

## COMPARAÇÃO ENTRE DOIS MÉTODOS UTILIZADOS PARA MEDIR CROMOSSOMOS DE *RHOEO SPATHACEA*

MARIA DAS GRAÇAS LIMA DIAS\*\*  
FANUEL PEREIRA DA SILVA\*\*  
JOSÉ FERREIRA ALVES\*\*\*

### INTRODUÇÃO

O estudo dos cromossomos em plantas é muito utilizado em pesquisas básicas, como a Citotaxonomia, e em pesquisas aplicadas, especialmente na agricultura, ajudando a esclarecer casos de esterilidade de híbridos, isolamento reprodutivo e presença, em alguns vegetais, de caracteres associados à produção.

Segundo Stern (11), *Rhoeo spathacea* é uma monocotiledônea da família Commelinacea. Em alguns Estados do Nordeste brasileiro, ela é comumente conhecida como Uru-de-Pobre (Braga 3). O interesse em torno desta planta fundamenta-se nas observações de pesquisadores como Billing (2) e Flagg (4) de que os  $2n = 12$  cromossomos de *Rhoeo* apresentam-se envolvidos em translocações recíprocas. Como consequência deste raro comportamento citológico, seus cromossomos possuem apenas segmentos homólogos terminais (Koller, 7).

Este trabalho tem como objetivos estudar o cariótipo de *R. spathacea* e identificar possíveis diferenças entre seus cromossomos, utilizando dois métodos de medidas.

### MATERIAIS E MÉTODO

A análise dos cromossomos somáticos de *Rhoeo sp* foi realizada em metáfases obtidas de células meristemáticas do ápice de raízes.

A técnica empregada no preparo de lâminas seguiu, em linhas gerais, àquela descrita por Bandel (1). Pré-tratamento em colchicina 0,5%, durante duas horas a 25°C. Fez-se a fixação em ácido acético glacial, clorofórmio e álcool absoluto nas proporções de 1:3:3, por 14 horas e tratamento durante 5 minutos, em partes iguais de álcool etílico e ácido clorídrico. As lâminas foram preparadas por esmagamento em Carmim acético a 1%.

Das preparações citológicas obtidas, pelo uso da técnica descrita acima, 15 metáfases foram selecionadas e, inicialmente, analisadas através de desenhos esquemáticos, em folhas de papel. Das metáfases estudadas, as sete que apresentavam os cromossomos uniformemente corados e de contornos nítidos foram fotografadas.

\* Parte da Dissertação de Mestrado apresentada pelo primeiro autor, ao Departamento de Fitoecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, Brasil.

\*\* Professor Assistente do Centro de Ciências Biológicas da Universidade de Alagoas, Brasil.

\*\*\* Professores do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, Brasil.

Um micrômetro adaptado ao microscópio serviu para medir o comprimento dos cromossomos nas sete metáfases escolhidas (Método 1).

Foi também utilizado para medidas cromossômicas o método citado por Giannoni & Ferrari (5), descrito abaixo (Método 2).

Os negativos das metáfases foram montados em guias positivos. Cada uma das metáfases foi projetada sobre uma folha de papel branca por meio de um projetor Kodak. Os contornos dos cromossomos foram desenhados com lápis de ponta fina. Uma linha passando pelo eixo das cromátides foi percorrida por uma carretilha de passos iguais e que deixa a marca endelével da roda dentada no verso do papel branco quando está apoiado em papel carbono. Após este procedimento, contaram-se os pontos marcados em cada cromossomo. A soma dos pontos forneceu o comprimento total de cada cromossomo. A vantagem desse método é a de permitir que sejam consideradas as curvaturas cromossômicas.

As equações de Levan et alii (8), apresentadas abaixo, foram utilizadas para o cálculo do índice centromérico ( $i$ ) e relação de braços ( $r$ ), onde:  $i = 100s/c$   $r = 1/s$  e  $c = 1 + s$

Os valores encontrados para índice centromérico e relação de braços foram empregados na elaboração do cariótipo e idiograma de *R. spathacea*. Em lugar do comprimento total, que é variável entre células, utilizou-se o comprimento relativo, para a identificação dos cromossomos de *Rhoeo*.

