

EFEITO DA TEMPERATURA NO COMPORTAMENTO MEIÓTICO DE  
spathacêa (SWARTZ) STEARN (1788).

Rhoeo

POR

MARIA DAS GRAÇAS LIMA DIAS

Dissertação apresentada ao  
Departamento de Fitotecnia  
do Centro de Ciências Agrá  
rias da Universidade Fede  
ral do Ceará, como parte  
dos requisitos para a ob  
tenção do Grau de " Mestre  
em Fitotecnia".

Fortaleza - Ceará

1980

DECLARAÇÃO DO AUTOR

Esta dissertação faz parte dos requisitos exigidos pelo Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, para a Obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia.

Reprodução parcial permitida exclusivamente com referência da fonte e autor.

---

MARIA DAS GRAÇAS LIMA DIAS

APROVADA EM 16/10/80

---

Prof. FANUEL PEREIRA DA SILVA, Ph.D.  
- Orientador -

---

Prof. JOSÉ FERREIRA ALVES, M.S.

---

Prof. ANTÔNIO VALDINAR DE CARVALHO CUSTÓDIO, M.S.

Aos meus pais Adávio e Elonira,  
ao meu marido Silvio e aos meus  
filhos Adriano, Silvio e Lucia  
no.

## AGRADECIMENTOS

Ao professor Fanuel Pereira da Silva, pela orientação no planejamento, investigação, análises, correção dos originais e pelo fornecimento de material bibliográfico pertinente a esta dissertação.

Aos professores José Ferreira Alves e Antônio Valdinar de Carvalho Custódio pela orientação, revisão do manuscrito e sugestões apresentadas.

Aos docentes do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, pelos ensinamentos recebidos.

Ao professor Hêlvio José de Farias Auto, Chefe do Departamento de Biologia da UFAL, pelo apoio e carinho que sempre nos dispensou.

Ao professor José Marcio Malta Lessa, Diretor do Centro de Ciências Biológicas da UFAL, pela amizade e incentivo.

Ao então Reitor da Universidade Federal de Alagoas, professor Manoel Ramalho de Azevedo, pelo apoio em nosso afastamento.

Enfim a todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	ix
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO DE LITERATURA.....	3
Classificação.....	3
Hibridação Estrutural.....	4
Comportamento Citológico das Inversões.....	12
Efeitos da Temperatura na Divisão Celular..	14
MATERIAL E MÉTODOS.....	17
Estudo da Meiose em <u>Rhoeo spathacea</u> à Tempe- ratura Ambiente.....	17
Estudo da Meiose em <u>Rhoeo spathacea</u> à tempe- ratura de 10°C.....	19
Estudo dos Cromossomos Somáticos de <u>Rhoeo</u> ' <u>spathacea</u> em Células Meristemáticas da Ra- iz.....	19
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
Comportamento Meiótico de <u>Rhoeo spathacea</u> à Temperatura Ambiente (30°C).....	25
Comportamento Meiótico de <u>Rhoeo spathacea</u> ' à Temperatura de (10°).....	45

	Página
Características Metáfasicas dos Cromosomas Somáticos de <u>Rhoeo spathacea</u> .....	55
RESUMO E CONCLUSÕES .....	68
LITERATURA CITADA.....	71

LISTA DE TABELAS

TABELA	PÁGINA
1. Valores para Relação de Braços (r) e Índice Centromérico (i) Calculados para a presente Nomenclatura' (LEVAN <u>et al.</u> , 1964). .....	23
2. Frequência de Configurações Cromossômicas Obtidas' em 337 Diacineses e Metáfases I de <u>Rhoeo spathacea</u> Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	26
3. Frequência de Segregações Cromossômicas Obtidas em 188 Anáfases I de <u>Rhoeo spathacea</u> , Fortaleza Ceará, Brasil. 1979.....	32
4. Frequência, Viabilidade e Número de Cromossomos Obtidos da Análise de 8428 Grãos de Pólen de <u>Rhoeo spathacea</u> . Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	39
5. Sumário Relativo aos Dados de Frequência Obtidos no Estudo de Anéis e Cadeias em Diacinese e Metáfase I de <u>Rhoeo spathacea</u> . Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	42
6. Sumário Relativo aos Dados de Frequência Obtidos no Estudo da Segregação Cromossômica na Anáfase I de <u>Rhoeo spathacea</u> . Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.	43

TABELA	PÁGINA
7. Sumário Relativo aos Dados de Frequência Obtidos no Estudo de Viabilidade e Número de Cromossomos em Grãos de Pólen de <u>Rhoeo spathacea</u> . Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	44
8. Frequências de Configurações Cromossômicas Obtidas em 126 Diacineses e Metáfases I de <u>Rhoeo spathacea</u> , Quando Submetidas à Temperatura de 10°C. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	46
9. Sumário Relativo aos Dados de Frequência Obtidos no Estudo de Anéis e Cadeias em Diacineses e Metáfases I de <u>Rhoeo spathacea</u> , Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	49
10. Frequências de Segregações Cromossômicas Obtidas nos Estudos de Anáfases I de <u>Rhoeo spathacea</u> . Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	50
11. Sumário Relativo aos Dados de Frequência Obtidos nos Estudos de Anáfases I de <u>Rhoeo spathacea</u> . Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	52
12. Comparação entre os Dados Obtidos para Viabilidade e Número de Cromossomos de Grãos de Pólen de <u>Rhoeo spathacea</u> , Crescendo em Temperatura Ambiente e a 10°C. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	54



TABELA	PÁGINA
13. Comprimento Relativo, Relação de Braços e Índice Centroméricos dos Cromossomos na Metáfase Mitótica de <u>Rhoeo spathacea</u> . Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	59
14. Comprimento Relativo, Relação de Braços e Índice Centroméricos dos Cromossomos na Metáfase Mitótica de <u>Rhoeo spathacea</u> . Fortaleza, Ceará, Brasil . 1979.....	60
15. Média dos Comprimentos Relativos, Relação de Braços e Índices Centroméricos dos Cromossomos na Metáfase Mitótica de <u>Rhoeo spathacea</u> , Obtidos pelos Métodos 1 e 2. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.	61
16. Análise de Variância da Relação Comprimento Relativo x Métodos Utilizados para Medir os Cromossomos de <u>Rhoeo spathacea</u> . Fortaleza, Ceará, Brasil . 1979.....	64
17. Análise de Variância da Relação Posição do Centrómero x Métodos Utilizados para Medir os Cromossomos de <u>Rhoeo spathacea</u> . Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	66

LISTA DE FIGURAS

FIGURA

PÁGINA

1. Diagrama do pareamento entre finais Homólogos dos cromossomos de Rhoeo spathacea para produzir um Anel de 12 Cromossomos na Diacinese e Metáfase-I, COLEMAN (1941). Fortaleza, Ceará, Brasil, 1979..... 8
2. (a) Anel em Diacinese, (b) Anel em Ziguezague na Metáfase I, (c) Cadeia de 12 Cromossomos, (d) Cadeia de 12 Cromossomos, Fortaleza, Ceará, Brasil, 1979..... 27
3. (a) Duas Cadeias, (b) Três Cadeias, Fortaleza Ceará, Brasil, 1979..... 28
4. Representação Esquemática de; (a) Cinco Cadeias 1+1+2+3+5, (b) Cadeia de 12 Cromossomos, (c) Cadeia de 12 Cromossomos, (d) Anel de 12 Cromossomos, (e) Duas Cadeias 6+6, (f) Duas Cadeias 4+8, Fortaleza, Ceará, Brasil, 1979., 30
5. (a) Segregação Regular 6:6, (b) Segregação Irregular 5:7, (c) Segregação com Cromossomo Atrasado 5:1:6, (d) Segregação com Cromossomo Atrasado 7:1:4, Fortaleza, Ceará Brasil, 1979, 34

FIGURA	PÁGINA
6. (a) Telófase I Regular Apresentando Núcleos de Tamanhos Iguais. (b) Telófase I Irregular Apresentando Micronúcleo. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1979.....	36
7. (a) Pontes na Anáfase II. (b) Pontes na Telófase II. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	37
8. (a) Pólen Viável e Inviável. (b) Pólen com 6 Cromossomos. (c) Pólen com 7 Cromossomos. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	40
9. Representação Esquemática de: (a) Anel de Cromossomos + uma Cadeia de 3 Cromossomos (c e d) Cinco Cadeias. (b e e) Seis Cadeias. (f) 10 Univalentes + Uma Cadeia de 2 Cromossomos. (g) Ponte de Inversão na Anáfase I. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	47
10. Comparação entre Cromossomos Meióticos (a) e Cromossomos Mitóticos (b) de <u>Rhoeo spathacea</u> . Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	58
11. (a) Metáfase Mitótica Analisada. (b) Cariótipo. (c) Idiograma de <u>Rhoeo spathacea</u> . Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.....	63

## INTRODUÇÃO

As pesquisas na área citológica constituem importante apoio ao melhorista em busca de respostas para dados genéticos. O estudo dos cromossomos de plantas e animais tem sido bastante 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 a presença em certos vegetais de caracteres associados à produção.

Neste trabalho os cromossomos de Rhoeo spathacea foram analisados citologicamente durante as divisões celulares, mitose e meiose. Embora a planta estudada não seja um vegetal de importância agrônômica, e sim uma planta ornamental, as técnicas utilizadas no seu estudo podem também ser estendidas às culturas de valor econômico. Características como o grande tamanho e o pequeno número de seus cromossomos tornam esta planta excelente material para análises citológicas. Além disto, a presença de translocações recíprocas entre seus doze cromossomos transformam R. spathacea em híbrido estrutural mantido por um sistema de letais balanceados em equilíbrio, que pode ser facilmente alterado por fatores ambientais, especialmente por choques de temperatura. Choques de temperatura têm sido apontados como responsáveis pelo aparecimento de irregularidades meióticas e pelo consequente aumento do número de pólenes estéreis e diminuição da fertilidade da planta. Os choques de temperatura que causam al

terações na meiose podem fornecer explicações para a diminuição da fertilidade de alguns cultivares submetidos a mudanças bruscas no clima. Enfermidades presentes em cultivares de trigo do Rio Grande do Sul foram apontadas por pesquisadores como BODANESE - ZANETTINI et al. (1979) como resultantes de problemas na meiose provocados por flutuações de temperatura na época da floração. Evidências como estas levaram a formulação dos objetivos deste trabalho: (a) estudar citologicamente as aberrações cromossômicas presentes em R. spathacea; suas consequências citológicas e genéticas, e uma possível influência dos choques de temperatura no comportamento dessas aberrações na divisão meiótica, e (b) identificar, através da análise do cariótipo, as possíveis diferenças entre os cromossomos somáticos da espécie.

## REVISÃO DE LITERATURA

### Classificação

Segundo STEARN (1957), Rhoeo spathacea pertence à classe das monocotiledôneas, família Commelinaceae. De acordo com o autor, a primeira referência à espécie foi feita por SWARTZ (1788), que estudou a flora da Jamaica, classificando-a como Tradescantia spathacea.

Rhoeo spathacea apresenta a seguinte sinonímia: "Tradescantia spathacea. SWARTZ (junho ou julho de 1788); Tradescantia discolor. L'HERITIER (dezembro 1788 ou janeiro de 1789; Ephemerum discolor. L'HERITIER (1802); Rhoeo discolor. (L'HERITIER) HANCE (1853).

Obedecendo à prioridade de publicação, o nome correto da espécie é Rhoeo spathacea e não R. discolor como é mais conhecida na literatura.

STEARNS (1957), reconhece as seguintes variedades dentro da espécie de R. spathacea.

1 - Tradescantia discolor var. concolor, encontrada na América Central. Pode apresentar folhas verdes em ambas as faces. Para fins hortícolas é conhecida como cv. 'Concolor'. Foi descrita por BAKER (1868), citado por STEARN (1957).

