

## MICROSPOROGÊNESE EM Nicotiana tabacum L.

Cultivar 'Goiano-ESA'

Enezir Tôrres Vaillant \*

### 1. INTRODUÇÃO

Conforme RIBEIRO FILHO (4), a Universidade Rural do Estado de Minas Gerais, em 1956, recebeu do Serviço de Fumo do Estado, entre outras, sementes de fumo conhecido por 'Goiano'. Essas sementes foram plantadas na Universidade, em Viçosa, observando o citado autor que havia a segregação de dois tipos de plantas. Ele passou a estudá-los, e um dos tipos, após atingir a uniformidade através de autofecundação e seleções sucessivas, foi denominado 'Goiano-ESA', e agronomicamente pertence à classe de fumos-de-corda.

---

Recebido para publicação em 16/11/67.

- \* Engenheiro-Agrônomo pela Escola Superior de Agricultura da UREMG, da turma de 1963. Logo após a sua formatura, foi contratado pela ESA, na qualidade de Instrutor. Vinha auxiliando, com dedicação e eficiência, nas aulas do curso de Botânica Geral e Sistemática até o último dia de sua vida, em sete de novembro de 1966.

Seus colegas da seção de Botânica do Instituto de Biologia e Química da Escola Superior de Agricultura da Universidade Rural do Estado de Minas Gerais, Professores Chotaro Shimoya, Carlos J. Gomide, D.<sup>a</sup> Maria Rosária R.V. e Waldomiro Nunes Vidal, resolveram aproveitar os apontamentos esparsos deixados pelo Eng.<sup>o</sup>-Agr.<sup>o</sup> Enezir Tôrres Vaillant para este trabalho, no sentido de prestar uma homenagem à sua memória. Os referidos apontamentos referem-se a alguns tópicos da pesquisa para tese de "Magister Scientiae", não completada.

Neste trabalho, pretende-se descrever o fenômeno da microsporogênese de Nicotiana tabacum L., 'Cultivar' Goiano-ESA'.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo do fenômeno da microsporogênese de Nicotiana tabacum L. (Goiano-ESA) foram utilizadas plantas provenientes de sementes de uma única planta. A semeadura foi feita em 31-12-65 e a transformação em 8-3-66, seguindo-se os tratos culturais comuns da cultura. Os primeiros botões apareceram no início de junho.

A coleta de botões florais foi realizada durante meses de junho a outubro de 1965 e junho a agosto de 1966. A coleta fez-se entre 3 horas da madrugada e 6:30 da tarde, mais frequentemente entre 8:00 e 17:00 horas.

Fêz-se um pré-tratamento com Carnoy modificado, isto é, na proporção 1:1:1, e em seguida o material foi colocado em fixador Nawaschin e, outras vezes, em Bouin-Hollande. Também, algumas vezes foi feita uma seleção por esmiçalhamento com aceto-carmin, pelo método de Belling.

Seguiu-se o método usual de impregnação pela parafina. Os cortes foram feitos com 5 a 10 micrômetros de espessura e corados pela hematoxilina férrica de Heidenhain, segundo JOHANSEN (3).

As microfotografias foram obtidas com o fotomicroscópio Mikroma de Zeiss, com e sem contraste de fase.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação do ciclo da flor tem por objetivo saber o período que vai desde o aparecimento do primórdio floral até à deiscência da antera e ainda mais, particularmente, a idade do botão em que se dá o fenômeno da meiose. Para isto foram marcadas dez inflorescências ou ramificações destas, e durante 12 a 15 dias foram anotadas as modificações que se verificaram em cada botão.

Além das observações no campo, que eram apenas visuais, foram coletados botões de diversos tamanhos para verificação no laboratório, por meio de mensurações e esmiçalhamento das anteras em aceto-carmin, a fim de determinar-se o estágio morfofisiológico do tecido microsporogênico.

co. Este último aspecto foi controlado com muita dificuldade, em consequência das modificações do meio e comportamento diferente dos botões, conforme posição na inflorescência, além do problema da duração da meiose.