A classificação dos cromossomos, de acordo com a posição do centrômero, foi feita consultando-se a Tabela citada por Levan et alii (8) e utilizando-se a nomenclatura abaixo, citada por Giannoni & Ferrari (5).

- M = metacêntrico
- m = metacêntrico
- sm = submetacêntrico
- st = subteloentrômero
- t = telocêntrico
- T = telocêntrico

Adotou-se por modelo experimental um fatorial  $2 \times 12$ , no delineamento inteiramente casualizado, com 7 repetições. Os tratamentos foram representados por dois métodos de medições de cromossomos combinados, cada um, a 12 diferentes cromossomos.

A avaliação dos resultados constou de análise estatística dos dados, com a comparação de médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de metáfases de *R. spathacea* veio confirmar os estudos de Satterfield & Mertens (10) de que a espécie é portadora de  $2n = 12$  cromossomos.

Medidas cromossômicas obtidas pelo Método -1 permitiram calcular o comprimento absoluto médio dos cromossomos, cujo valor é 8,54u.

No reconhecimento dos cromossomos, elaboração do cariótipo e idiograma foram utilizados o comprimento relativo e a posição do centrômero estabelecidos pelos índices centroméricos e relação de braços. Levan et alii (8) apontaram a localização do centrômero como o mais vantajoso marco para identificação morfológica dos cromossomos.

Os dados do comprimento relativo (em % do lote diploide) dos índices centroméricos e relação de braços, calculados a partir das medidas feitas pelos Métodos 1 e 2, são apresentadas nas Tabelas I e II.

As Tabelas I e II contêm as médias, desvios-padrões e coeficientes de variação.

Diferenças entre coeficientes de variação indicam que há diferentes graus de contração entre os cromossomos das metáfases analisadas. A Tabela III contém a média dos valores encontrados pelos Métodos 1 e 2 para comprimento relativo, relação de braços e índices centroméricos. Uma comparação entre as médias da Tabela III (b e c) com os valores de  $r$  e  $i$  tabelados por Levan et alii

(8) permitiu a classificação dos cromossomos de *Rhoeo* em metacêntricos (m) e submetacêntricos (sm) (Tabela III).

As Figuras 1a, 1b e 1c mostram respectivamente, uma das metáfases analisadas, o cariótipo e o idiograma de *R. spathacea*. No cariótipo e no idiograma, os cromossomos aparecem enumerados de um a doze, obedecendo à ordem do mais metacêntrico ao mais submetacêntrico. As diferenças entre comprimentos relativos e posições dos centrômeros nos doze cromossomos aparecem mais claramente no idiograma do que no cariótipo, isto porque, no cariótipo, os cromossomos apresentam curvaturas que dificultam a comparação.

O teste de Tukey aplicado às médias da Tabela III (coluna b) mostrou que o comprimento do cromossomo 2 diferiu significativamente, ao nível de 5% dos demais. Por outro lado, o comprimento do cromossomo 1 diferiu, pelo mesmo teste, dos cromossomos 6 e 8. A não significância entre o tamanho dos outros cromossomos vem demonstrar que os cromossomos de *Rhoeo* não apresentam grande variação entre seus comprimentos, ocorrendo uma maior variação no tamanho dos cromossomos entre células do que na mesma célula. Segundo Gottschalk (6), as variações no comprimento cromossômico que ocorrem entre células são decorrentes da espiralização cromossômica que tem início na prófase e se completa no final da metáfase.

Apesar das afirmações de pesquisadores como Flagg (4); Lin & Paddock (9) de que nenhum dos cromossomos de *Rhoeo* é estruturalmente semelhante a outro, não foram encontradas diferenças significativas entre todos os 12 cromossomos.

