesquisador A, Embrapa Agroenergia.

(dados não publicados). Importante ressaltar, ainda, que não foram observadas anomalias meióticas no material estudado.

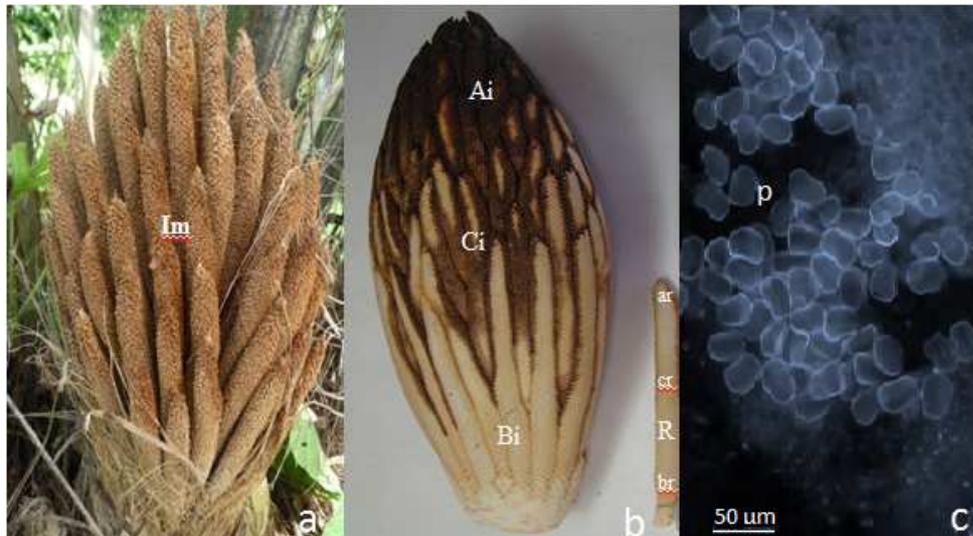


Figura 1. a) Inflorescência masculina de *Eleais oleifera* (caiaué) acesso Coari em antese. Im = inflorescência masculina b) inflorescência masculina jovem (folha +14) acesso Coari. Ai = ápice inflorescência; ar = ápice da ráquila; Bi = base da inflorescência; br = base da ráquila; Ci= centro da inflorescência; cr = centro da ráquila; R= ráquila c) imagem obtida por microscopia de luz evidenciando pólen maduros (folha +18). p = pólen.

A figura 2 ilustra os diferentes estádios meióticos em microsporócitos. O primeiro estágio meiótico da prófase I, denominado leptóteno, pode ser visualizado na Figura 2a. Na figura 2b pode-se observar o estágio de paquíteno (outra subdivisão da prófase I). Nela, os cromossomos se apresentam menos compactados e com braços cromossômicos mais estendidos, quando comparados aos cromossomos em metáfase. Isto permite um elevado grau de resolução espacial, facilitando consideravelmente o mapeamento físico de sequências gênicas de interesse, incluindo clones BAC (*bacterial artificial chromosome*) e YAC (*yeast artificial chromosome*) utilizando a técnica de hibridização fluorescente *in situ* (FISH) (Capdeville et al., 2009).

Na prófase II ocorre a citocinese meiótica do tipo sucessivo, onde o final da meiose I é seguido da formação de uma parede celular entre os dois núcleos originando, assim, a díade (Figura 2c).

Ao final da meiose II, os cromossomos atingem os pólos e cada conjunto de cromátides é rodeado por uma membrana nuclear, caracterizando a telófase II. Após a citocinese formam-se um grupo de 4 células haplóides, as tétrades (Figura 2d). Estas tétrades irão dar origem ao pólen imaturo ou micrósporos, que são utilizados, por exemplo, para cultura de micrósporo visando à produção de plantas haplóides. Um exemplo disso foi o trabalho de Lantus et al., em 2006, no qual os autores utilizaram micrósporos uninucleados para desenvolver plantas haplóides de trigo (*Triticum aestivum* L.).

Pode-se perceber que o desenvolvimento meiótico da flor masculina ocorre de forma acrópeta, ou seja, de baixo para cima. Evidenciou-se, ainda, a diferença de desenvolvimento floral entre as regiões basal, central e apical, tanto da inflorescência, quanto da ráquila.