2 - Tradescantia discolor var. variegata. Tam**é**m conhecida como cv. 'Variegata', apresenta folhas púrpuras na face inferior e verde-escuras com linhas longitudinais amareladas na face superior. Foi descrita e ilustrada por HOORKER (1858), citado por STEARN (1957).

Segundo STEARN (1957), a forma típica de R. spathacea é a de um arbusto de porte ereto, com folhas semelhantes a espadas, de largura que varia de 4,5 a 5,0cm, verde-escuras na face superior, e usualmente púrpuras na face inferior. Próximo à base das folhas, abrigam-se, lateralmente, inflorescências de longas e fortes brácteas que lembram barcos. As flores individuais são pequenas e de vida curta, possuem pétalas brancas, iguais e livres em sua base, seis estames mais ou menos iguais e todos férteis, O ovário apresenta um óvulo por loco. Essas características são próprias da família Commelinaceae.

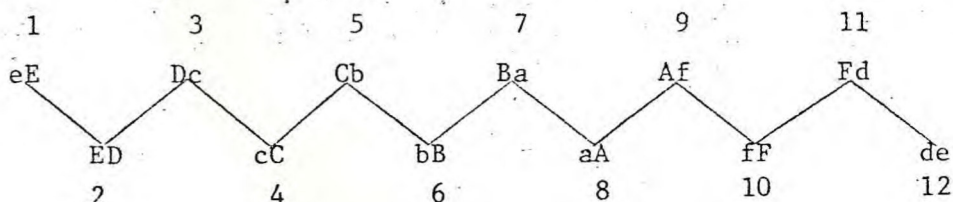
#### Hibridação Estrutural

A união dos doze cromossomos de Rhoeo discolor em anéis e cadeias foi primeiramente registrada por BELLING (1927). O autor sugeriu que fenômeno semelhante, presente em espécies de Oenothera, era causado por trocas recíprocas de segmentos entre cromossomos não homólogos (translocações). A presença de anéis foi também identificada em Datura por BLASKESLEE & CLELAND (1930), citados

por SAX (1931). Em Zea, BURNHAM (1930) encontrou anéis de quatro cromossomos. Um deles foi estudado detalhadamente por MCCLINTOCK (1930), que associou a presença de anéis a um caso de semi-esterilidade em milho.

SAX (1931), com base na teoria da troca de segmentos, explicou a origem do anel de quatro cromossomos. Segundo o autor se os cromossomos originais fossem Aa e Bb os cromossomos intertrocados seriam Ab e aB. Após a troca, o final esquerdo de Aa estaria unido ao final direito de Bb, produzindo Ab e aB e seria composto do final direito de Aa e do final esquerdo de Bb. Anéis completos, envolvendo todos os cromossomos de espécie, foram descritos por DARLINGTON (1931) em Oenothera, e em Rhoeo discolor por SAX (1931).

Os anéis e cadeias formados em diacinese dirigem-se na metáfase-I ao equador da célula, distribuindo-se de maneira alternada, conforme ilustração abaixo sugerida por SAX (1931).





Segundo SAX (1931) cromossomos pares e ímpares' migram para polos opostos, resultando numa distribuição ' 6 : 6, na anáfase-telófase I.

A seqüência cromossômica presente no círculo e na cadeia de Rhoeo discolor é sempre constante (SAX, 1931). Segundo o autor os cromossomos apresentam a seguinte se<sub>q</sub>üência:

h - i - h - h - i - h - h - i - i - i - i - h

SAX (1931) chamou de h (heterobraquial) ao cromossomo que não apresenta centrômero mediano e i (isobraquial) ao cromossomo que possui centrômero mediano. Através do exame de células do meristema apical da raiz de R. discolor, o autor pôde elaborar um idiograma dos cromossomos somáticos que mostra o comprimento de cada cromossomo, individualmente.

De acordo com KOLLER (1932), o pareamento cromossômico em R. discolor ocorre entre extremidades. Como o pareamento implica em homologia, cada um dos doze cromossomos de Rhoeo deve ter finais homólogos com dois outros cromossomos. DARLINGTON (1936) reforçou estas declarações quando afirmou que cada cromossomo de Rhoeo devia conter segmentos de três tipos: segmentos diferenciais, onde não ocorre permuta genética; segmentos intersticiais, com permuta genética reduzida e deletéria (situados próximos à parte trocada), e segmentos terminais, com permuta'

genética simples.

Segundo DARLINGTON (1937) os segmentos terminais homólogos podem ser vistos aos pares no paquíteno. Na fase seguinte da meiose, diplôteno, quiásmas são formados, ao acaso, entre os segmentos pareados.

O diagrama mostrado na Figura 1, elaborado por COLEMAN (1941), apresenta o pareamento entre os finais homólogos dos cromossomos de Rhoeo para produzir um anel de doze cromossomos na metáfase I. Os quiásmas necessários à formação do anel estão representados por pequenos pontos entre os finais homólogos.

SIMMONDS (1945) examinou duas coleções de R. espathacea proveniente de Trindade e do Jardim Botânico de Porto (Espanha). O autor encontrou que os anéis apareciam em 15,0% e 16,7%, e as cadeias de doze cromossomos ocorriam na percentagem de 22,5 a 33,3%, respectivamente na 1ª e 2ª coleções.

Os círculos de doze cromossomos normalmente garantem uma disjunção alternada regular, produzindo esporos geneticamente balanceados. Ocasionalmente, esporócitos com duas ou mais cadeias podem apresentar uma disjunção regular (WALTERS & GERSTEL, 1948). De acordo com os autores, disjunções alternadas ocorrem com grande frequência, embora disjunções adjacentes também possam ocorrer. Por outro lado, uma dupla segregação adjacente, em sentidos

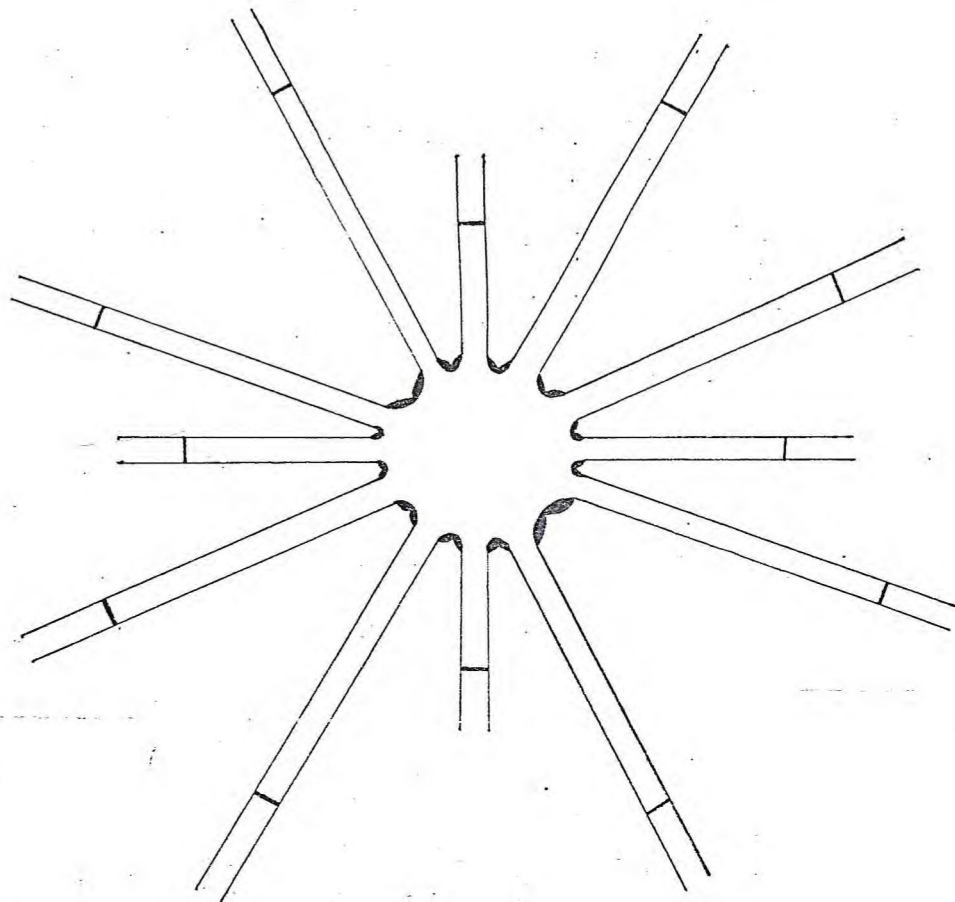


Figura 1. Diagrama do Pareamento entre Finais Homólogos dos Cromossomos de Rhoeo spathacea para Produzir um Anel de 12 Cromossomos na Diacinese e Metáfase I (COLEMAN, 1941).

opostos, poderia proporcionar uma distribuição 6 : 6 e es-  
poros inviáveis.

Em plantas tetraplóides de R. spathacea, WALTERS & GERSTEL (1948) encontraram uma proporção de pólenes viáveis duas vezes maior do que a existente em populações diplóides. A mitose no pólen revelou que no Rhoeo diplóide os pólenes viáveis eram portadores de 6 ou 7 cromossomos. Nenhum pólen com 5 cromossomos foi encontrado. Em Rhoeo tetraplóide, porém, ocorriam pólenes com 11; 12 e 13 cromossomos. Aparentemente, gametas aneuplóides são melhores suportados em plantas tetraplóides.

Segundo FLAGG (1958) a planta diplóide de R. spathacea contém dois complexos cromossômicos que ele denominou de  $\alpha$  e  $\beta$ . Todas as plantas resultariam de uma fusão entre um gameta contendo o complexo  $\alpha$  com o gameta contendo o complexo  $\beta$ . Nenhum homocigoto ( $\alpha/\alpha$  ou  $\beta/\beta$ ) seria produzido, provavelmente porque tais indivíduos seriam homocigotos para fatores letais.

Rhoeo triplóide estudado por DESAI (1965) mostrou uma letalidade do pólen maior do que a encontrada em plantas diplóides. A autora acredita que a mortalidade do pólen seja devida a irregularidades observadas na meiose.

A letalidade encontrada nos homocigotos de R. spathacea não foi observada por WIMBER (1968), em R. spathacea var. concolor. Segundo WIMBER (1968) esta variedade

apresentava bivalentes e continha, em homozigose, um dos complexos cromossômicos encontrados em R.spathacea.

Cruzamentos recíprocos entre R.spathacea e R.spathacea var. concolor só foram viáveis quando a variedade concolor foi utilizada como doadora de pólen e R.spathacea como progenitor feminino. A forma típica de R.spathacea produziu óvulos de dois tipos  $\alpha$  e  $\beta$ . O pólen na variedade concolor continha apenas o complexo  $\alpha$ . Da fecundação resultavam zigotos e progênies de dois tipos em proporções iguais:  $\alpha/\alpha$ , que apresentavam emparelhamento de homólogos em forma de bivalentes, e  $\alpha/\beta$  com anéis de doze cromossomos. A forma homozigota  $\alpha/\alpha$  não devia conter o letal encontrado nas formas comuns de Rhoeo.

ZIMMERMAN (1968) acredita que a presença de um fator letal haplóide e a deficiência de  $(n - 1)$  cromossomos sejam responsáveis por 55% dos grãos de pólen mortos que aparecem em Rhoeo. O autor também afirmou que além das causas citadas acima, até o final da mitose I do pólen, cerca de 30% dos grãos de pólen morrem em consequência de fatores ambientais e combinações desarmônicas de cromossomos. Os pólenes restantes, com complexos cromossômicos intatos, provavelmente não serão afetados, mas podem morrer em consequência de condições ambientais extremamente desfavoráveis. Segundo CARNIEL (1960), citado por BROWN (1972), o aborto do óvulo ocorre pela mesma razão que o aborto do pólen ou seja, disjunção adjacente de al

guns cromossomos em muitas células.

