

# ACÇÃO DO PARADICLOROBENZENO SÔBRE OS CROMOSSÔMIOS SOMÁTICOS (1)

CÂNDIDA H. T. MENDES CONAGIN

*Engenheiro agrônomo, Secção de Citologia, Instituto Agronômico de Campinas*

## 1 - INTRODUÇÃO

Diversos trabalhos têm sido publicados sôbre processos que facilitam a contagem dos cromossômios somáticos e o estudo de sua morfologia. Entre êles podemos citar o tratamento de meristemas pelo paradichlorobenzeno, usado por Meyer (5) para contar os cromossômios de guaiule (*Parthenium argentatum* A. Gray).

Nas determinações do número somático de cromossômios do gênero *Coffea*, o processo mais utilizado na Secção de Citologia do Instituto Agronômico tem sido o de cortes de meristemas de raízes fixadas em "Craf" e incluídas em parafina, sendo os corantes usados, de preferência, a hematoxilina e o violeta cristal. Apesar de dar muito bons resultados, êste processo tem a desvantagem de ser muito vagaroso. Também têm sido feitos esfregaços, em carmin acético eorceína acética, de pontas de raízes e tecido de anteras; com êste método, muito mais rápido que o primeiro, não se obtiveram resultados satisfatórios com o cafeeiro, pelo fato de os cromossômios ficarem mal coloridos. Em consequência da morosidade do primeiro processo e do insucesso do segundo, sentia-se a necessidade de encontrar um outro método, que permitisse, em menor tempo, obter bons resultados. Com essa finalidade, o processo de Meyer, acima referido, foi experimentado para café e, depois, para outras plantas.

O paradichlorobenzeno, como diversas outras substâncias (1, 2, 3, 7,), produz, nos cromossômios, efeitos do tipo "e-mitótico" (1, 6). Tendo o paradichlorobenzeno a propriedade de contrair os cromossômios, resolvemos utilizá-lo como pré-tratamento de raízes de café, e, posteriormente, de outras plantas, do mesmo modo que Meyer (5) o aplicou a raízes de guaiule. Os resultados das observações feitas são apresentados neste trabalho.

## 2 - MATERIAL E MÉTODO

O método foi aplicado às espécies: *Coffea arabica* L., *Allium cepa* L., *Arachis prostrata* Bentham e *Aloë* sp. A planta de *Aloë* utilizada neste trabalho é, provavelmente, um híbrido entre *Aloë saponaria* Haw. e *A. macracantha* Baker (4).

---

(1) Trabalho apresentado à II Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada, em Curitiba (Paraná), de 5 a 12 de novembro de 1950.

As raízes foram, em primeiro lugar, tratadas durante uma a quatro horas, por uma solução saturada de paradichlorobenzeno. Em seguida, foram fixadas no fixador de Carnoy (três partes de álcool absoluto e uma parte de ácido acético glacial) durante um tempo mínimo de 12 horas. Este tempo pode-se prolongar por alguns dias, se os recipientes forem conservados em refrigerador.

Seguiram-se os seguintes passos: a) hidrólise no HCl a 10%, a 60°C durante dois minutos; b) lavagens em água destilada, com o fim de paralisar a hidrólise; c) lavagens em ácido acético a 45% durante alguns minutos; d) esfregaços emorceína acética.

As lâminas, assim preparadas, foram seladas e examinadas dois ou três dias mais tarde, porque a coloração melhora nesse espaço de tempo. Para serem tornadas permanentes, as lâminas passaram consecutivamente pelas seguintes fases: a) álcool absoluto e ácido acético em partes iguais; b) álcool absoluto; c) montagem em Euparal. As micro fotografias foram tiradas com máquina Contax. Os desenhos foram feitos à câmara clara.

### 3 - OBSERVAÇÕES

As observações do material tratado se limitaram à verificação do número dos cromossômios somáticos e ao estudo da sua morfologia.

#### 3.1 - NÚMERO DE CROMOSSÔMIOS

A verificação do número de cromossômios somáticos nem sempre é fácil, quando as plantas os têm muito numerosos ou muito longos. O paradichlorobenzeno, determinando a contração dos cromossômios, permite que, num grande número de placas metafásicas, eles se disponham uns ao lado dos outros, sem se sobreporem.

Com este tratamento, foram obtidas ótimas metáfases em raízes de *Coffea arabica* ( $2n=44$ ), de *Allium cepa* ( $2n=16$ ) e de *Aloë* sp. ( $2n=14$ ). Sobre as raízes de uma espécie selvagem de amendoim (*Arachis prostrata*) ( $2n=20$ ), o paradichlorobenzeno não atuou. Talvez algumas alterações no tempo da hidrólise produzam resultado.