Destas observações conclui-se que, nas condições de Viçosa, o ciclo da flor apresenta os seguintes estádios:

- 1.º) De primórdio floral até a estruturação da antera com as células mães dos grãos de pólen, em início da meiose (prófase I), leva cerca de 10 a 12 dias.
- 2.º) O final da meiose, ou seja, quando os botões se apresentam com o tecido microsporogênico em citocinese ou forma de microsporócitos jovens, opera-se aos 14 a 16 dias.
- 3.º) Para atingir a deiscência da antera são necessários de 24 a 30 dias, e ocorre pouco antes ou paralelamente à antese da flor.

### 3. 1. Meiose

Cortando-se botões florais bem jovens, isto é, de 8 a 10 dias de idade, observa-se nas anteras (FIG. 1 e 2) o início da identificação das células mães dos grãos de pólen (FIG. 3 e 4).

A prófase da meiose heterotípica (I) é a mais característica e de mais longa duração que a hemeotípica (II) (FIG. 4 e 13).

**PRÓFASE I** - Ao iniciar a prófase I, as células se identificam, talvez pela sua maior turgescência (FIG. 4) e o núcleo sofre profundas transformações. A figura 5 representa o estágio leptóteno. No estágio zigóteno (FIG. 6), observa-se, às vezes, o fenômeno da sinizese (1), mais ou menos acentuado, no material coletado que sofrera mudança repentina de temperatura baixa, em dia anterior, e coincidira ainda com dias nublados (FIG. 7, 8 e 9). Além de fenômeno de sinizese ocorre e de citomixia, semelhante ao observado por SHIMOYA (5 e 6) em *Alstroemeria* e EFTIUM-HEIM (2) em orquídeas. Os estádios paquíteno (FIG. 10), diplóteno (FIG. 11, 12 e 13) e diacinese são normais.

**METÁFASE I** - As tétrades são de forma arredondada e por causa de seu tamanho seus pormenores não podem ser bem observados. Em virtude destes caracteres, a metáfase vista lateralmente apresenta-se como uma faixa (FIG.



14, 15, 17 e 19).

**ANÁFASE I** - A ascensão das diades cromossômicas se faz mais ou menos regularmente (FIG. 21 e 22), porém, há casos de retardamento, ou alongamento delas (FIG. 18), produzindo o fenômeno conhecido por "ponte". Observou-se ainda anomalias (FIG. 16 e 20) relacionadas com o enfraquecimento ou ausência do fuso, semelhante a c-mitose.

**TELÓFASE I** - Organiza-se o núcleo em estado de repouso ou intercinese (FIG. 23, 24 e 25). Há casos de não se observar uma sincronização perfeita, isto é, entre os dois núcleos formados, um se encontra na fase mais evoluída que o outro.

**PRÓFASE II** - Os núcleos filhos parecem passar da telófase I para a prófase II, em virtude da rapidez com que o fenômeno ocorre. Não foi observada, durante a intercinese, a formação de membrana celular, nem tampouco a formação de nucleólo (FIG. 25 e 26). A marcha do fenômeno é desigual para cada núcleo, semelhante ao da heterotípica, assim pode ser observado um em prófase e outro já em metáfase (FIG. 27 e 28).

**METÁFASE II** - Conforme as figuras 29 e 30.

**ANÁFASE II** - Idem 31 e 32.

**TELÓFASE II** - Forma célula tetranuclear (FIG. 33 e 34) terminando, deste modo, o fenômeno da meiose.

### 3.2. Citocinese

Na célula tetranuclear, há formação de membrana celular para cada núcleo-filho, dando quatro micrósporos iguais (FIG. 35 e 36). Mais tarde a membrana da célula-mãe dos grãos de pólen desaparece, ficando os micrósporos livres (FIG. 37).