O exame feito por MERTENS (1973), em 16 plantas de R. spathacea, forneceu 31,32% de anéis, 35,20% de cadeias de 12 cromossomos e células com duas, três, quatro e cinco cadeias. As configurações presentes nas diacineses-metáfases I produziram as seguintes distribuições na anáfase I: 6:6 (59,47%), 5:7 (21,37% e 5:2:5 (2,44%). De acordo com LIN & PADDOCK (1973)<sup>1</sup>, quando a distribuição de cromossomos na metáfase I ocorre regularmente, em ziguezague, todos os cromossomos maternos vão para um polo da célula, enquanto todos os cromossomos paternos dirigem-se para o polo oposto. Ocorre, portanto, a produção de dois grupos de ligação, cada um deles formado por um dos complexos cromossômicos de R. spathacea. Os dois tipos de gametas encontrados em Rhoeo vão conter um dos complexos resultantes de uma distribuição regular na anáfase I.

LIN & PADDOCK (1973)<sup>2</sup> relacionaram a configuração metafásica com a frequência de quiasma presente em Rhoeo. De acordo com os autores, doze quiasmas produziram um anel de 12 cromossomos, 11 quiasmas uma cadeia de 12 cromossomos, 10 quiasmas duas cadeias etc. A média de quiasmas encontrada em R. spathacea foi de 11,44 quiasmas por célula. WALTERS & GERSTÉL (1948) encontraram 10,09. O autor explica que esta diferença pode ser devida ao uso de diferentes clones de Rhoeo e/ou diferentes corantes e meios de cultura.

Em sete clones de R. spathacea var. variegata e quatro clones de R. spathacea var. concolor, BAKER & MERTENS (1975) encontraram uma hibridação estrutural típica das formas comuns de Rhoeo. Os quatro clones da variedade concolor mostraram possuir  $2n = 12$  cromossomos, e nenhuma das variedades de Rhoeo examinadas pelos autores apresentava pareamento de bivalentes como os dois clones dessa variedade estudados anteriormente por WIMBER (1968). De maneira semelhante, os sete clones da variedade variegata apresentaram translocações recíprocas como a forma comum de Rhoeo.

#### Comportamento Citológico das Inversões

Em todas as formas diplóides e tetraplóides de Tradescantia virginiana e em R. discolor, examinadas por DARLINGTON (1938), foram encontradas pontes e fragmentos em uma pequena proporção de células-mães-do-pólen. Isso vem demonstrar a presença, nessas células, de inversões que na metáfase I passaram por "crossing-over", produzindo cromátides acêntricas e dicêntricas.

Segundo DARLINGTON (1938) "crossing-over" em inversões são mais freqüentes em espécies diplóides de Tradescantia, ocorrendo em cerca de 1% das células, e menos freqüentes em espécies tetraplóides de Tradescantia e em Rhoeo. O autor relatou que fragmentos de grande tama

nho foram encontrados em Tradescantia virginiana, ocorrendo o contrário nas espécies tetraplóides de Tradescantia e em Rhoeo onde os fragmentos são freqüentemente invisíveis.

Inversões foram também registradas por investigadores como RICHARDSON (1936), em Lilium, DARLINGTON (1936), em orthoptera, DARLINGTON & GARDNER (1937), em Campanula, DOBZHANSKY (1937) e outros em Drosófila, todos citados por SWANSON (1940).

A análise citológica realizada por SWANSON (1940) em dois híbridos naturais de Tradescantia mostrou que, aparentemente, não existe correlação entre freqüência de quiasmas terminais e porcentagem de pontes de inversão, mas uma grande correlação foi encontrada entre a formação de pontes e a freqüência de quiasmas intersticiais. Em seu trabalho, SWANSON (1940) encontrou que mais de 50% das células portadoras de pontes de inversão apresentavam um segmento acêntrico. Relatou também que nas plantas estudadas a esterilidade era alta e provavelmente aparecia em consequência do desequilíbrio gênico provocado por permuta genética em inversões.

FLAGG (1958) analisou uma ponte e um fragmento encontrados na anáfase I de R. spathacea. O autor referiu-se às configurações citológicas citadas acima como evidências de uma inversão paracêntrica. De acordo com o autor, as características citológicas indicam que a inversão está situada no braço d do cromossomo ed ou df. Como o segmento acên-



trico encontrado era muito pequeno, é provável que a inversão esteja localizada perto da extremidade cromossômica, mostrando que os segmentos terminais emparelhados de R. spathacea são mais longos do que tinham sido considerados anteriormente, uma vez que permitiram a formação de quiasmas na região invertida. Como uma só ponte foi encontrada em oitenta células analisadas por FLAGG (1958), o autor não estimou a frequência de crossing-over, mas pôde deduzir que era muito baixa.

#### Efeitos da Temperatura na Divisão Celular

Segundo SAX (1931) o exame citológico de plantas de Rhoeo spathacea que permaneceram por alguns dias em casa de vegetação, onde a temperatura baixou para 45° Fahrenheit, mostrou a existência de uma falta de pareamento cromossômico, ou seja, um caso típico de assinapse. Quando SAX (1931) submeteu plantas de R. spathacea à temperatura de 36° Fahrenheit, algumas células-mães-do-pólen apresentaram assinapse, outras células da mesma antera mostraram os usuais anéis e cadeias, embora as últimas apresentassem uma irregularidade maior do que as encontradas nas plantas controle. Estas anormalidade deixaram de ocorrer quando as plantas tratadas pelo frio retornaram, por algum tempo, à temperatura ambiente.

Dois tipos de anormalidade foram encontradas por SAX (1935) em plantas de R. spathacea submetidas à temperatura de 6°C: inibição do pareamento cromossômico e divisão dos cromossomos sem divisão nuclear provocado, o aparecimento de gametas com número de cromossomos duplicado, no último caso;

STRAUB (1936) afirmou que à temperatura de 10°C, por 16 dias, as associações cromossômicas presentes em Rhoeo eram diminuídas, e que temperaturas altas não apresentavam nenhum efeito sobre essas associações. O autor encontrou as seguintes configurações metafásica em plantas de Rhoeo submetidas à temperatura de 10°C, por 16 dias: uma cadeia de quatro cromossomos+duas cadeias de dois cromossomos+seis univalentes; uma cadeia de três cromossomos+9 univalentes; uma cadeia de três cromossomos+duas cadeias de dois cromossomos+cinco univalentes e doze univalentes.

As seguintes anormalidade meióticas foram encontradas por SAX (1937) ao submeter plantas de Tradescantia a choques de temperatura; intertroca cromossômica, inversões, fusões e fragmentações de cromátides, produção de pólenes diplóides, divisão celular sem divisão nuclear e divisão nuclear sem divisão celular, divisão dos cromossomos sem divisão nuclear.

O autor afirmou que, em muitos aspectos, as anormalidades induzidas por choques de temperatura são similares àquelas produzidas por narcóticos, pressão osmótica, injúrias mecânicas, infecções por insetos, raio-X, luz ultra-violeta e fatores genéticos.

## MATERIAL E MÉTODO

O presente experimento foi realizado no Campus do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, sob condições de laboratório e em casa de vegetação.

O trabalho desenvolveu-se em etapas.

### Estudo da Meiose em *Rhoeo spathacea* à Temperatura Ambiente

Uma amostra de nove plantas de *R. spathacea* diplóide ( $2x = 2n = 12$ ) foi escolhida, ao acaso, da população existente no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará. As plantas eleitas foram transferidas para vasos de plástico, enumeradas e mantidas em casa de vegetação.

O estudo da meiose em *Rhoeo* foi desenvolvido, primeiramente, com plantas crescendo em casa de vegetação à temperatura média de 30°C.

As lâminas foram preparadas utilizando-se a técnica descrita abaixo.

- 1 - Retirada das inflorescências imaturas juntamente com as bracteas, as quais eram removidas, posteriormente.
- 2 - Fixação dos botões, por 24 horas, em solução a 3:1 de álcool - acético.

- 3 - Conservação em álcool etílico a 70%, em geladeira, a 2 - 4°C.
- 4 - Esmagamento das anteras jovens em uma gota de carmim propiônico a 1%.
- 5 - A lâmina preparada era aquecida, coberta com papel de filtro e comprimida firmemente com o polegar.
- 6 - A lâmina era selada com parafina.

Células mãe do pólen das nove plantas escolhidas foram citologicamente analisadas, num total de 337 diacineses - metáfases I, 188 anáfases I e 8428 grãos de pólen.

As configurações meióticas observadas foram interpretadas, anotadas, desenhadas esquematicamente e fotografadas com fotomicroscópico Nikon, utilizando-se filme Kodak e aumento de 1500x.

O número médio de quiasmas por célula e por par de braço cromossômico foi estimado com base no número de anéis e cadeias encontrados na diacinese - metáfase I.

A classificação dos grãos de pólen em viáveis e inviáveis foi feita obedecendo ao seguinte critério: pólen corados, cheios e com núcleo visível eram considerados viáveis, e inviáveis os que se apresentavam incolores, enrugados e sem núcleo distinto.

A mitose foi observada em 106 micrôsporos, o que permitiu, em alguns casos, a contagem do número haplóide de cromossomos da espécie.

#### Estudo da Meiose em *Rhoeo spathacea* à Temperatura de 10 °C.

Cinco das nove plantas analisadas anteriormente foram colocadas em uma câmara de crescimento à temperatura de 10 °C por 15 dias.

Antes do tratamento a frio, sortearam-se cinco plantas que tiveram suas inflorescências eliminadas.

Após a sua retirada da câmara de crescimento, as plantas voltaram a florar. As novas inflorescências foram fixadas, coradas e analisadas citologicamente, utilizando-se a técnica para o preparo de lâminas descrita anteriormente.

Para testar a existência de diferença significativa entre o número médio de quiasmas, por célula, em plantas que crescem à temperatura ambiente e à temperatura de 10 °C, utilizou-se o teste "t", ao nível de 0,05.

#### Estudos dos Cromossomos Somáticos de *Rhoeo spathacea* em Células Meristemáticas da Raiz.

A análise citológica foi realizada em metáfases obtidas de células meristemáticas do ápice de raízes.

A técnica empregada no preparo de lâminas seguiu, em linhas gerais, a descrita por BANDEL (1971), percorrendo resumidamente, às seguintes etapas.

- 1 - Rebentos de Rhoeo foram colocados em bêqueres com água.
- 2 - A coleta das raízes foi feita quando essas alcançaram um comprimento de 0,5 centímetros.
- 3 - O pré-tratamento do material foi realizado com colchicina a 0,5%, durante duas horas, a temperatura de 25°C.
- 4 - Fixação em 1 parte de ácido acético glacial ; 3 partes de clorofórmio e 3 partes de álcool absoluto, durante 14 horas.
- 5 - Tratamento durante 5 minutos, em 1 parte de álcool etílico ; 1 parte de ácido clorídrico.
- 6 - Conservação do material em álcool 70%, a temperatura de 2-4°C.
- 7 - Antes do preparo das lâminas, lavaram-se as raízes em água destilada.
- 8 - Esmagamento do ápice da raiz em uma gota de carmin acético a 1%.

O pré-tratamento com colchicina promove o encurtamento dos cromossomos, permite que eles apresentem suas cro

matídes separadas em "X" e produz um maior espalhamento dos cromossomos na célula.

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 cromossomos uniformemente corados e de contornos nítidos foram fotografadas com fotomicroscópio, filme e aumentos iguais aos utilizados nos estudos meióticos.

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 (1976), descrito abaixo (Método-2).