A diferença encontrada entre os métodos utilizados para medir os cromossomos deve ter sido produzida pela sobreposição de cromossomos envolvendo a área do centrômero. Quando se utiliza o método 1 (medidas cromossômicas feitas diretamente na metáfase escolhida com auxílio do microscópio),

TABELA I

Comprimento Relativo, Relação de Braços e Índice Centromérico dos Cromossomos na Metafase Mitótica de *Rhoeo spathacea*. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1979.

Cromossomos	Comprimento Relativo			Índice Centromérico   = 100s/c			Relação de Braços r = 1/5		
	Média	Desvio padrão	Coeficiente de Variação	Média	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação	Média	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação
1	9,19	0,99	10,77	49,71	0,49	0,96	1,02	0,03	2,94
2	10,10	0,98	9,70	48,00	1,15	2,39	1,07	0,03	2,80
3	8,80	0,99	11,25	46,71	0,95	2,03	1,24	0,09	7,26
4	8,42	1,26	14,96	44,57	4,89	10,97	1,14	0,04	3,51
5	8,03	0,78	9,71	42,57	1,51	3,55	1,35	0,08	5,92
6	7,88	1,00	12,69	40,71	1,97	4,84	1,46	0,11	6,67
7	7,80	0,65	8,33	38,43	1,81	4,71	1,65	0,11	6,67
8	7,41	0,53	7,15	36,43	1,81	4,97	1,77	0,12	6,78
9	7,93	0,58	7,31	33,86	2,48	7,32	2,02	0,25	12,38
10	8,04	1,05	13,06	30,57	1,90	6,22	2,27	0,17	7,49
11	8,23	0,43	5,22	29,14	1,68	5,77	2,42	0,19	7,85
12	8,24	1,12	13,59	27,43	1,62	5,90	2,65	0,27	10,19

é possível a observação de objetos superpostos, o que não ocorre quando se utiliza o método 2 (medidas em fotografias de metáfases).

A comparação entre as médias pelo teste de Tukey, permitiu a obtenção dos resultados mostrados na Tabela III (coluna c).

### CONCLUSÕES

O estudo dos cromossomos somáticos de *Rhoeo spathacea* analisados em sete metáfases forneceu os seguintes dados:

- Os cromossomos de células somá-

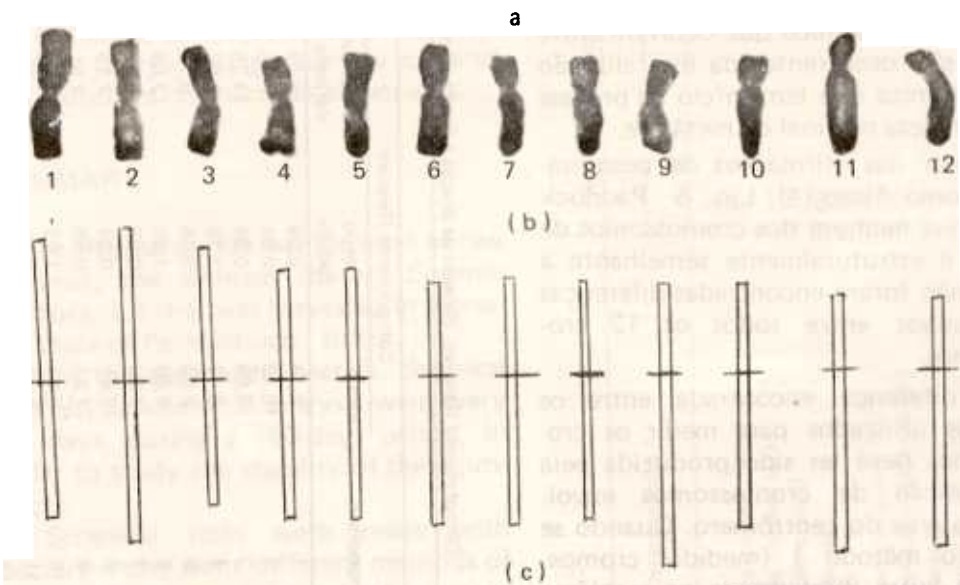
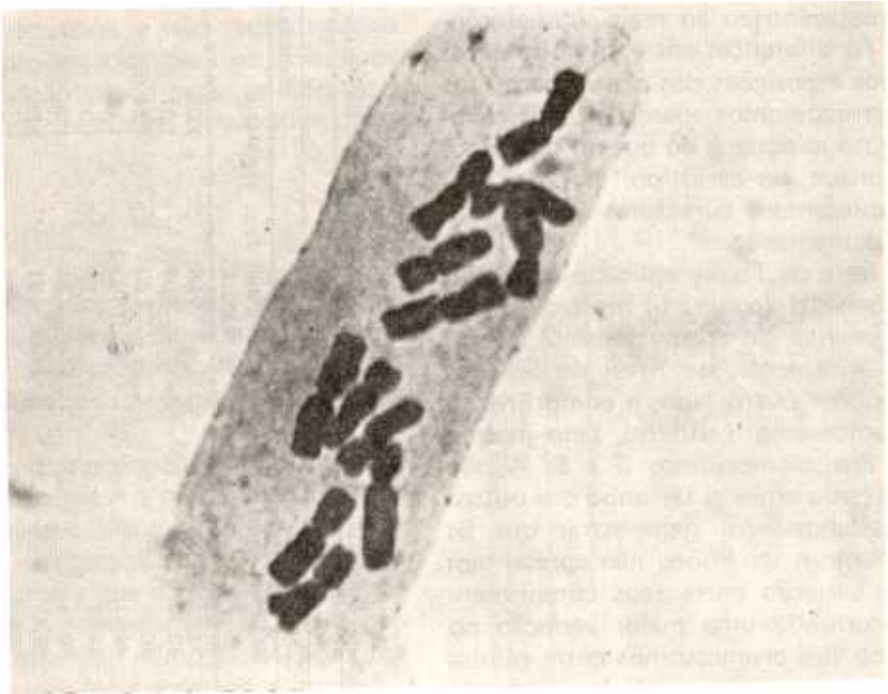