A figura 1-A mostra uma placa metafásica de raiz tratada de café. Pode-se notar que é bem diferente o aspecto da placa no seu conjunto, e dos cromossômios individualmente, quando se compara com o material não tratado (fig. 1-B): os cromossômios se apresentam mais curtos, mais arredondados e mais nitidamente delimitados, sendo, por essas razões, mais facilmente contados. Este fato foi observado tanto em esfregaços de raízes, coloridos pelaorceína acética, como em cortes incluídos em parafina e coloridos pela hematoxilina. Nas raízes de cafeeiro, normalmente se observam variações no comprimento dos cromossômios das diversas placas metafásicas. Entretanto, as diferenças devidas ao tratamento são bem maiores do que essas variações.

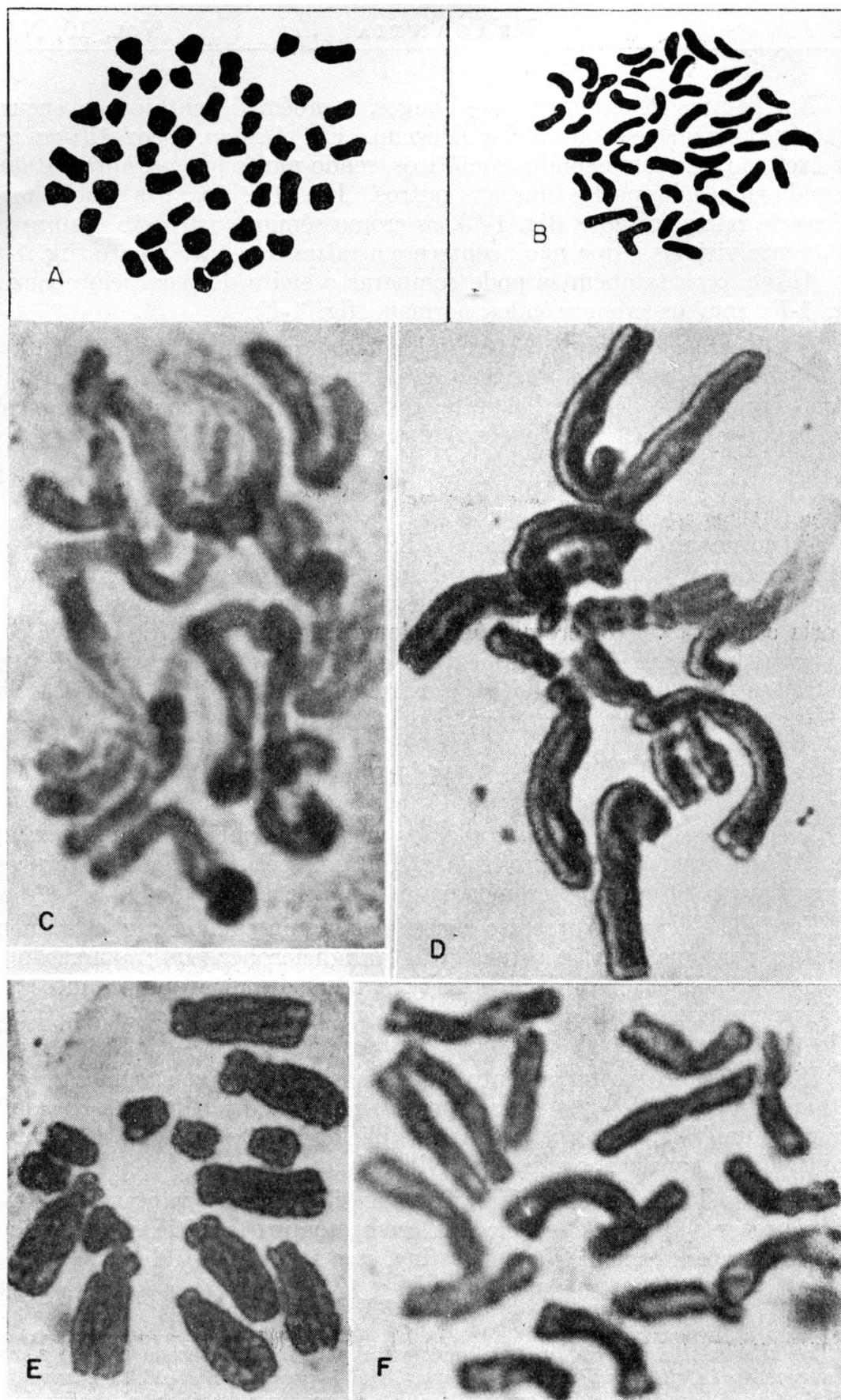


FIGURA 1.—Cromossômios em metáfase somática de raízes tratadas e não tratadas pelo paradiclorobenzeno. *A* — *Coffea arabica*, raiz tratada (1600x); *B* — *Coffea arabica*, raiz não tratada (1600x); *C* — *Allium cepa*, raiz não tratada (2430x); *D* — *Aloë* sp., raiz não tratada (1755x); *E* — *Aloë* sp., raiz tratada 1755x); *F* — *Allium cepa*, raiz tratada (2430x).