Os negativos das metáfases foram montados em guias positivos. Cada uma das sete metáfases foi projetada sobre uma folha de papel branca por meio de um projetor Kodak. Os contornos dos sete cromossomos foram, então, 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 indelével 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 al., (1964), apresentadas abaixo, foram utilizadas para o cálculo do índice centromérico (i) e relação de braços (r), onde :

$$i = 100s/c \quad e \quad r = l/s$$

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, na indentificação dos cromossomos de Rhoeo.

A classificação dos cromossomos, de acordo com a posição do centrômero, foi feita consultando-se a Tabela 1, citada por LEVAN et al., (1964) e utilizando-se a nomenclatura abaixo, citada por GIANNONI & FERRARI (1974),

M = metacêntrico

m = metacêntrico

sm = submetacêntrico

st = subtelocêntrico

Tabela 1. Valores para Relação de Braços (r) e Índice Centromérico (i) Calculados para a Presente Nomenclatura. (LEVAN et al., (1964).

Nomenclatura	( r )	( i )
M	1,00	50,0
	1,05	47,5
m	1,22	45,0
	1,35	42,5
	1,50	40,0
	1,67	37,5
sm	1,86	35,0
	2,08	32,5
	2,33	30,0
	2,64	27,5
	3,00	25,0
st	3,44	22,5
	4,00	20,0
	4,71	17,5
	5,67	15,0
	7,00	12,5
t	9,00	10,0
	12,33	7,5
	19,00	5,0
T	39,00	2,5
	$\infty$	0,0

t = acrocêntrico

T = telocêntrico

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

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

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Comportamento Meiótico de *Rhoeo spathacea* à Temperatura Ambiente (30°C)

No presente trabalho foram analisadas citologicamente 525 células mãe do pólen de *R. spathacea*, pertencentes a uma amostra de nove plantas.

A análise de 337 diacineses e metáfases I forneceu o resultado apresentado na Tabela 2. O exame desta Tabela revela que os anéis de 12 cromossomos na diacinese e metáfase I aparecem numa frequência de 37,09%. As Figuras 2a e 2b mostram um anel em diacinese e outro em metáfase I, respectivamente. Do exame das citadas Figuras verifica-se que a contagem dos doze cromossomos é bem mais fácil na diacinese do que no anel da metáfase I.

Das 337 diacineses e metáfases I observadas, 160 (47,48%, Tabela 2), apresentaram-se em cadeias de 12 cromossomos (Figuras 2c e 2d). Essas cadeias também podem ser encontradas em ziguezague.

Além das configurações cromossômicas citadas acima, foram, também, encontradas células com duas cadeias (Figura 3a), três cadeias (Figura 3b), quatro e cinco cadeias, cujas figuras não são apresentadas no presente tra

Tabela 2. Frequência de Configurações Cromossômicas Obtidas em 337 Diacineses e Metafasas I de Rhoeo spathacea. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

Configurações Cromossômicas	C M P		Tipos Específicos e suas Frequências
	Nº	%	
Anéis de 12 cromossomos	125	37,09	
Cadeias de 12 cromossomos	160	47,48	
Duas cadeias	40	11,87	11+1(20); 10+2(8); 9+3(7) 8+4( 1); 7+5(2); 6+6(2)
Três cadeias	9	2,67	10+1+1(3); 8+2+2(2) 7+4+1(1); 8+3+1(1) 6+4+2(1); 5+4+3(1)
Quatro cadeias	2	0,59	8+2+1+1(1); 6+3+2+1(1)
Cinco cadeias	1	0,30	5+3+2+1+1(1)
Total	337	100,00	



(a)



(b)

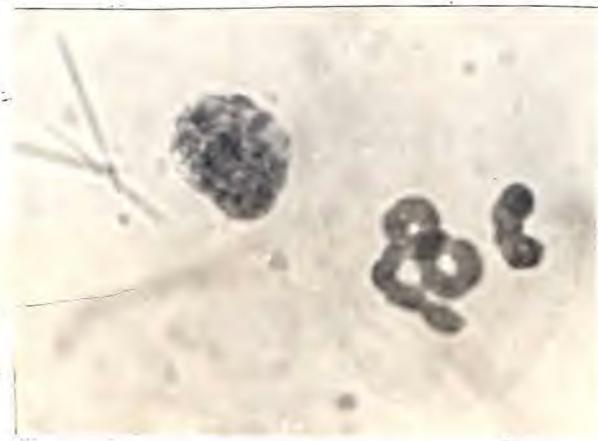


(c)



(d)

Figura 2 - (a) Anel em Diacinese. (b) Anel em Ziguezague na Matáfase I. (c) Cadeia de 12 Cromossomos. (d) Cadeia de 12 Cromossomos. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1979.



(a)



(b)

Figura 3. (a) Duas Cadeias. (b) Três Cadeias. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

balho.

Os dados da Tabela 2 sugerem uma pequena frequência de células mãe do pólen (CMP) com maior número de cadeias.

Configurações cromossômicas com cinco cadeias, como  $5+3+2+1+1$  (uma cadeia de 5 cromossomos + uma cadeia com três cromossomos + uma cadeia de 2 cromossomos + dois univalentes), são raras e uma aparece interpretada, esquematicamente, na Figura 4a.

As Figuras 4b, 4c, 4d, 4e e 4f, são respectivamente, interpretações esquemáticas de duas cadeias de 12 um anel de 12, duas cadeias  $6+6$  e duas cadeias  $4+8$ .

Anéis e cadeias em R. spathacea ocorrem em consequência de translocações recíprocas existentes entre seus 12 cromossomos (FLAGG, 1958).

Cada um dos 12 cromossomos de Rhoeo apresenta, na extremidade de seus braços, um segmento translocado com partes homólogas correspondentes em dois outros cromossomos. Segundo COLEMAN (1941), o aparecimento de anéis e cadeias depende da formação de quiasmas entre os segmentos distais homólogos, que pareiam durante a diacinese e metáfase I.

A relação existente entre a configuração observada em uma célula e a frequência de quiasmas foi explicada por LIN & PADDOCK, (1973) do seguinte modo: 12 quiasmas for



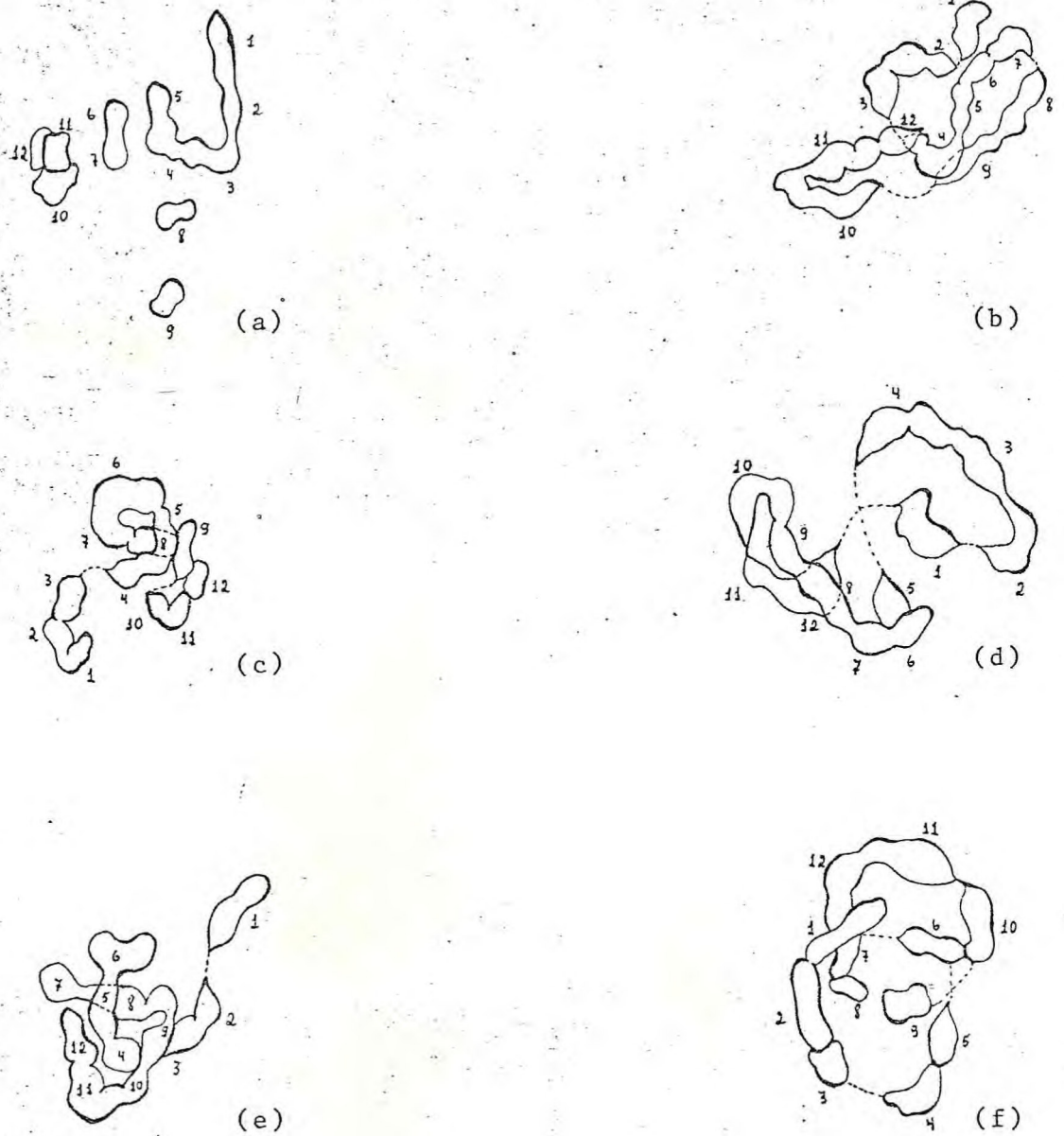


Figura 4. Representação esquemática de: (a) Cinco Cadeias 1+1+2+3+5. (b) Cadeia de 12 Cromossomos. (c) Cadeia de 12 Cromossomos. (d) Anel de 12 Cromossomos. (e) Duas Cadeias 6+6. (f) Duas Cadeias 4+8. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

mam um anel completo, 11 quiasmas uma cadeia de 12 cromossomos, 10 quiasmas duas cadeias, e assim por diante.

O número médio de quiasmas foi calculado tomando por base os dados da Tabela 2. Foram encontrados  $3764/337 \approx 11,2$  quiasmas terminais por célula, onde 3764 correspondem ao número de quiasmas terminais observados em 337 diacineses - metáfases I analisadas. WALTERS & GERSTEL (1948) encontraram 10,09, enquanto LIN & PADDOCK (1973)<sup>2</sup>, acharam uma média de 11,44 quiasmas por célula. Portanto, a média de quiasmas encontrada no presente estudo, aproxima-se mais daquela relatada por LIN & PADDOCK (1973)<sup>2</sup> do que a de WALTERS & GERSTEL (1948).

O número médio de quiasmas por par de braços cromossômicos foi de  $11,2/12 \approx 0,93$ , onde  $12=2n$  = número diplóide de cromossomos da espécie. WALTERS & GERSTEL (1948) e LIN & PADDOCK (1973)<sup>2</sup> encontraram uma média de quiasmas por par de braços cromossômicos de 0,91 e 0,95, respectivamente. As diferenças observadas segundo LIN & PADDOCK (1973)<sup>2</sup> podem ser atribuídas à utilização de diferentes clones de Rhoeo, diferentes corantes e/ou diferentes condições de cultivo.

