

## CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE POPULAÇÕES DE CAPIM CAMALOTE EM DUAS REGIÕES DO ESTADO DE SÃO PAULO

SCHIAVETTO, A.R. (UNESP, Jaboticabal/SP, ana.schiavetto@hotmail.com); PERECIN, D. (UNESP, Jaboticabal/SP, perecin@fcav.unesp.br); MELLONI, N. M. G. (UNESP, Jaboticabal/SP, natmell@ig.com.br); AZANIA, C.A.M. (IAC/Cana, Rib. Preto/SP, azania@iac.sp.gov.br); ZERA, F. S. (IAC/Cana, Rib. Preto/SP, fabriciozera@gmail.com)

**RESUMO:** Com a hipótese da existência de variabilidade genética em plantas de capim camalote (*Rottboellia cochinchinensis*), foram coletadas sementes de diferentes regiões de Estados de São Paulo, com o objetivo de caracterizar por meio da citogenética sua existência. As sementes foram colocadas em câmara de germinação (B.O.D.) com fotoperíodo de 32 °C noite e 27 °C dia, tratadas com solução de nistatina 2% com o objetivo de eliminar microorganismos. Periodicamente as sementes eram regadas, até a obtenção de raízes. Para a contagem dos cromossomos foram utilizadas as 10 melhores metáfases de cada uma das espécies e esse procedimento foi auxiliado pelo sistema de imagem Carl Zeiss que permitiu a digitalização das mesmas. Foi encontrado por meio de técnicas de citogenética convencional o número cromossômico diplóide de  $2n = 60$ . O estudo citogenético não mostrou diferenças no número de cromossomos entre as duas regiões de coleta de capim-camalote, onde num complexo poliplóide típico em capins, os diplóides representam apenas uma pequena porção do complexo e são muito ultrapassados pelos mais vigorosos e melhor adaptados poliplóides. O estudo citogenético não mostrou diferenças no número de cromossomos entre as duas regiões de coleta de capim-camalote.

**Palavras Chave:** Acesso, raízes, *Rottboellia cochinchinensis*, *Saccharum spp.*

### INTRODUÇÃO

A citogenética é o estudo por meio da citologia, através das pontas de raízes das plantas. Essa ciência engloba todo e qualquer estudo relacionado com os cromossomos, isolado ou em conjunto, à respeito de sua morfologia, organização, função e replicação, quanto à sua variação e evolução.

É uma das fontes geradoras de questionamentos que impulsionaram a genética molecular, a biotecnologia e a engenharia genética, permanecendo junto às mesmas, como um dos recursos de avaliação em várias pesquisas

dessa natureza (Sacchet, 1999). Método considerado uma ferramenta de suporte indispensável nas etapas de planejamento, coleta e seleção de genótipos, manipulação e monitoramento de qualquer programa de melhoramento genético e conservação do germoplasma.

Informações sobre cromossomos são relevantes em estudos sistemáticos e evolutivos, abrangendo, desde a simples contagem, até detalhes da citogenética molecular que são a fronteira da pesquisa atual (Stace, 2000).

De acordo, com (Kissmann, 1997), a espécie pode ser diplóides, tetraplóides ou hexaplóides, com  $2n = 20, 40$  e  $60$  cromossomos, respectivamente, ou ainda apresentar número irregular de cromossomos ( $2n = 36$ ). Considerando as dificuldades para a delimitação das espécies de *R. cochinchinensis*, devido ao polimorfismo, esse estudo teve como objetivo estudar o número de cromossomos de três populações de capim camalote, amostradas no Estado de São Paulo.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Para a caracterização citogenética das espécies utilizou-se raízes provenientes de sementes coletadas em diferentes regiões do Estado de São Paulo. As sementes foram colocados em câmara de germinação (B.O.D.) com fotoperíodo de  $32\text{ }^{\circ}\text{C}$  noite e  $27\text{ }^{\circ}\text{C}$  dia, tratadas com solução de nistatina 2% com o objetivo de eliminar microorganismos. Periodicamente as sementes eram regadas, até a obtenção de raízes.

Após a coleta, essas raízes foram tratadas com 8-hidroxiquinoleína 0,003M, 3 horas. Em seguida, as raízes foram fixadas separadamente em solução Carnoy (3 metanol : 1 ácido acético glacial) e mantidas em geladeira. O material passou então por três lavagens seguidas em água destilada, com duração de cinco minutos cada, para evitar a permanência do líquido fixador nos mesmos. Posteriormente, as raízes foram transferidas para tubos de ensaio contendo HCl 1N e hidrolisadas em banho-maria à  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 12 minutos. Com o auxílio de um bastão de ferro e ácido acético 45%, os tecidos meristemáticos das raízes passaram por uma maceração sobre lâminas sendo colocada sobre essa, uma lamínula. Esse conjunto foi então aquecido brevemente sofrendo uma leve pressão com o dedo polegar e papel de filtro. Esse processo facilitou a lise celular. Após, o conjunto lâmina e lamínula foi

mergulhado em nitrogênio até a lamínula se desprender da lâmina, sendo em seguida colocadas para secar a temperatura ambiente. Para coloração utilizou-se uma solução corante de Giemsa 2% por cerca de quatro minutos (Guerra e Souza).

