

239332

Obtenção de cromossomos metafásicos em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L. induzida por antimitótico impuro

**Creuci Maria Caetano Pereira,
Maria Suely Pagliarini,
Marli Defani Scoarize e
Neide da Silva.**

RESUMO

Uma melhor visualização dos cromossomos, para estudos ou montagem de cariótipos, pode ser obtida com a utilização de antimitóticos, como a colchicina ou a β -nidroxiquinolina. Seu uso, entretanto, torna-se inviável no ensino fundamental devido ao elevado custo. A utilização de um produto alternativo, de menor custo e fácil acesso, é sugerida no presente trabalho.

Creuci Maria Caetano-Pereira, bióloga, pedagoga, mestre em Biologia Celular, linha de pesquisa Citogenética Vegetal, professora de Biologia Específica e coordenadora do curso Técnico em Alimentos do Cefet-PR, Uned- Campo Mourão.

Maria Suely Pagliarini, bióloga, doutora em Melhoramento Vegetal, professora do curso de Mestrado em Biologia Celular da UEM, linha de pesquisa Citogenética Vegetal e professora visitante do curso de Mestrado da Escola de Agronomia da UFGO.

Marli Defani-Scoarize, bióloga, aluna do curso de Mestrado da UEM.

Neide da Silva, técnica do Laboratório de Citogenética Vegetal da UEM.

INTRODUÇÃO

Muitas técnicas experimentais, relativamente simples, tornam-se inviáveis de aplicação aos níveis do ensino fundamental, devido ao elevado custo dos produtos utilizados. Entre estes produtos está uma droga conhecida milenarmente, a colchicina, um potente antimitótico, porque inibe a formação do fuso acromático durante a metáfase, fase do ciclo celular onde a cromatina encontra-se mais condensada (GUERRA, 1988). O processo mitótico assim alterado caracteriza-se pela presença, na célula, de cromossomos com a configuração de X, sendo denominados C-mitosis. Estes cromossomos permitem melhor visualização e estudos de cariótipos. A colchicina pode induzir, ainda, poliploidia em *Allium cepa* L. (BANDEL, 1969). Quando associada a um excipiente, é utilizada no tratamento da gota, sendo encontrada principalmente em farmácias de manipulação.

Considerando a característica antimitótica da colchicina pura, o presente trabalho teve por objetivo analisar o efeito desta droga, sob a forma comercial, em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa*, para verificar se também ocorreria inibição da mitose. Caso os resultados fossem satisfatórios, sugerir-se-ia a substituição da colchicina pura, de custo elevado, por esta colchicina, para pesquisas e experimentos no ensino fundamental, pois, além de seu custo bem menor, tem-se fácil acesso a sua aquisição.

MATERIAIS E MÉTODOS

Cinco cebolas foram colocadas em bquer com água para obtenção de raízes. Estas foram tratadas com colchicina comercial contida em

cápsulas, as quais continham, segundo farmácia de manipulação, 0,5 mg da droga dentro de um peso médio de 250 mg/cápsula. O conteúdo de 200 mg foi diluído em 10, 50 e 100 ml de água destilada e, em cada diluição, as raízes ficaram expostas durante 2,4 e 24 horas. A seguir, as raízes foram hidrolisadas em HCl a 60°C durante 10 minutos e coradas em Schiff por aproximadamente 15 minutos. As células, preparadas pela técnica de esmagamento convencional para mitose, tiveram a coloração reforçada com carmin propiônico a 1%. Foram analisados cinco campos aleatórios em cada lâmina, onde se contou o número de células em C-mitosis. Lâminas de mitose, de raízes não tratadas com colchicina, anteriormente preparadas pela mesma técnicas, foram utilizadas como controle.