Na Tabela 3 são apresentadas as segregações e frequências resultantes da análise de 188 anáfases I. Observa-se na citada Tabela que o anel e a cadeia de 12 cromossomos que se encontram em ziguezague na metáfase I, garantem uma distribuição regular (6:6) na anáfase I, com cromossomos

Tabela 3. Frequência de Segregações Cromossômicas Obtidas em 188 Anáfases I de Rhoeo  
spathacea. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

Segregações Cromossômicas	C M P		Tipos Específicos e suas Frequências
	Nº	%	
6:6	130	69,15	
5:7	26	13,80	
5:1:6	24	12,76	
5:2:5	2	1,10	
Outros	6	3,19	7:1:4(2); 4:2:6(2) 5:1:1:5(1); 5:3:4(1)
Total	188	100,00	

BSCTH

adjacentes indo para polos opostos, e cromossomos alternados indo para o mesmo polo. Resultados semelhantes foram também encontrados por WALTERS & GERSTEL (1948). No presente estudo, cerca de 69,15% das células observadas apresentaram a segregação regular 6:6 (Figura 5a), e segundo LIN & PADDOCK (1973)<sup>1</sup>, essa é a maneira usual de distribuição dos cromossomos de Rhoeo.

Os gametas resultantes da distribuição regular na anáfase I (6:6) são de dois tipos: metade dos gametas contém o complexo "α" e metade o complexo "β" (FLAGG, 1958). Todas as plantas de Rhoeo resultam da união do complexo "α" com o complexo "β", sendo que os homozigotos α/α e β/β não são viáveis, provavelmente devido à presença de fatores letais na condição homozigota (SATTERFIELD & MERTENS, 1972). Isto garante uma condição heterozigota constante para o complexo de translocações em R. spathacea.

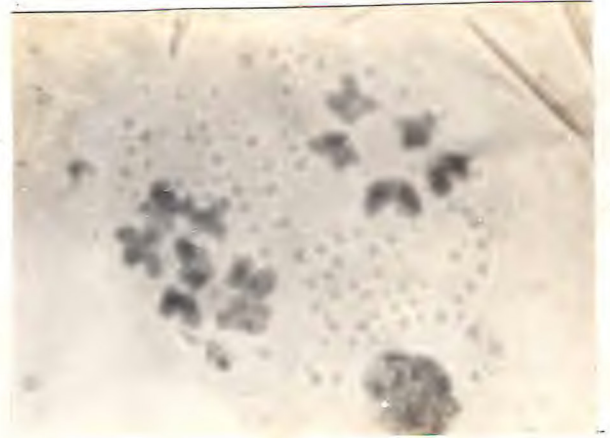
Irregulares são as outras segregações cromossômicas encontradas na Tabela 3. São produto de não disjunções com cromossomos adjacentes indo para o mesmo polo.

A segregação irregular (5 : 7, Figura 5b) foi encontrada em cerca de 13,80 das células estudadas.

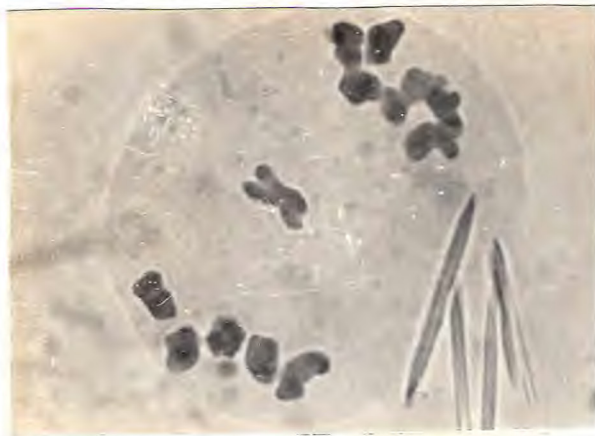
Cromossomos atrasados foram observados nas segregações (5:1:6, Figura 5c); (5:2:5):(7:1:4, Figura 5d) e (4:2:6). As segregações 5:1:1:5 e 5:3:4 são raras em



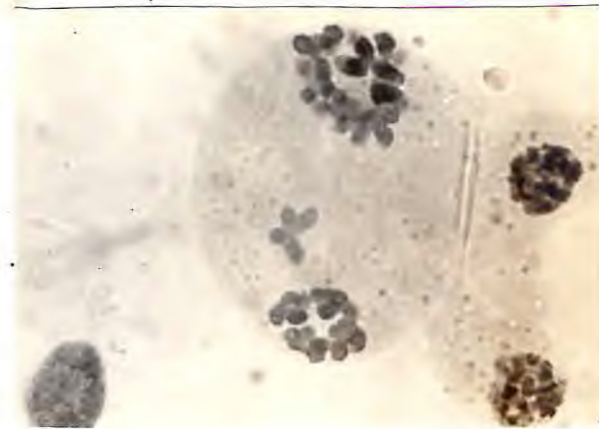
(a)



(b)



(c)

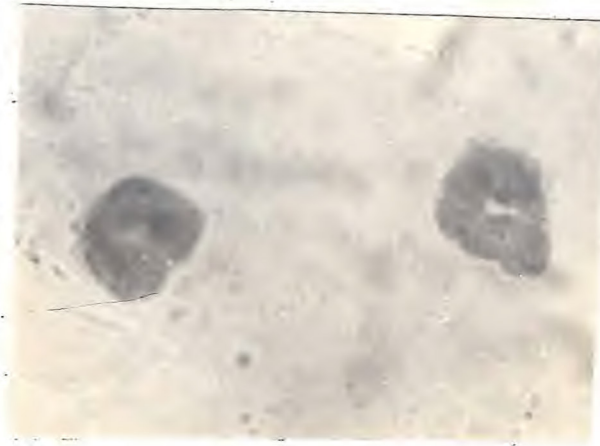


(d)

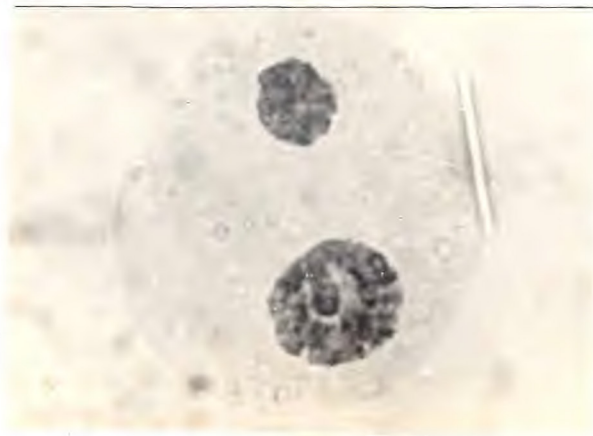
Figura 5 - (a) Segregação Regular 6:6. (b) Segregação Irregular 5:7. (c) Segregação com Cromossomo Atrasado 5:1:6. (d) Segregação com Cromossomo Atrasado 7:1:4. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

Rhoeo e correspondem, cada uma, a 0,53% das anáfases I estudadas (Tabela 3). Como consequência desta distribuição irregular, há sempre um desequilíbrio no balanço gênico, seguido por uma alta proporção de pólen estéril, provocada por deficiências e duplicações. Os cromossomos atrasados podem ou não fazer parte dos núcleos filhos recém-formados. Foram encontradas células em telófase I onde o cromossomo atrasado não foi incluído no núcleo filho. Essa observação também foi feita por SIMMONDS (1945), o qual afirmou que neste caso o cromossomo excluído permanece condensado mesmo na telófase I e interfase. Uma telófase I regular, com núcleos aproximadamente do mesmo tamanho, é mostrada na Figura 6a. Os cromossomos atrasados que não foram incluídos nos novos núcleos e os núcleos filhos de tamanhos diferentes serviram de critério para identificar as telófases anormais (Figura 6b). Foram também observadas seis pontes na anáfase I, uma na anáfase II (Figura 7a) e uma na telófase II (Figura 7b). Segundo DARLINGTON (1938), isto sugere a existência de inversões paracêntricas que passaram na metáfase I por permutação genética (crossing-over), produzindo cromátides acêntricas e dicêntricas.

As pontes na anáfase I ocorrem quando os dois centrômeros do cromatídeo dicêntrico pertencem a cromátides não irmãs. Quando os dois centrômeros pertencem a cromátides irmãs, a ponte só será observada na anáfase II.



(a)

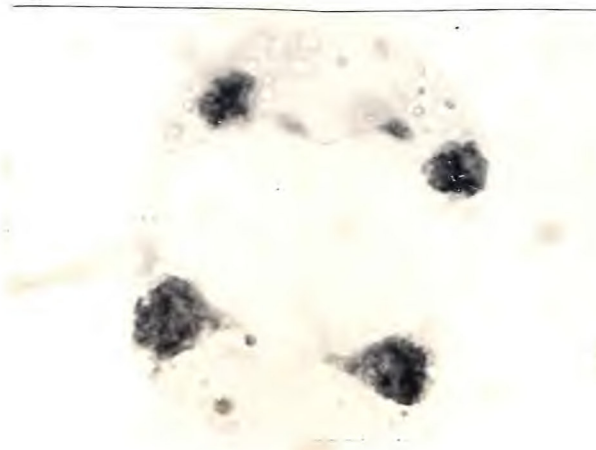


(b)

Figura 6 - (a) Telófase I Regular Apresentando Núcleos de Tamanhos Iguais. (b) Telófase I Irregular Apresentando Micronúcleo. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.



(a)



(b)

Figura 7 - (a) Pontes na Anáfase II. (b) Pontes na Telófa  
se II. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979



A ausência da formação de figuras em zigzague na metáfase I, a não disjunção na anáfase I e a presença de inversões nas anáfases I e II são responsáveis pela morte do pólen e a conseqüente semi-esterilidade presente em Rhoeo. Os cromossomos atrasados na anáfase I e/ou na anáfase II e não disjunções na anáfase II são fatores adicionais que podem aumentar a proporção de pólen estéril (LIN & PADDOCK, 1973)<sup>1</sup>. Duas segregações adjacentes na mesma célula, mas indo em direção a polos opostos, poderiam proporcionar uma distribuição 6:6, mas os gametas seriam estéreis (SAX, 1931; WALTERS & GERSTEL (1948).

A viabilidade do pólen foi julgada pela sua capacidade de corar. Dos 8428 grãos de pólen analisados, 3678 (45%) apresentavam-se corados (Tabela 4). As diferenças entre pólen viáveis (corados) e inviáveis são mostradas na Figura 8. O pólen viável apresenta-se cheio e colorido, o inviável tem forma irregular, pouca coloração e parece plasmolisado (SATTERFIELD & MERTENS, 1972).

O número de cromossomos presentes no pólen de R. spathacea foi determinado em 106 células que se encontravam em mitose. Foram encontrados 75% de grãos de pólen com 6 cromossomos (Figura 8b) e 25% com sete cromossomos (Figura 8c), enquanto que nenhum grão de pólen foi encontrado com 5 cromossomos. O grão de pólen com sete cromossomos apare-

Tabela 4. Freqüência, Viabilidade e Número de Cromossomos Obtidos da Análise de 8428 Grãos de Pólen de Rhoeo spathacea. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1979.

Plantas	Nº de polens p/planta	Polens corados		Nº de polens em mitose	Polens com 6 cromossomos		Polens com 7 cromossomos	
		Nº	%		Nº	%	Nº	%
1	1061	547	51,56	32	22	68,75	10	31,25
2	1451	573	39,49	-	-	-	-	-
3	590	215	36,44	4	2	50,00	2	50,00
4	215	108	50,23	11	7	63,64	4	36,36
5	219	120	54,79	-	-	-	-	-
6	2032	893	43,95	34	29	85,29	5	14,71
7	208	96	46,15	-	-	-	-	-
8	158	63	39,87	-	-	-	-	-
9	2494	1063	42,63	25	19	76,00	6	24,00
Total	8428	3678	-	106	79	-	27	-
% média	-	-	45,00	-	-	75,00	-	25,00



(a)



(b)



(c)

Figura 8 - (a) Pólen Viaável e Inviável. (b) Pólen com 6 Cromossomos. (c) Pólen com 7 Cromossomos. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

ce colorido, enquanto o pólen não colorido, provavelmente, representa o que possui 5 cromossomos e aqueles com complementos cromossômicos desequilibrados, resultantes de não disjunções múltiplas WALTERS & GERSTEL (1948).