Em plantas de cromossômios longos, também é vantajoso o encurtamento produzido pelo paradichlorobenzeno. Em *Aloë* sp. e em *Allium cepa*, por exemplo, os cromossômios somáticos, sendo muito longos, apresentam-se normalmente sobrepostos uns aos outros. Em *Aloë* sp., nas placas metafásicas de raízes tratadas (fig. 1-C), os cromossômios curtos são sempre perfeitamente visíveis, o que não acontece em raízes sem tratamento (fig. 1-D). Em *Allium cepa* também se pode comparar o efeito do paradichlorobenzeno (fig. 1-F) com os cromossômios normais (fig. 1-E).

No decorrer das observações, foi notada que numa mesma ponta de raiz o efeito do paradichlorobenzeno não é uniforme: há células em que os cromossômios se contraem bastante, outras em que se contraem pouco, e encontram-se muitas onde o efeito é nulo.

### 3.2 - MORFOLOGIA DOS CROMOSSÔMIOS

O tratamento de raízes pelo paradichlorobenzeno põe em evidência, nas células metafásicas, alguns detalhes da morfologia dos cromossômios longos; nos cromossômios curtos, êsses detalhes não são visíveis, em virtude da sua própria contração. Nos cromossômios longos de *Aloë* sp. e de *Allium cepa*, nota-se nitidamente a sua duplicidade em metáfase e a posição das suas constrições (fig. 1-C e fig. 1-F). A existência e a localização dos satélites de *Aloë* sp. ficam também em evidência.

### SUMÁRIO

Neste trabalho são apresentados os resultados obtidos com *Coffea arabica*, *Allium cepa*, *Arachis prostrata* e *Aloë* sp., pela aplicação do processo Meyer para o estudo dos cromossômios somáticos.

Em linhas gerais, o processo consta das seguintes fases: a) tratamento de raízes por uma solução saturada de paradichlorobenzeno; b) fixação em Carnoy; c) hidrólise em HCl a 10%, a 60°C durante dois minutos; d) lavagens em água destilada; e) lavagens em ácido acético a 45%; f) coloração dos esfregaços pelaorceína acética.

Em virtude dêsse tratamento, os cromossômios se contraem e se apresentam bem separados nas placas metafásicas, sendo facilitada a sua determinação numérica. As constrições, a duplicidade e os satélites nos cromossômios, ficam também postos em evidência.

Trata-se de um processo que pode substituir, com a vantagem da rapidez, o processo lento, de exame dos cromossômios somáticos por meio de cortes de material incluído em parafina, nas espécies estudadas.

### SUMMARY

The effects of a prefixation treatment with paradichlorobenzene on the somatic chromosomes of *Coffea arabica*, *Allium cepa*, *Arachis prostrata* and *Aloë* sp. have been studied. The following schedule was followed for treating root tips: a) prefixation in a solution of paradichlorobenzene; b) fixation in Carnoy; c) hydrolysis in 10 per cent HCl for two minutes at 60°C; d) washing in distilled water; e) washing in 45 per cent acetic acid; f) smearing and staining in aceto-orcein.

Good smears were obtained with root tips of *Coffea arabica*, *Allium cepa* and *Aloë* sp. The chromosomes of *Coffea arabica* were well scattered in the cells. The long chromosomes of *Allium cepa* and *Aloë* sp. were also well separated from each other. No difference in the chromosomes was noticed in smears made from paradichlorobenzene treated and untreated root tips of *Arachis prostrata*.

This technique can substitute the paraffin method to advantage for counting chromosome number in root tip cells of the above mentioned species.

#### LITERATURA CITADA

1. **Levan, A.** The effect of colchicine on root mitosis in *Allium*. *Hereditas* **24** : 471-486. 1938.
2. **Levan, A.** The influence on chromosomes and mitosis of chemicals, as studied by *Allium* test. Proc. Eighth Int. Con. Gen. *Hereditas* suppl. vol. : 325-337. 1949.
3. **Levan, A. and G. Östergren.** The mechanism of c-mitotic action. Observations on the naphthalene series. *Hereditas* **29** : 381-443. 1943.
4. **Mendes, C. H. T.** Observações citológicas em *Aloë* sp. *Bragantia* **10** : 37-48. 1950.
5. **Meyer, J. R.** Prefixing with paradichlorobenzene to facilitate chromosome study. *St. Techn.* **20** : 121-125. 1945.
6. **Östergren, G.** Colchicine mitosis, chromosome contraction, narcosis and protein chain folding. *Hereditas* **30** : 429-467. 1944.
7. **Tjio, J. H. and A. Levan.** The use of oxyquinoline in chromosome analysis. *Ann. Est. Exp. Aula Dei* **2** : 21-62. 1950.