RESULTADOS

Ao se tratar raízes de cebola com colchicina utilizada para o tratamento da gota, observou-se uma maior frequência de C-mitosis quando aquelas foram expostas a uma concentração de 1:10 da droga (Tabela 1), entre os 478 campos aleatórios analisados, considerando-se os diferentes tratamentos e os devidos tempos. Outras manifestações de comportamento mitótico anormal, devido à ação da colchicina sobre os microtúbulos que formam o fuso acromático, foram observadas; entre elas 14 células com poliploidia e várias outras com segregação precoce e retardatária de cromossomos. A Figura 1 mostra C-mitosis (b, c e e) e poliploidia (d e f) em células tratadas com colchicina. Mostra, ainda, uma célula em metáfase, não submetida ao tratamento com a droga (a, controle).

TABELA 1 - Número de células meristemáticas de raízes de cebola com cromossomos metafísicos, tratadas com colchicina comercial.

Tempo (hora)	Tratamento			Total de C-mitosis
	1 : 10	1 : 50	1 : 100	
2	14	10	8	32
4	27	8	10	45
24	17	22	4	43
Total	58	40	22	120

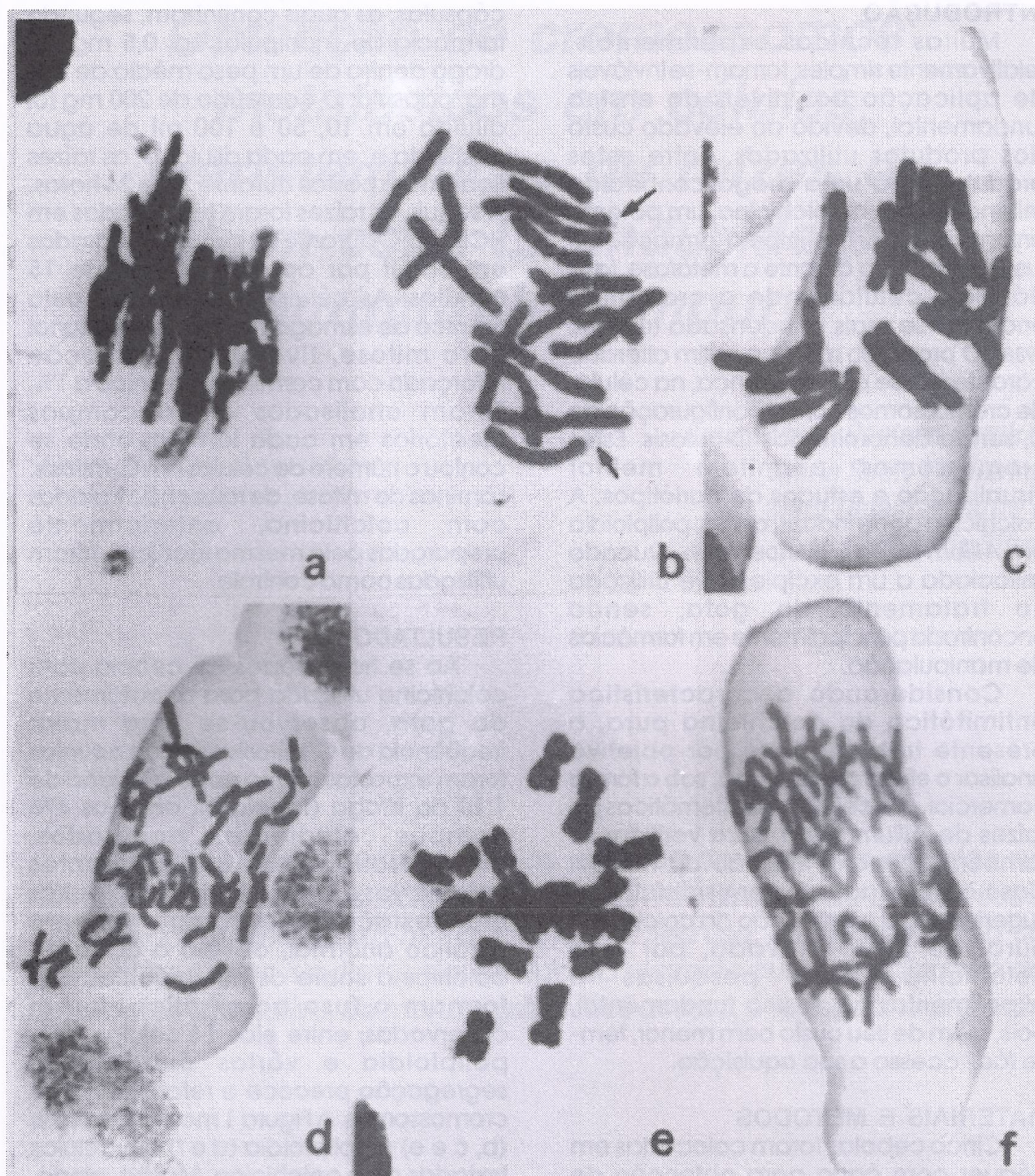


FIGURA 1 - Células meristemáticas de raízes de cebola em mitose. Em a, a figura normal de metáfase. b, c e e mostram células exibindo cromossomos metafásicos ($2n = 16$) com diferentes graus de condensação, resultantes do tratamento com colchicina utilizada para o tratamento contra gota. A droga provocou ainda, em algumas células (d, f), a poliploidia, ou seja, o aumento no número de cromossomos.

DISCUSSÃO

A frequência crescente rom somos metafásicos encontrada nas diferentes diluições (1:100, 1:50 e 1:10) pode ser considerada coerente com a concentração da droga em solução. Diferenças que relacionam o tempo de tratamento e o número de C-mitosis encontrado podem ser explicadas em função da escolha aleatória dos campos analisados. Segundo BANDEL (1969), certos estágios da mitose são mais sensíveis à ação da colchicina do que outros. Esta droga não só afeta a mitose, através da supressão da anáfase e aumen-

to da duração da metáfase, como também reduz a duração do ciclo celular, elevando o índice mitótico (DAVIDSON, 1979).