A morte do pólen pode ocorrer durante três estágios: (1) até o início da mitose I do pólen, devido a um fator letal haplóide e de deficiências de  $(n-1)$  cromossomo; (2) até o fim da mitose I do pólen, quando pode ocorrer o aborto do pólen em consequência de fatores ambientais; e combinações desarmonicas de cromossomos, (3) os pólenes com complexos cromossômicos intactos podem morrer em consequência de condições ambientais extremamente desfavoráveis (ZIMMERMANN, 1968).

Os dados apresentados neste trabalho foram comparados com os da literatura (Tabela 5, 6 e 7). Segundo SIMMONDS (1945) seria interessante conhecer se as diferenças mostradas na Tabela 5, 6 e 7 são de origem genética ou ambiental. Na opinião de SAX (1931) a proporção de anéis e cadeias apresenta uma dependência bastante acentuada das condições ambientais.

Tabela 5. Sumário Relativo aos Dados de Frequência Obtidos no Estudo de Anéis e Cadeias em Diacinese e Metáfase I de Rhoeo spathacea. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1979.

Configurações Cromossômicas	1929 DARLINGTON	1948 WALTERS & GERSTEL	1973 MERTENS	1973 LIN & PADDOCK	1979 Presente estudo
Cadeias de 12 Cromossomos	* - ** 45,00	38 38,00	99 35,23	119 24,33	160 47,48
Anéis de 12 Cromossomos	* - ** 30,00	32 32,00	88 31,32	301 65,55	125 37,09
Duas Cadeias	* - ** 20,00	15 15,00	65 23,13	53 10,84	40 11,87
Três Cadeias	* - ** 5,00	14 14,00	18 6,41	16 3,27	9 2,67
Quatro Cadeias	* - ** -	1 1,00	10 3,56	- -	2 0,59
Cinco Cadeias	* - ** -	- -	1 0,36	- -	1 0,30
Total	100	100	281	489	337

\* - número de células

\*\* - % de células

Tabela 6. Sumário Relativo aos Dados de Frequência Obtidos no Estudo da Segregação Cromossômica na Anáfase I do Rhoeo spathacea. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

Segregação cromossômica paterna	1930 KATO	1937 AKEMINE	1945 SIMMONDS	1948 WALTERS & GERSTEL	1973 MERTENS	1979 Presente estudo	
6:6	* 59	107	8	37	35	779	130
	** 62,80	77,50	66,70	56,10	70,00	59,47	69,15
5:7	* 30	20	1	11	15	280	26
	** 31,90	14,40	8,30	16,70	30,00	22,37	13,80
5:1:6	* 3	9	2	12	-	200	24
	** 3,19	6,52	16,70	18,10	-	15,27	12,76
5:2:5	* 2	2	-	2	-	32	2
	** 2,10	1,44	-	3,00	-	2,44	1,10
Outras	* -	-	+1	++4	-	+++19	++ & +++6
	** -	-	8,30	6,00	-	1,45	3,19
Total	* 94	138	12	66	45	1310	188

\* - número de células +6:3:3 ++6:2:4 +++8:4 9:3 7:1:4 5:3:4 6:2:4  
 \*\* - % de células 7:1:4 4:2:1:5 8:3:1 6:1:1:4 5:1:1:5  
 5:3:4

Tabela 7. Sumário Relativo aos Dados de Frequência Obtidos no Estudo de Viabilidade e Número de Cromossomos em Grão de Pólen de Rhoeo spathacea.

Variáveis estudadas	1929 DARLINGTON	1948 SCHERMAN WALTERS & GERSTEL	1972 SATERFIELD & MERTENS	1975 BAKER & MERTENS	1979 Presente estudo
Nº de Plantas	-	3	5	-	9
Nº de pólen analisados	-	2010	693	-	8428
% de pólen viáveis varia de	-	28,00-41,00	22,00-42,00	14,00-57,00	36,40-54,70
% média de pólen viáveis	-	34,50	32,00	35,50	45,00
Nº de plantas com pólen em mitose	-	várias	-	-	9
Nº de pólen em mitose	45	75	-	-	106
% de pólen com 5 cromossomos	0	0	-	-	0
% de pólen com 6 cromossomos	82,20	68,00	-	-	75,00
% de pólen com 7 cromossomos	17,80	32,00	-	-	25,00

Comportamento Meiótico de *Rhoeo spathacea* à Temperatura de 10°C

O exame citológico de cinco plantas de R. spathacea, submetidas à temperatura de 10°C por 15 dias, revelou a presença de irregularidades na microsporogênese.

Dados resultantes da análise de 126 diacineses - metáfases I (Tabela 8) mostraram a existência, nessas plantas, dos usuais anéis e cadeias de doze cromossomos e de configurações cromossômicas novas, como 9+3 (anel de nove cromossomos + uma cadeia de 3 cromossomos, Figura 9a), 11+1 (um anel de onze cromossomos + um univalente). A presença de novos tipos de anéis parece indicar que a temperatura baixa provocou um rearranjo nas translocações de R. spathacea. Em Transdecantia paludosa, translocações e a consequente formação de anéis foram induzidas pelo tratamento com temperatura de 38°C (SAX, 1937). Foram também observadas células com seis cadeias (Figura 9b e 9e), cinco cadeias (Figuras 9c e 9d), dez univalentes e uma cadeia de dois cromossomos (Figura 9f) e um caso de total falta de pareamento, ou seja, uma célula com 12 univalentes (Tabela 8).

A presença de células com grande número de univalentes indica que a temperatura baixa inibiu, total ou parcialmente, o pareamento cromossômico e a formação de quiasmas. Segundo SAX (1930), falhas no pareamento (assinapses),



Tabela 8. Frequências de Configurações Cromossômicas Obtidas em 126 Diacineses e Metafasas I de Rhoeo spathacea, Quando Submetidas à Temperatura de 10°C. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

Configurações Cromossômicas	C M P		Tipos específicos e suas frequências
	Nº	%	
Anéis de 12 cromossomos	35	27,78	
Cadeias de 12 cromossomos	54	42,86	
Duas cadeias	27	21,43	11:1(16); 10:2(5) 9:3(1) ; 5:7(2) 8:4(2) ; 6:6(1)
Três cadeias	2	1,59	10:1:1(1); 8:3:1(1)
Quatro cadeias	-	-	
Cinco cadeias	2	1,59	1:2:3:3:3(1); 1:2:2:3:4(1)
Outras	6	4,76	Anél de 9+cadeia de 3(1) Anél de 11+1 univalente(1) 1:1:1:2:3:4(2); 1:1:1:1:1:1:1:1:1:2(1) 1:1:1:1:1:1:1:1:1:1:1(1)
Total	126	100,00	

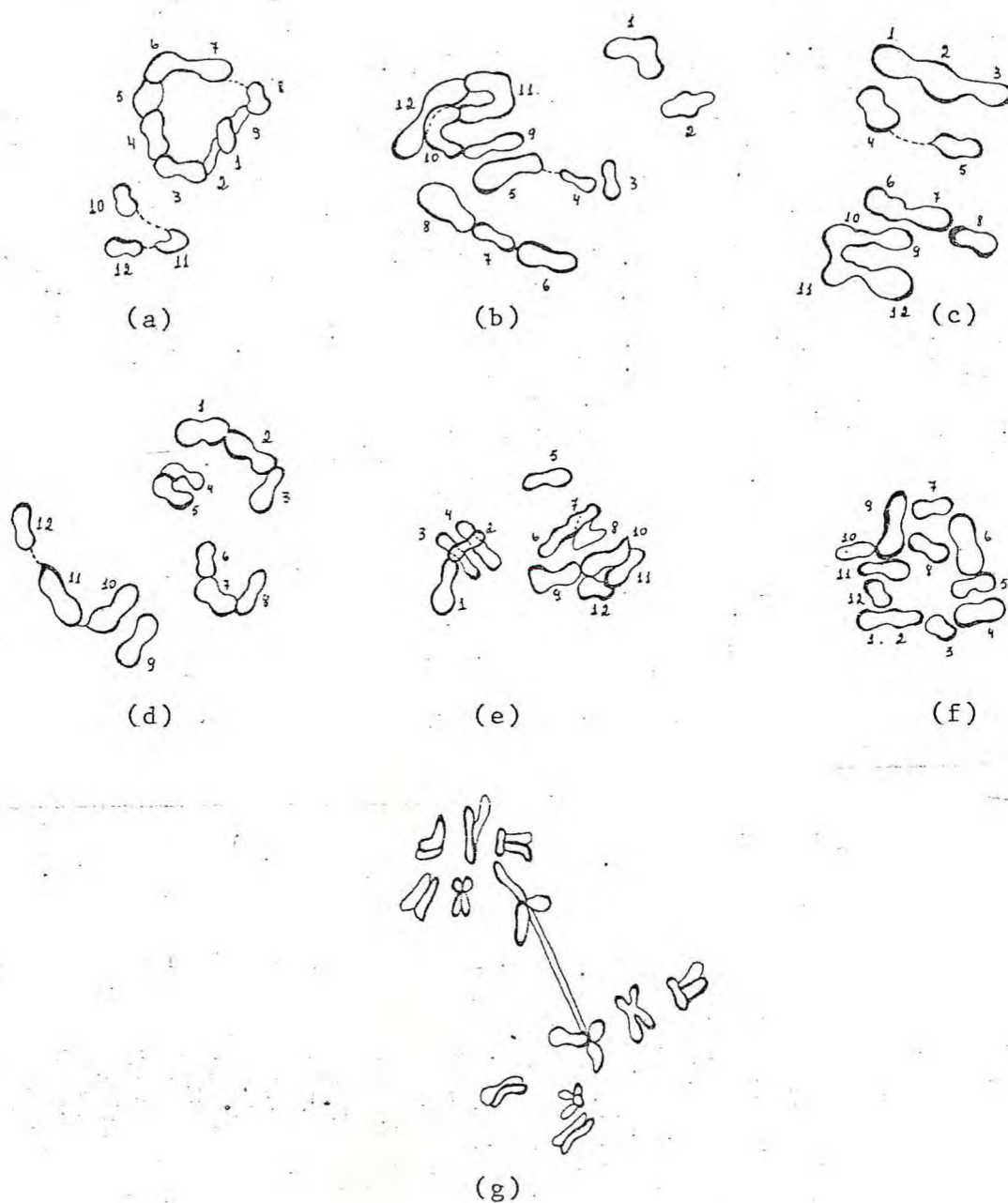


Figura 9. Representação Esquemática de (a) Anel de 9 Cromossomos + uma Cadeia de 3 Cromossomos. (b e e) Seis Cadeias. (c e d) Cinco Cadeias. (f) Dez Univalentes + uma Cadeia de 2 Cromossomos. (g) Ponte de Inversão na Anáfase I. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

podem resultar de hibridação entre espécies, da ação de fatores genéticos, ou podem ser induzidas por tratamento com temperatura. Por outro lado, BELLING (1927) afirma que, em plantas tropicais e subtropicais, o pareamento cromossômico pode sofrer uma maior influência do frio do que em plantas de zonas temperadas. Embora Rhoeo não seja uma planta apenas tropical, seu pareamento cromossômico ocorre apenas entre seus segmentos distais homólogos. Dessa maneira, assinápses podem ser esperadas com maior frequência (SAX, 1931).

O número de quiasmas terminais por células de de cresceu de 11,2 (30°C) para 10,7 (10°C). A diferença en tre estas médias é significativa ao nível de 5% ( $t=3,125$ ). O número médio de quiasmas terminais por par de braços ' cromossômicos também diminuiu de 0,97 (30°C) para 0,87 (10°C).

