SALÃO DO CONHECIMENTO UNIJUÍ 2018
CIÊNCIA PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES
XXVI Seminário de Iniciação Científica
XXIII Jornada de Pesquisa
XIX Jornada de Extensão
VIII Mostra de Iniciação Científica Júnior
VIII Seminário de Inovação e Tecnologia
01 a 04 de outubro de 2018

**Evento:** Bolsistas PET

# ESTUDOS CITOGENÉTICOS PARA ANÁLISE MEIÓTICA E DE VIABILIDADE POLÍNICA: UMA REVISÃO[1]
# CYTOGENETIC STUDIES FOR MEIOTIC ANALYSIS AND POLLEN VIABILITY: A REVIEW

**Liziane Kraemer[2], Juliana Maria Fachinetto[3], Mara Lisiane Tissot-Squalli[4]**

[1] Trabalho desenvolvido no curso de Ciências Biológicas da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – UNIJUÍ, durante a disciplina Metodologia da Pesquisa Biológica.
[2] Acadêmica do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da UNIJUÍ, bolsista PET Biologia/MEC/SESU, lizy_kraemer@hotmail.com
[3] Docente do Departamento de Ciências da Vida - DCVida, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI, Grupo de Pesquisa Biodiversidade e Ambiente - AMBIO, juliana.fachinetto@unijui.edu.br
[4] Docente do Departamento de Ciências da Vida - DCVida, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI, Grupo de Pesquisa Biodiversidade e Ambiente - AMBIO, tutora do Programa de Educação Tutorial - PET Biologia/MEC/SESU, tissot@unijui.edu.br

## INTRODUÇÃO

A citogenética é uma ciência relativamente nova, que passou a existir somente no século passado, quando uma série de trabalhos uniu a citologia e a genética em uma área em comum. Atualmente, a citogenética compreende todo e qualquer estudo relativo ao cromossomo, tanto no que se diz respeito a sua morfologia, organização, função e replicação, quanto a sua variação e evolução (GUERRA, 1988).

Para Pagliarini e Pozzobon (2004), conforme citado por Tolomeotti et al. (2018), estudos citogenéticos que envolvem a determinação do nível de ploidia, avaliação do comportamento meiótico, e a viabilidade do pólen são essenciais para a caracterização da espécie. Assim, a definição do número de cromossomos é a forma mais usada para se obter informações sobre espécies, sendo que o estudo de viabilidade polínica informa o potencial reprodutor masculino e a meiose, a fonte de variabilidade.

O objetivo deste artigo foi o de estudar a literatura existente sobre citogenética vegetal, demonstrando a importância de tais análises e comparando os métodos utilizados.

## METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado a partir de uma revisão de literatura nas bases de dados PubMed, Scielo, Scopus e Web of Science, utilizando as palavras-chave “chromosome number”, “pollen viability” e “meiosis”; seus correspondentes em português, “número cromossômico”, “viabilidade polínica” e “meiose”, e em espanhol “número cromossómico”, “viabilidad polínica” e

meiosis", utilizando o operador booleano "and" para unir as pesquisas. As buscas nas bases citadas foram realizadas em maio de 2018, tendo sido abordados os artigos publicados no período de 2008 até a presente data. Após a leitura de títulos e resumos, os artigos que se encaixaram no tema pré-estabelecido foram selecionados, priorizando-se assuntos como a divisão meiótica, o estudo da viabilidade polínica e a estrutura das células.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos 140 artigos, 103 dos quais não possuíam relevância para o estudo, o restante foi selecionado para a leitura na íntegra e destes, 27 artigos foram usados como base para o desenvolvimento desse trabalho (tabela 1).

**Tabela 1.** Resultado das buscas nos bancos de dados.

| Base de dados | Total de artigos | Não abordam o tema | Lidos na íntegra | Selecionados |
|---|---|---|---|---|
| PubMed | 15 | 9 | 6 | 6 |
| SciELO | 10 | 4 | 6 | 6 |
| Scopus | 57 | 44 | 13 | 7 |
| Web of Science | 58 | 46 | 12 | 8 |
| **Total** | **140** | **103** | **37** | **27** |

Fonte: Dados da pesquisa

Foram utilizados como critério de exclusão: artigos publicados antes de 2008; que estivessem escritos em outro idioma que não os escolhidos; repetidos nas diferentes bases de dados; e/ou que não apresentassem os temas propostos, como os artigos que englobam somente um dos assuntos supracitados e os que abordam marcadores moleculares.

Constatou-se a necessidade de complementar as pesquisas com o auxílio de livros, para os quais não foi estipulado limite de tempo, idioma ou disciplina.

Após a análise das metodologias utilizadas nos diversos artigos, pode-se observar preferências quanto a fixadores e corantes.

O propósito da fixação é preservar uma amostra de material biológico para posterior análise. Segundo Guerra e Souza (2002) esta é uma etapa extremamente crítica para a obtenção de bons

resultados, especialmente na análise meiótica. O fixador mais utilizado nos trabalhos analisados foi o de Carnoy 3:1 (três partes de etanol para uma de ácido acético glacial), metodologia escolhida em 81,48% dos trabalhos. A fixação com Carnoy 6:3:1 (seis partes de etanol, três de clorofórmio e uma de ácido acético glacial) foi a escolhida em duas publicações, representando 7,41%; o etanol, clorofórmio e ácido propiônico 6:3:2 foi utilizado também em dois trabalhos, 7,41% e o etanol e ácido láctico 5:1 foi utilizado em apenas um trabalho, representando 3,7%, conforme apresentado na tabela 2.