### 3.3. Formação do Grão de Pólen

Os micrósporos entraram em curto período de repouso e logo em seguida, tomaram a forma alongada com sulcos, no sentido do maior eixo e com o protoplasma bastante contraído (FIG. 38); nesta altura do desenvolvimento percebe-se a exina e a intina em formação.

Na segunda fase, os micrósporos começam a ficar túr-



gicos e o seu protoplasma começa a ganhar volume, que chega a ocupar todo o seu espaço interior (FIG. 39). Observam-se, também, neste estágio, além de exina e intina, os poros. Ao atingir esta fase, seu núcleo sofre uma mitose, dando o micrósporo com dois núcleos, ou seja, grão de pólen binucleado (FIG. 40 e 44).

Observa-se, pois, um fenômeno curioso, apesar de dois núcleos serem resultantes de uma única mitose, há diferença no tamanho e na cromaticidade (FIG. 41 e 43). Entretanto, os dois núcleos, na fase final, igualam-se, para, em seguida, diferenciarem-se, visto que surge em um dos núcleos uma areóla, que corresponde à porção de citoplasma e membrana celular; portanto, trata-se de uma célula (FIG. 44). Os poros na fase de maturação dos grãos de pólen apresentam um fenômeno curioso, visto que no início os poros são reentrantes (FIG. 41 e 42) e, na fase final são salientes (FIG. 43 e 44). Quando atingem a maturidade tomam uma forma esférica e são constituídos de exina, intina com poros, contendo no seu interior protoplasma com um núcleo e uma célula.

#### 4. SUMÁRIO E CONCLUSÕES

O presente estudo foi realizado em exemplares originados de uma única planta, cultivados nos terrenos da Universidade Rural, em Viçosa, Minas Gerais.

A meiose ocorre entre o 10-12.<sup>o</sup> dia após o início do primórdio floral. São necessários de 24 a 30 dias para se processar a deiscência da antera.

Os fenômenos de senescência e citomixia foram observados no estágio zigóteno, também "ponte", na anáfase I. Não foi observado a formação de membrana celular entre as fases heterotípica e hemeotípica que são relativamente rápidas.

Os micrósporos livres, após pequeno repouso, tornam-se alongados, sulcados, e de protoplasma contraído. Este, em seguida, aumenta de volume ocupando todo o espaço interior do micrósporo, sofrendo logo depois uma mitose, dando dois núcleos.

O grão de pólen apresenta poros reentrantes no início e salientes na maturidade.

## 5. SUMMARY

Meiosis and microsporogenesis in tobacco Nicotiana tabacum L., 'Cultivar Goiano-ESA' were studied.

Plants from seeds obtained from a single plant were used. They were grown in the field, at the Rural University, in Viçosa, Minas Gerais.

Meiosis occurred from the 10th - 12th day to the 14th 16th day after flower primordia initiation. Anther dehiscence took place on the 24th to the 30th day.

Phenomena of synzesis and citomixis were observed in the zygonema stage, as well as «bridge» in the anaphase I. Cell wall was not observed to be laid down during the transition from the heterotypic to homoeotypic division. The homoeotypic division was relatively short.

Free microspores, after a short rest period, became elongated, furrowed and with contracted protoplasm. Next the latter, increased in volume, filling all the inner space of the microspore, when a mitosis occurred, resulted in two nuclei.

The pollen grain showed deep pores in the beginning and protruding ones at the maturity.

## 6. LITERATURA CITADA

1. DANGEARD, P. Cytologie Végétale et Cytologie Générale. Paris. Paul Lecchavalier, 1947. 611 p.
2. EFTIUM-HEIN, P. La mitose héréditaire des Orchidées, Le Botaniste, série 32(2):3-53. 1943.
3. JOHANSEN, D. A. Plant Microtechnique. First Edition. New York, McGraw-Hill Book Company, 1940. 523 p.
4. RIBEIRO F.<sup>o</sup>, J. Contribuição ao estudo de variedades para produção de fumo em corda. Viçosa, Universidade Rural do Estado de Minas Gerais, 1959. 97 p. (Tese de Catedrático).
5. SHIMOYA, C. Note sur la caryologie de quelques espèces du genre Thymus L. de France. Extrait du Recueil des

Travaux des Laboratoires de Botanique, Geologie et Zoologia de la Faculté des Science de Montpellier.  
França. Série Botanique - Fascicule 5: 87-91, 1952.