A Tabela 9 fornece uma comparação entre os da dos obtidos para diacinese - metáfase I a 30° e 10°C, res pectivamente.

O resultado do exame citológico de 102 anáfases I é mostrado na Tabela 10. O decréscimo ocorrido no número de anéis e cadeias de 12 cromossomos na diacinese - me táfase I provocou uma diminuição no número de células em anáfases I, com distribuição normal 6:6. Irregularidades,

Tabela 9. Sumário Relativo dos Dados de Frequência Obtidos no Estudo de Anéis e Cadeias em Diacinese e Metáfase I de Rhoeo spathacea. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

Configurações Cromossômicas	Temperatura Ambiente (30°C)		Temperatura de 10°C	
	Nº	%	Nº	%
Anéis de 12 cromossomos	125	37,09	35	27,78
Cadeias de 12 cromossomos	160	47,48	54	42,86
Duas Cadeias	40	11,87	27	21,43
Três Cadeias	9	2,67	2	1,59
Quatro Cadeias	2	0,59	-	-
Cinco Cadeias	1	0,30	2	1,59
Outras	-	-	6	4,76
Total	337	100,00	126	100,00

Tabela 10. Frequências de Segregações Cromossômicas Obtidas em 102 Anáfases I de Rhoeo spathacea, Quando Submetidas à Temperatura de 10°C. Fortaleza, Ceará, Bra  
sil. 1979.

Segregações Cromossômicas	C M P		Tipos específicos e suas frequências
	Nº	%	
6:6	52	59,98	
5:7	2	1,96	
5:1:6	36	35,30	
5:2:5	4	3,92	
Outras	8	7,84	6:2:4 (8)
Total	102	100,00	

como o aparecimento de grande número de células com cromossomos atrasados 47,06% (Tabela 10), podem ter sido causadas por distúrbios no mecanismo do fuso. Problemas na formação do fuso teriam impedido que cromossomos atrasados de células com distribuição 5:1:6 e 5:2:5 chegassem aos polos, diminuindo, consideravelmente, o número de anáfase I com distribuição 5:7 (Tabela 10). SAX (1937) atribuiu a supressão do desenvolvimento do fuso às trocas na viscosidade citoplasmática. O autor encontrou que temperaturas altas diminuem a viscosidade do citoplasma. De acordo com COWDRY (1924), citado por SAX (1937), os ásteres não são suprimidos apenas por agentes que diminuem a viscosidade do citoplasma, mas também, por aqueles que aumentam a viscosidade. Os efeitos das temperaturas altas e baixas são reversíveis. Logo que a recuperação celular o permitir, o mecanismo do fuso passará a funcionar nas divisões celulares seguintes (SAX, 1937).

As diferenças entre anáfase I à temperatura de 30°C e 10°C são sintetizadas na Tabela 11.

Foram ainda observadas seis pontes na anáfase I e doze pontes na anáfase II. A Figura 9g mostra um desenho esquemático de uma ponte na anáfase I. Em nenhum caso foi possível a identificação do segmento acêntrico. DARLINGTON (1938) atribuiu a presença

Tabela 11. Sumário Relativo aos Dados de Frequência Obtidos nos Estudos de Anáfases I de Rhoeo spathacea. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

Segregações Cromossômicas	Temperatura ambiente (30°C)		Temperatura de 10°C	
	Nº	%	Nº	%
6:6	130	69,15	52	50,98
5:7	26	13,80	2	1,96
5:1:6	24	12,76	36	35,30
5:2:5	2	1,10	4	3,92
Outras	6	3,19	8	7,84
Total	188	100,00	102	100,00

de pontes em T. paludosa ao efeito de choques de temperatura. Aparentemente, a temperatura tem produzido inversões nos cromossomos das células pré-meióticas, seguidas de "crossing-over" no segmento invertido, produzindo a típica cromátide unida e o segmento acêntrico (SAX, 1937).

O estudo de células em telófase I revelou, também que problemas no fuso impediram que cromossomos atrasados chegassem aos polos. Foi observado grande número de células em telófase I, onde os cromossomos atrasados não foram incluídos nos novos núcleos. Células com este tipo anormal de telófase I também foram encontradas em menor número em plantas que cresciam à temperatura de 30°C.

O aumento da esterilidade presente no pólen é a consequência genética que vem demonstrar a existência de irregularidades na meiose. O número médio de pólenes viáveis decresceu de 45% (30°C) para 40,33% (10°C). Além dos fatores que normalmente produzem semi-esterilidade em Rhoeo, a ação de condições ambientais extremamente desfavoráveis deve ter contribuído para aumentar o grau de esterilidade do pólen.

A mitose no pólen foi observada em 23 células (Tabela 12). Uma contagem no número de cromossomos mostrou que houve um decréscimo no número de pólenes com sete cromossomos e um relativo aumento no número de pólenes com seis cromossomos (Tabela 12). A diminuição do número de pólenes



Tabêla 12. Comparação entre os Dados Obtidos para Viabilidade e Número de Cromossomos de Grãos de Pólen de Rhoeo spathacea, Crescendo a Temperatura Ambiente e a 10°C. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

Variáveis Estudadas	Temperatura Ambiente(30°C)	Temperatura de 10°C
Número de plantas	9	4
Número de pólen analisados	8428	4254
% de pólen viável variou de	36,40-54,70	27,67-48,29
% média de pólen viáveis	45,00	40,33
Número de plantas com pólen em mitose	9	4
Número de pólen em mitose	106	23
% de pólen com 6 cromossomos	75,00	78,26
% de pólen com 7 cromossomos	25,00	21,74

com sete cromossomos deve ser resultante do decréscimo do número de células com a distribuição 5:7, na anáfase I.

Em muitos aspectos, as anormalidades induzidas pelo tratamento com temperatura são similares às provocadas por outros agentes, como raio-X, luz ultra violeta, injúrias mecânicas, pressão osmótica e fatores genéticos (SAX, 1937).

#### Características Metafásicas dos Cromossomos Somáticos de *Rhoeo spathacea*

O estudo da metáfase mitótica de *R. spathacea* permitiu um melhor conhecimento dos cromossomos individuais de *Rhoeo* e veio confirmar as declarações de BELLING (1927), FLAGG (1958), SATTERFIELD & MERTENS (1972) de que a espécie é portadora de  $2n = 12$  cromossomos.

Medidas cromossômicas obtidas com o micrômetro adaptado à lente do microscópio (Método 1) permitiram calcular o comprimento absoluto médio dos cromossomos, cujo valor é 8,54 $\mu$ . FLAGG (1958) afirmou que os cromossomos de *Rhoeo* apresentam grande tamanho.

No reconhecimento dos cromossomos, elaboração do cariótipo e idiograma, foram utilizados o comprimento relativo e a posição do centrômero, estabelecidas pelos índices centroméricos e relação de braços, LEVAN et al. (1964)

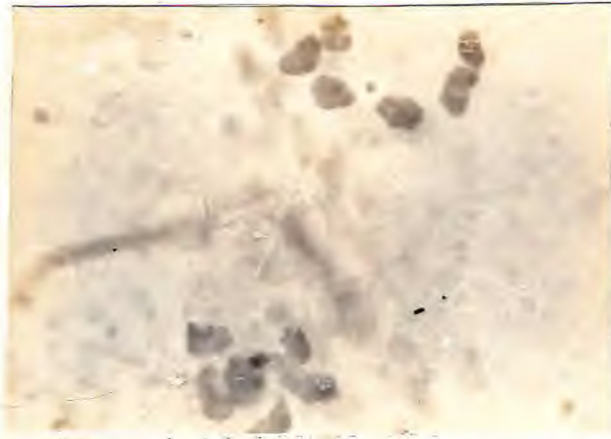
apontaram a localização do centrômero como o mais vantajoso marco para identificação morfológica dos cromossomos.

Nas sete metafases selecionadas para análise não foram identificados marcadores citológicos como "Knobs" e regiões heterocromáticas características de algumas espécies tal como milho, Zea mays. Alguns cromossomos apresentavam formações semelhantes a constrictões secundárias. Como estas não estavam bem individualizados, não é possível afirmar quantas existem em Rhoeo e em que cromossomos se encontram. O número de constrictões secundárias está relacionado com o número de nucléolos e com o nível de ploidia presentes na espécie. BHADURI (1942), citado por LIN & PADDOCK (1973)<sup>1</sup>, concluiu que o número máximo de nucléolos presentes em um núcleo somático de Rhoeo é oito, entretanto, nenhum núcleo foi encontrado pelo autor, em que todos os oito pudessem ser vistos. LIN & PADDOCK (1973)<sup>1</sup> observaram seis constrictões secundárias em cada núcleo meiótico de Rhoeo, sendo que três pertenciam ao complexo  $\alpha$  e três ao complexo  $\beta$ . Como não existem evidências de que Rhoeo seja basicamente poliplóide, o grande número de nucléolos presentes na espécie pode ser interpretado com base na permuta de segmentos, demonstrando desta maneira, a presença de translocações em R. spathacea.

A comparação entre cromossomos meióticos e mitó

tivos de Rhoeo Figuras 10a e 10b, mostra a existência de uma diferença de tamanho entre os cromossomos nos dois tipos de divisão. Os cromossomos meióticos apresentam-se menores do que os mitóticos. Esta diferença torna-se mais acentuada se os cromossomos mitóticos não tivessem sido tratados com colchicina. Esse pré-tratamento utilizado em estudos mitóticos, acarreta o encurtamento dos cromossomos (BANDEL, 1971). Além disto a colchicina aumenta a espiralização e provoca diminuição no comprimento cromossômico (GOTTSCALK, 1972). Segundo SAX (1935) a redução do comprimento dos cromossomos meióticos de Rhoeo é devida à contração linear da série de genes, ao maior enovelamento do cromonema e à formação das espirais maiores e menores.

Os dados do comprimento relativo (em % do lote diplóide) dos índices centroméricos e da relação de braços, calculados a partir de medidas feitas pelos métodos 1 e 2, são apresentadas nas Tabelas 13 e 14. Estas tabelas também contêm as médias, desvios-padrão e coeficientes de variação. Diferenças entre coeficientes de variação indicam que há diferentes graus de contração entre os cromossomos das sete metáfases analisadas. O grau de contração dos cromossomos depende de uma série de fatores que, segundo RISSI *et al.* (1975), podem ser agrupados em dois tópicos: fatores fisiológicos e técnicas citológicas. A média das medidas encontradas pelos métodos 1 e 2 são apresentadas na Tabela 15.



(a)



(b)

Figura 10. Comparação entre Cromossomos Meióticos (a) e Cromossomos Mitóticos (b) de Rhoeo spathacea. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

Tabela 13. Comprimento Relativo, Relação de Braços e Índices Centroméricos dos Cromossomos na Metáfase Mitótica de Rhoeo spathacea. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

MÉTODO 1									
Cromossomos	Comprimento Relativo			Índice Centromérico $i=100s/c$			Relação de Braços $r=l/s$		
	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação	Média	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação	Média	Desvio Padrão	Coefficiente 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

Tabela 14. Comprimento Relativo, Relação de Braços e Índices Centroméricos dos Cromossomos na Metáfase Mitótica de *R. spathacea*. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

MÉTODO 2									
Cromossomos	Comprimento Relativo			Índice Centromérico $i=100s/c$			Relação de Braços $r=l/s$		
	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
2	10,32	1,19	11,53	47,28	0,95	2,01	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
4	8,15	0,61	7,48	42,28	1,81	4,28	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
6	7,72	0,81	10,49	39,28	1,89	4,81	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
8	7,98	0,68	8,52	36,14	2,27	6,28	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
10	8,33	0,70	8,40	32,00	2,71	8,47	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
12	8,21	1,09	13,28	25,57	4,12	16,11	2,74	0,62	22,63

Tabela 15. Média dos Comprimentos Relativos, Relação de Braços e Índice Centromérico dos Cromossomos na Metáfase Mitótica de R. spathacea, Obtidos pelos Métodos 1 e 2. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

Cromossomos (a)	Comprimento relativo (b)	Índice centromérico (c)	Relação de braços (d)	Classificação (e)
1	9,03b	49,50a	1,02	metacêntrico
2	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



A classificação dos cromossomos de Rhoeo em metacêntricos e submetacêntricos foi feita comparando as médias da Tabela 15 b e c com os valores da Tabela 1.