Figura 1 - (a) Metáfase Mitótica Analisada. (b) Cariótipo. (c) Idiograma de *Rhoeo spathacea*. Fortaleza, Ceará, Brasil.

ticas de *Rhoeo* apresentam grande tamanho com valor médio de 8,54 u.

— Os valores para comprimento relativo, índices centroméricos e relação de braços, obtidos por dois métodos, permitiram estabelecer que *Rhoeo* apresenta cromossomos metacêntricos e submetacêntricos.

— O comprimento relativo não variou muito entre os doze cromossomos de *Rhoeo* e as maiores diferenças foram encontradas entre as posições dos centrômeros.

SUMMARY

The somatic chomosomes of *Rhoeo spathacea* were studied in detail employing two diferent methods of measurement. All the 12 (twelve) chomosomes were classified and numbered sequentially based on the length in descending order and position of the centromere. The mean length, arm ratio and centromeric indices were also used to classify the chomosomes. It was found that most of them possessed median to Sub-median centromeres. The statistical analysis indicated that the twelve chomosomes of *Rhoeo spathacea* did not vary very much in length. However, considerable differences were found among the chromosomes for their centromeric positions.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANDEL, G., A técnica do esmagamento para estudo de cromossomos em plantas. *O Solo*, Piracicaba, 62 (2) : 35-9, 1971.  
 BELLING, J., The attachments of chomosomes at the reduction division in flowering plants. *Joun Gen.*, 18 : 177-205, 1927.  
 BRAGA, R., *Plantas do Nordeste*, especialmente do Ceará. 1976. Escola Superior de Agricultura de Mossoró. Volume XLII: 470.  
 FLAGG, R. O., A mutation and an inversion in *Rhoeo discolor*. *J. Hered.*, 49 : 185-8, 1958.