6. \_\_\_\_\_. Efeitos da baixa temperatura ao tecido microsporogênico. Rev. Ceres, Viçosa, 10(58):224-230. 1958.

### LEGENDA DAS FIGURAS

- FIG. 1 - Corte transversal madiano de botão floral, mostrando da periferia para o centro: cálice, corola, androceu e ginceu. Microfotografia x ca 37.
- FIG. 2 - Idem, parcial, mostrando antera e parte do ovário. Idem x ca 48.
- FIG. 3 - Corte transversal parcial da antera, mostrando no centro o início da diferenciação das células mães dos grãos de pólen. Idem x ca 230.
- FIG. 4 - Idem, mostrando no centro as células mães dos grãos de pólen. Idem x ca 230.
- FIG. 5 - Aspecto das células mães dos grãos de pólen, cujo núcleo se encontra no estágio leptóteno. Idem x ca 355.
- FIG. 6 - Idem no estágio zigóteno. Idem x ca 293.
- FIG. 7 - Idem, mostrando o fenômeno de sinizese. Idem x ca 230.
- FIG. 8 - Idem, mostrando o fenômeno de citomixia. Idem x ca 293.
- FIG. 9 - Idem, idem, mais adiantado. Idem x ca 293.
- FIG. 10 - Aspecto das células mães dos grãos de pólen, cujo núcleo se acha no estágio paquíteno. Idem x ca 293.
- FIG. 11 - Idem no diplóteno. Idem x ca 293.



FIG. 12 - Aspecto geral da figura anterior. Idem x ca 60.

FIG. 13 - Aspecto das células mães dos grãos de pólen cujo núcleo se acha no início do estágio diplóteno. Idem x ca 440.

FIG. 14 e 15 - Aspecto geral das células mães dos grãos de pólen, cujo núcleo se acha no estágio metáfase I. Idem x ca 200 e 230, respectivamente.

FIG. 16 e 17 - Idem de metáfase para anáfase. Idem x ca 230.

FIG. 18 - Idem de anáfase para telófase. Idem x ca 293.

FIG. 19 - Idem metáfase. Idem x ca 700.

FIG. 20 - Idem anáfase normal. Idem x ca 700.

FIG. 21 e 22 - Idem metáfase para anáfase. Idem x ca 230 e 700, respectivamente.

FIG. 23 e 24 - Idem telófase. Idem x ca 440 e 230, respectivamente.

FIG. 25 e 26 - Idem telófase para prófase II. Idem x ca 440.

FIG. 27 e 28 - Idem prófase II para Metáfase II. Idem x ca 230.

FIG. 29 e 30 - Idem metáfase II para anáfase II. Idem x ca 293, 440, respectivamente.

FIG. 31 e 32 - Idem anáfase II para telófase II. Idem x ca 440 e 230, respectivamente.

FIG. 33 e 34 - Idem telófase II. Idem x ca 440 e 293, respectivamente.

FIG. 35 e 36 - Idem, início e final da citocinese. Idem x ca 293.

FIG. 38 - Idem dos grãos de pólen jovens. Idem x ca 293.

FIG. 39 - Idem dos grãos de pólen antes da mitose. Idem x ca 440.

FIG. 40 - Idem após a mitose. Idem x ca 440.

FIG. 41 e 42 - Idem grãos de pólen, na fase de maturação. Idem x ca 293.

FIG. 43 e 44 - Aspecto dos grãos de pólen maduros. Idem x ca 440.



