**Tabela 2.** Relação da porcentagem dos fixadores utilizados nos trabalhos selecionados.

| Fixadores | Frequência (%) |
|---|---|
| Carnoy 3:1 | 81,48 |
| Carnoy 6:3:1 | 7,41 |
| Etanol, clorofórmio e ácido propiônico 6:3:2 | 7,41 |
| Etanol e ácido láctico 5:1 | 3,70 |

Fonte: Dados da pesquisa

A solução fixadora deve ser preparada imediatamente antes de ser utilizada. O volume do fixador deve ser, de preferência, 10 vezes maior que o volume do material a ser fixado. Em todos os artigos, a fixação dos materiais foi feita em temperatura ambiente por 24h, após esse período, os materiais vegetais foram passados para etanol 70% e refrigerados, variando a temperatura entre 4ºC e -20ºC. Alguns artigos não apresentavam informações sobre as condições de temperatura. O material fixado pode ser imediatamente utilizado para coloração ou estocado para ser usado dias ou anos após.

Os processos de coloração permitem a observação dos componentes, devido ao contraste que produzem ao ligarem-se a eles. A coloração mais utilizada nos artigos abordados nessa revisão, tanto para visualização das fases meióticas quanto para a estimativa da viabilidade polínica, foi o Carmim acético, utilizado por 36,5% dos trabalhos, seguido do Carmim propiônico, 22,7%, sendo que em alguns estudos estes corantes apareceram junto com Lugol ou Azul de anilina. Apesar da coloração com Giemsa não ser muito recomendada, pois cora a exina do pólen, esse método apareceu em um dos trabalhos selecionados (tabela 3).

**Evento:** Bolsistas PET

**Tabela 3**. Relação da porcentagem dos corantes utilizados nos trabalhos.

| Corantes | Frequência (%) |
|---|---|
| Carmim acético | 36,5 |
| Carmim acético + azul de anilina | 9,9 |
| Carmim acético + iodo | 4,2 |
| Carmim propiônico | 22,7 |
| Carmim propiônico + Lugol | 9,9 |
| Carmim glicerina | 4,2 |
| Diacetato de fluoresceína (FDA) | 4,2 |
| Giemsa | 4,2 |
| Orceína acética | 4,2 |

Fonte: Dados da pesquisa

Meiose é caracterizada pela ocorrência de uma série de eventos bioquímicos e mecânicos, o que resulta na formação de quatro micrósporos haploides. Tal sequência proporciona a ocorrência de troca genética e a segregação dos cromossomos (GOLUBOVSKAYA, 1979 apud TOLOMEOTTI, 2018).

A fertilidade de uma espécie, que regra geral é medida via viabilidade polínica, é consequência da formação de gametas normais e balanceados. Uma vez que o comportamento meiótico de uma planta está diretamente relacionado ao seu grau de fertilidade, as alterações observadas durante a divisão celular poderão refletir-se na viabilidade dos grãos de pólen (DEFANI-SCOARIZE et al., 1995 apud MARTINS et al., 2010). A inviabilidade polínica pode ser ocasionada por falhas no comportamento meiótico, sendo que tais falhas acabam resultando em gametas com cromossomos desbalanceados ou anucleados. Há também fatores externos que podem afetar a viabilidade do grão de pólen, como umidade relativa do ar, temperatura, gás carbônico na atmosfera e pressão do oxigênio (PAGLIARINI E POZZOBON, 2006, apud GOULART, 2008).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises citogenéticas podem contribuir com informações sobre a evolução, posição filogenética e taxonômica da espécie, além de auxiliar no entendimento das alterações genéticas envolvidas no processo de adaptação e reprodução, podendo contribuir para o planejamento de

ações de conservação da espécie, caso seja necessário. As metodologias utilizadas não variaram muito, porém o fixador Carnoy 3:1 foi o mais utilizado, assim como o corante Carmim acético, o que indica que tais soluções são mais eficientes no seu propósito, ressaltando que a coleta e preparação do material de forma correta são fundamentais para a obtenção de bons resultados.

Palavras-chave: análise cromossômica, métodos de coloração, solução fixadora.

Key Words: chromosome analysis, coloring methods, fixative solution.

REFERÊNCIAS

GOULART, J.C. **Citogenética e anatomia foliar de acessos e progênies de Brachiaria.** 2008. 71 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

GUERRA. M. **Introdução à citogenética geral.** 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1988. 154 p., il.

GUERRA, Marcelo; SOUZA, Maria José de. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana.** Ribeirão Preto, SP: FUNPEC, 2002. 132 p., il.

MARTINS, K. C. et al. Meiose e viabilidade polínica em acessos de Capsicum annuum e Capsicum baccatum. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 8, p. 1746-1751, ago. 2010.

TOLOMEOTTI, K. R.B.; FELIPPI, M.; DONAZZOLO, J. Cytogenetic characterization of Tropaeolum pentaphyllum Lam. **Crop Breed. Appl. Biotechnol.**, Viçosa, v. 18, n. 1, p. 65-71, mar. 2018.