Outras drogas têm efeitos similares à colchicina sobre mitose em raiz, quanto ao tipo de metafases e anáfases anormais, com cromossomos em X-configuração (C-mitosis) e à indução de células tetraplóides, como a rotenona. Esta última, porém, não afeta o índice mitótico e nem acusa acúmulo de metafases, o que se verifica em tratamento com a colchicina (AMER & MIKHAEL, 1986).

Além de C-mitosis, anormalidades cromossômicas induzidas por esta droga também foram observadas nas células de *A. Cepa* analisadas no presente trabalho. De maneira similar, SINHA (1988) mostrou que o tratamento combinado de diferentes concentrações de colchicina e ethylmethano sulphonate (EMS) leva a irregularidades cromossômicas em *Lindenber*.

Diante da frequência de C-mitosis encontrada sugerimos diluição com concentrações maiores da droga, como 1:5 ou 1:2,5 que, certamente, serão capazes de induzir o aparecimento de um maior número de cromossomos metafásicos. A opção pelo tempo de tratamento pode ser em função da disponibilidade, sendo 4 horas suficientes, conforme demonstrado. Embora possa originar algumas anormalidades cromossômicas, o baixo custo da colchicina utilizada no tratamento da gota,

associada à possibilidade de visualização de fases mitóticas e de cromossomos metafásicos, justifica sua utilização em experiências escolares de nível fundamental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMER, Soheir M.; MIKHAEL, E. Cytological effects of pesticides XVI. Effect of the insecticide rotenone on root-mitosis of *Vicia faba*. *Cytologia* 51:171 - 176, 1986.
- BANDEL, G. Efeitos da colchicina sobre as divisões em células meristemáticas de raízes de cebola. Relatório Científico, Departamento e Instituto de Genética da ESALQ, 21-23, 1969.
- DAVIDSON, D. Colchicine stimulation of interphase cells. Timing the response using 5-aminouracil. *Cytologia* 44:633-638, 1979.
- GUERRA, M. Introdução à citologia geral. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988.
- SINHA, A.R.P. Morphological and cytological changes induced in *Lindenbergia indica* following colchicine and EMS seed treatments. *Genética Polonica* 29:335-339, 1988.