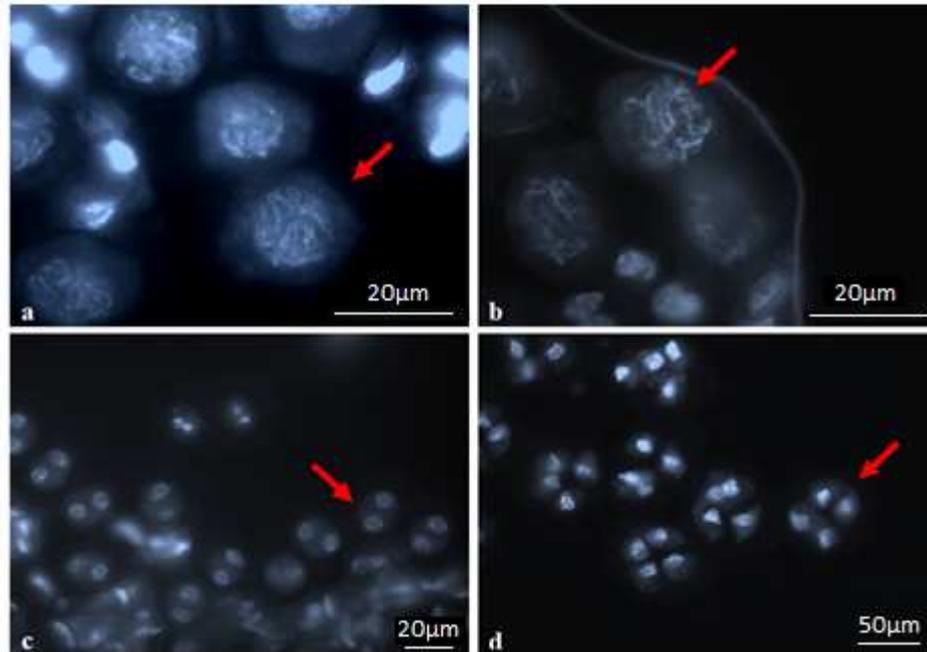


Figura 2: Estádios meióticos de *Elaeis oleifera* acesso Coari folha +14. a) Fase Prófase I – leptóteno no ápice da ráquila localizada no centro da inflorescência. b) Fase Prófase I - paquíteno no centro da ráquila localizada no centro da inflorescência. c) Fase Telófase I – díade no centro da ráquila localizada no centro da inflorescência. d) Telófase II – tétrade na base da ráquila localizada na base da inflorescência.

CONCLUSÃO

Este estudo gerou importantes informações da citogenética básica em inflorescências de *Elaeis oleifera*. Foram identificados e caracterizados diferentes estádios de desenvolvimento meióticos da flor masculina de caiaué, que auxiliará futuros estudos envolvendo técnicas como a de FISH e, também, na cultura de micrósporo.

Concluiu-se que o desenvolvimento meiótico da flor masculina ocorre de forma acrópeta. Além disso, a folha +14 possui todos os estádios meióticos, portanto é nesta fase foliar onde se devem concentrar os estudos de isolamentos: de paquíteno para FISH e micrósporo para cultura *in vitro*.

BIBLIOGRAFIA

Capdeville, G; Souza-Júnior, M.T.; Szinay, D.; Diniz, L.E.C.; Wijnker, E.; Swennen, R.; Kema, G.H.J.; Jong, H.D. 2009. The potential of high-resolution BAC-FISH in Banana breeding. **Euphytica**. 166: 431-443.

Cunha, R.N.V.; Lopes, R.; Rocha, R.N.C.; Lima, W.A.A.; Teixeira, P.C.; Barcelos, E.; Rodrigues, M.R.L. 2009. Domesticação e melhoramento de caiaué. In: Borém, A.; Lopes, M.T.G.; Clement, C.R. (Eds.). **Domesticação e melhoramento: espécies amazônicas**. Cap. 14. Viçosa, MG. P.275-293.

Lantos C. L.; Páricsi, S.; Zofajova, A.; Weyen, J.; Pauk, J. 2006. Isolated microspore culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) with Hungarian cultivars. **Acta Biologica Szegediensis**. 50: 31-35.