A observação das lâminas e lamínulas contendo o material foi realizada em microscópio ZEISS Axioskop, com aumento de 1000x. Para a contagem dos cromossomos foram utilizadas as 10 melhores metáfases de cada uma das espécies e esse procedimento foi auxiliado pelo sistema de imagem Carl Zeiss que permitiu a digitalização das mesmas. As fotomicrografias das metáfases mitóticas foram obtidas com a utilização de câmera digital Axio.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

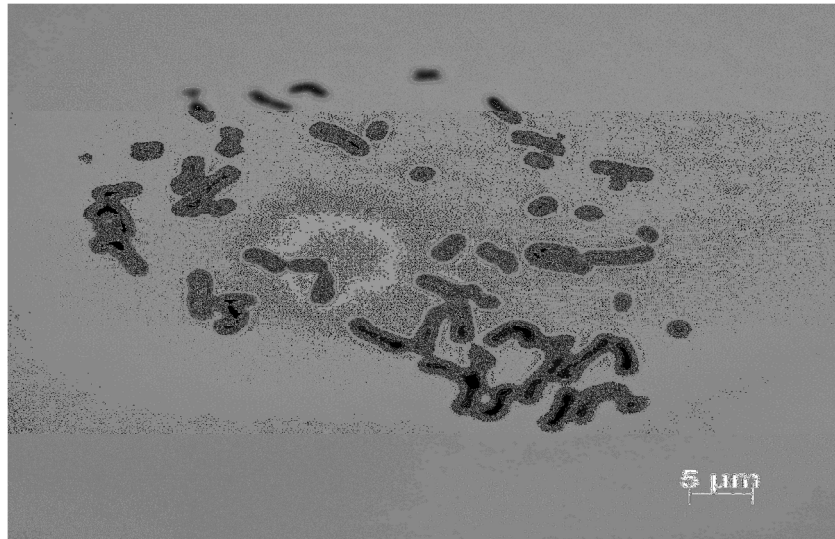
O estudo citogenético não mostrou diferenças no número de cromossomos entre as regiões de coleta de sementes de capim-camalote, como pode ser observado nas Figuras 1a e 1b. No entanto, o gênero *Rottboellia* tem 18 espécies espalhadas em regiões tropicais e subtropicais, diferindo em altura, folha e tamanho da espiguetta, de acordo com (Christopher et al., 1989). Ainda segundo Kissmann (1997), há plantas diplóides, tetraplóides e hexaplóide com  $2n = 20$ ,  $40$  e  $60$  cromossomos, e plantas com um número irregular de cromossomos ( $2n = 36$ ).

O número de cromossomos em cada região foi de 60 (Figuras 1a e 1b). Os cariótipos das populações são simétricos em razão de não haver grande variação de tamanho entre os cromossomos, ou seja, há similaridade morfológica entre os mesmos.

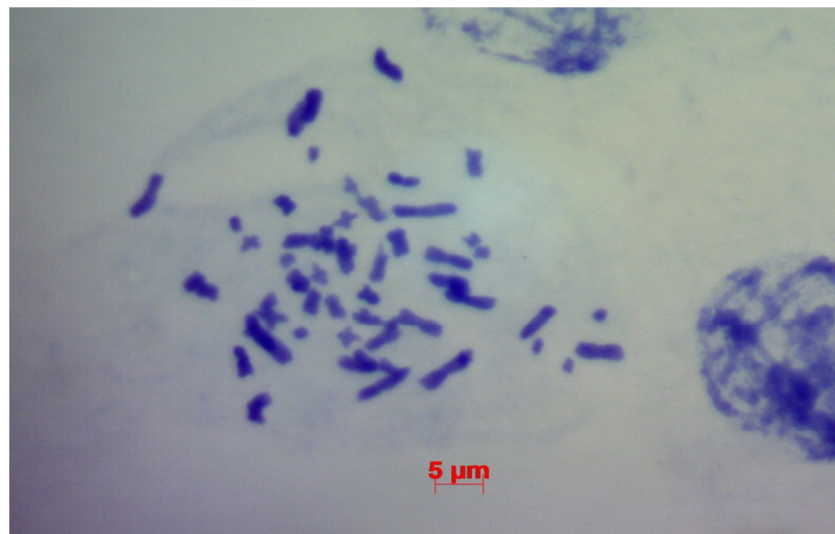
De acordo com Stebbins (1956), o complexo poliplóide é típico em capins, onde os diplóides representam apenas uma pequena porção do complexo e são muito ultrapassados pelos mais vigorosos e melhor adaptados dos poliploides.

### **CONCLUSÃO**

O estudo citogenético não mostrou diferenças no número de cromossomos entre as duas regiões de coleta de capim-camalote.



**Figura 1a.** Metáfase mitótica de *Rottboellia cochinchinensis* – população Igarapava - evidenciando  $2n=60$  cromossomos. Aumento de 1000xb.



**Figura 1b.** Metáfase mitótica de *Rottboellia cochinchinensis* – população Mococa - evidenciando  $2n=60$  cromossomos. Aumento de 1000xb.

## AGRADECIMENTO

Agradecimento: CNPq - Para concessão de Bolsas de Estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CRISTOPHER, J., K. S. KUMARI SASIKALA, AND L. S. MINI. Cyto-taxonomic studies of *Rottboellia exaltata* Linn. complex. **Cytologia**, v.54, p.335–342, 1989.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. Como observar cromossomos: um *guia prático de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana*. Fumpec, p.131, 2002.

KISSMANN, K.G. Plantas infestantes e nocivas. São Paulo, BASF, tomo I, p.825, 1997.

SACCHET, A. M. O. F. Variabilidade genética: ponto de partida para o melhoramento de plantas. UFRGS, p. 99-104, 1999.

STACE, C. A. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20 th and 21 st centuries. Utrecht, v. 49, p. 451-477, 2000.

STEBBINS, G. L. Cytogenetics and the evolution of the grass family. **American Journal of Botany**, v.43, p.890-905, 1956.