TABELA II

Comprimento Relativo, Relação de Braços e Índice Centroméricos dos Cromossomos na Metafase Mitótica de *Rhoeo spathacea*. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1979

Cromossomos	MÉTODO 1						MÉTODO 2					
	Comprimento Relativo		Índice Centromérico		Relação de Braços		Índice Centromérico		Relação de Braços		Relação de Braços	
	Média	Desvio padrão	Coefficiente de Variação	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação
1	8,87	1,20	13,53	49,28	0,95	1,93	1,03	0,04	3,88	1,03	0,04	3,88
2	10,32	1,19	11,53	47,28	0,95	2,01	1,07	0,03	2,80	1,07	0,03	2,80
3	8,89	1,10	12,37	45,00	2,08	4,62	1,25	0,14	11,20	1,25	0,14	11,20
4	8,15	0,61	7,48	42,28	1,81	4,28	1,36	0,20	14,70	1,36	0,20	14,70
5	7,87	0,64	8,13	40,57	2,15	5,29	1,48	0,16	10,81	1,48	0,16	10,81
6	7,72	0,81	10,49	39,28	1,89	4,81	1,57	0,17	10,83	1,57	0,17	10,83
7	8,35	0,57	6,83	38,71	1,98	5,11	1,59	0,17	10,69	1,59	0,17	10,69
8	7,98	0,58	8,52	36,14	2,27	6,28	1,78	0,16	8,99	1,78	0,16	8,99
9	8,96	0,69	8,56	33,86	1,95	5,76	1,91	0,17	8,90	1,91	0,17	8,90
10	8,33	0,70	8,40	32,00	2,71	8,47	2,12	0,29	13,68	2,12	0,29	13,68
11	8,36	0,71	8,49	29,71	3,49	11,75	2,28	0,37	16,23	2,28	0,37	16,23
12	8,21	1,09	13,28	25,57	4,12	16,11	2,74	0,62	22,63	2,74	0,62	22,63

- GIANNONI, M. A. & FERRARI, I. Estudo Biométrico do cariótipo da Espécie *Tayassu Albirostris* — Illinger, 1915. *Ciência e Cultura*, 28 (4): 432-35, 1976.
- GOTTSCHALK, W. The study of evolutionary problems by means of cytological methods. *Egypt. J. Genet. Cytol.*, 1 : 73-84, 1972.
- KOLLER, P. C., Further studies in *Tradescantia virginiana* var. *humilis* and *Rhoeo discolor*. *Jour. Genetics*, 26 : 81-96, 1932.
- LEVAN, A. et alii, Nomenclature for centromeric position of chomosomes. *Hereditas*, 52 (2) : 201-20, 1964.
- LIN, Y. J. & PADDOCK, E. F., Ring-position and frequency of adjacent distribution of meiotic chomosomes in *Rhoeo spathacea*. *Am. J. Botany*, 60 (7) : 685-90, 1973.
- SATTERFIELD, S. K. & MERTENS, T. R. *Rhoeo spathacea*: A tool for teaching meiosis and mitosis. *J. Hered.*, 63 : 375-8, 1972.
- STEARNS, W. T. The boat — lily (*Rhoeo spathacea*). *Baileya*, 5 : 195-8, 1957.

TABELA III

Média dos Comprimentos Relativos, Relação de Braços e Índices Centroméricos dos Cromossomos na Metáfase Mitótica de *R. spathacea*, obtidos pelos Métodos 1 e 2. Fortaleza, Ceará, Brasil.

Cromossomos (a)	Comprimento relativo (b)	Índice centromérico (c)	Relação de braços (d)	Classificação (e)
	9,03b	49,50a	1,02	metacêntrico
	10,22a	47,64ab	1,07	metacêntrico
3	8,85bc	45,86bc	1,24	metacêntrico
4	8,29bc	43,43cd	1,25	metacêntrico
5	7,95bc	41,57de	1,41	metacêntrico
6	7,79c	40,00ef	1,51	metacêntrico
7	8,08bc	38,57fg	1,62	metacêntrico
8	7,69c	36,29gh	1,77	submetacêntrico
9	7,99bc	33,86hi	1,96	submetacêntrico
10	8,18bc	31,28ij	2,19	submetacêntrico
11	8,29bc	29,43jl	2,35	submetacêntrico
12	8,22bc	26,50l	2,69	submetacêntrico