As Figuras 11 a, b e c mostram uma metáfase analisada, o respectivo cariótipo e o idiograma de R.spathacea. Os cromossomos, no cariótipo e no idiograma, aparecem enumerados de um a doze, obedecendo à ordem do mais metacêntrico ao mais submetacêntrico. As diferenças entre comprimentos e posições dos centrômeros nos doze cromossomos aparecem mais claramente no idiograma do que no cariótipo, isso porque, no cariótipo, os cromossomos apresentam curvaturas que dificultam a comparação. Além disso, na elaboração do idiograma trabalhamos com valores médios, o que corrige, em parte, as diferenças decorrentes do processo de espiralização.

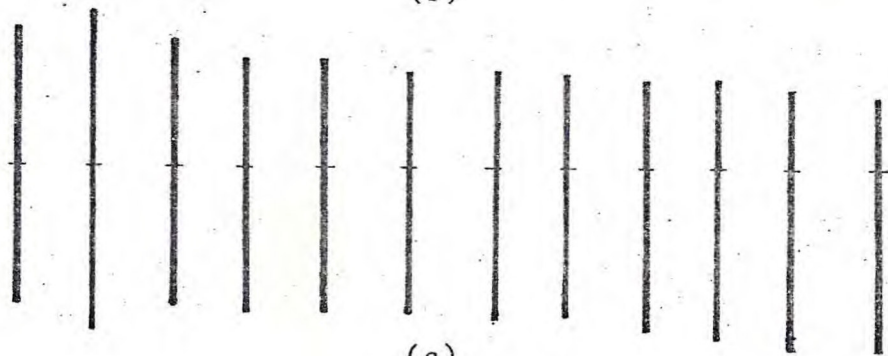
A análise da variância mostrada na Tabela 16 indica que não foram estatisticamente significativa as pequenas variações entre as medidas obtidas pelos métodos 1 e 2 e a interação comprimento x métodos. Todavia, houve diferenças significativas entre os comprimentos dos cromossomos. O teste de Tukey aplicado às médias da Tabela 15 (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



(a)



(b)



(c)

Figura 11. (a) Metáfase Mitótica Analisada. (b) Cariótipo.  
 (c) Idiograma de Rhoeo spathacea. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1979.

Tabela 16. Análise de Variância da Relação Comprimento Relativo/Métodos Utilizados para Medir os Cromossomos de Rhoeo spathacea. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Comprimento dos Cromossomos	11	76,170	6,920	7.770*
Métodos	1	0,406	0,406	0,460
Interação	11	2,390	0,220	0,240
Tratamentos	(23)	78,970		
Resíduo	144	128,100	0,890	
Total	167	207.100		

\* - Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

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 (1971), 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 (1958); LIN E PADDOCK (1973)<sup>1</sup>, de que nenhum dos cromossomos de Rhoeo é estruturalmente semelhante a outro, não foram encontradas diferenças significativas entre todos os  $2n = 12$  cromossomos de Rhoeo.

A análise estatística calculada pelos valores dos índices centroméricos, apresentada na Tabela 17 revela diferenças significativas para a posição dos centrômeros em alguns cromossomos. Foram também significativas, ao nível de 5%, as diferenças entre os métodos 1 e 2. A pequena diferença encontrada entre os métodos utilizados para medir cromossomos deve ter sido produzida pela sobreposição de cromossomos na área do centrômero. Quando se utiliza o método 1 (medidas cromossômicas feitas diretamente na metáfase escolhida, com auxílio do microscópio), é possível a observação de objetos superpostos o que não ocorre quando

Tabela 17. Análise de Variância da Relação Posição do Centrômero/Métodos Utilizados para Medir os Cromossomos de Rhoeo spathacea. Fortaleza, Ceará, Brasil. 1979.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Posição do Centrômero	11	8388,60	762,60	151,00*
Métodos	1	20,73	20,73	4,096*
Interação	11	52,34	4,76	0,94
Tratamento	(23)	8461,67		
Resíduo	144	728,00	5,06	
Total	167	9189,67		

\* - significativo ao nível de 5% de probabilidade.

se utilizam o método 2 (medidas em fotografias de metáfases). No último caso, uma sobreposição envolvendo a zona do centrômero pode levar a pequenas diferenças nas medições. A comparação entre as médias pelo teste de Tukey , permitiu a obtenção dos resultados mostrados na Tabela 15 (coluna c).

## RESUMO E CONCLUSÕES

Os efeitos do choque de baixa temperatura sobre a divisão meiôtica de R. spathacea bem como a identificação dos cromossomos somáticos em células meristemáticas do ápice de raízes, foram estudados no presente trabalho.

Na primeira etapa do estudo, analisou-se o processo meiótico em nove plantas de Rhoeo, mantidas em casa de vegetação, à temperatura média de 30°C. Os resultados obtidos no estudo da meiose, em células mãe do pólen destas plantas, foram comparados com os observados em cinco plantas, à temperatura de 10°C, por 15 dias.

As plantas tratadas com baixa temperatura (10°C) revelaram a presença das seguintes anormalidades na microsporigênese:

1 - Novos tipos de anéis e grande número de univalentes foram encontrados nas células em Diacinese e Metáfase I, indicando que baixa temperatura pode provocar um rearranjo nas translocações de R. spathacea e inibir, total ou parcialmente, o pareamento cromossômico e a formação de quiasma. O número de quiasmas terminais por célula decresceu de 11,2 (30°C) para 10,7 (10°C). A diferença entre estas médias foi significativa ao nível de 5%. O número médio de quiasmas terminais por par de braços cromossômicos também diminuiu de 0,97 (30°C) para 0,87 (10°C).

2 - Anormalidades na Diacinese e Metáfase I provoca

ram decréscimo no número de anáfases I com a distribuição normal 6:6, e distúrbios no mecanismo do fuso acromático impediram que cromossomos atrasados das distribuições 5:1:6 e 5:2:5 chegassem aos polos diminuindo, desta maneira, o número de anáfases I com distribuição 5:7.

3 - Pontes de inversão foram observadas nas anáfases I e II. Aparentemente, a temperatura baixa produziu inversões nos cromossomos das células pré-meióticas.

4 - Problemas no mecanismo do fuso também causaram o aparecimento de um grande número de Telófases I anormais.

5 - O número médio de pólenes viáveis decresceu de 45% (30°C) para 40,33% (10°C). A ação de condições ambientais extremamente desfavoráveis deve ter contribuído para aumentar o grau de esterilidade do pólen.

A segunda etapa do trabalho foi realizada com células em mitose provenientes do ápice de raízes. O estudo dos cromossomos somáticos em sete Metáfases analisadas forneceu os seguintes dados a respeito dos cromossomos somáticos de Rhoeo.

1 - Os cromossomos de células somáticas de R. spathacea apresentam grande tamanho com uma média de 8,54 $\mu$ . Não apresentam "Knobs" nem regiões heterocromáticas. Alguns mostraram formações semelhantes a constricções secundárias, entretanto, não foi possível afirmar quantas existem na espécie.



2 - Os cromossomos mitóticos apresentaram-se maiores do que os meióticos.

3 - Os dados do comprimento relativo, dos índices centroméricos e da relação de braços, obtidos por dois métodos, permitiram estabelecer que R. spathacea apresenta cromossomos metacêntricos e submetacêntricos.

4 - O comprimento relativo não variou muito entre os doze cromossomos de Rhoeo. Maiores diferenças foram encontradas entre a posição dos centrômeros nos doze cromossomos.

## LITERATURA CITADA

- BROWN, W.V. (1972) Textbook of Cytogenetics. The C.V. Mosby Company Saint Louis.
- BAKER, R.F. & MERTENS, T.R., (1975), Meiosis in variegated and anthocyaninless varieties of Rhoeo. The Journal of Heredity. 66: 381 - 383.
- BANDEL, G., (1971), A técnica do esmagamento para estudo de cromossomos em plantas. O Solo, ano LXII, nº 2, Piracicaba, pp. 35 - 39.
- BELLING, J., (1927) The attachments of chromosomes at the reduction division in flowering plants. Joun. Gen. 18: 177 - 205.
- BODANESE-ZANETTINI, M.H., M.I.B. DE MORAES FERNANDES., and SALZANO, F.M. (1979). Cytogenetic studies in two Brazilian wheart cultivars under natural and controled temperature conditions. Rev. Brasil. Biol., 39 (3):551-557.
- BURNHAM, C. R., (1930) Genetical and cytological studies of semisterility and related phenomena in Maize. Proc. Nat. Acad. Sei. 16: 269 - 277.
- COLEMAN, L.C., (1941) The relation of chromocenters to the differential segments in Rhoeo discolor Hance. Amer. Jour. Bot. 28: 742 - 748.

DARLINGTON, C.D., (1936) The limitation of crossing-over in Oenothera. Jour. Bot. 28: 742 - 748.

\_\_\_\_\_, (1931) Cytological theory of inheritance in Oenothera. Jour. Genet. 24: 403 - 474.

\_\_\_\_\_, (1937) Recent Advances in Cytology. P. Blakiston's Son and Co., Inc., Philadelphia.

\_\_\_\_\_, (1938) Chromosome behaviour and structural hybridity in the Tradescantiae. II. Jour. Genet. 35: 259 - 280.

DESAI, S., (1965) A cytological study of a triploid Rhoeo discolor. Cytology. 30: 260 - 265.

FLAGG, R.O., (1958) A mutation and an inversion in Rhoeo discolor. J. Hered. 49: 185 - 188.

GOTTSCHALK, W., (1972) The study of evolutionary problems by means of cytological methods. Egypt. J. Genet. Cytol. 1 : 73 - 84.

KOLLER, P.C., (1932) Further studies in Tradescantia virginiana var. humilis and Rhoeo discolor. Jour. Genetics 26: 81 - 96.

LEVAN, A.; FREDGA, K. & SANDBERG, A.A. (1964) Nomenclature for centromeric position of chromosomes. Hereditas. 52 (2): 201 - 220.

LIN, Y.J. & PADDOCK, E.F. (1973<sup>1</sup>) Ring-position and frequency of adjacent distribution of meiotic chromosomes in Rhoeo

spathacea. Am. J. Botany 60 (7): 685 - 690.

LIN, Y.J. & PADDOCK, E.F. (1973<sup>2</sup>) Ring-position and frequency of chiasma failure in Rhoeo spathacea. Am. J. Botany 60: 1023 - 1027.

MCCLINTOCK, B. (1930) A cytological demonstration of the location of an interchange between two non - homologous chromosomes of Zea mays. Proc. Nat. Acad. Sci. 16: 791 - 796.

MERTENS, T.R. (1973) Meiotic chromosome behavior in Rhoeo spathacea. J. Hered. 64: 365 - 368.

RISSI, R.; BANDEL, G. & KIMOTO, T. (1975) O cariótipo da cebola e suas implicações taxonômicas. O Solo, ano LXVII, nº único, 16 - 21.

SATTERFIELD, S.K. & MERTENS, T.R. (1972) Rhoeo spathacea: A tool for teaching meiosis and mitosis. J. Hered. 63:375-378.

SAX, K. (1931) Chromosome ring formation in Rhoeo discolor. Cytologia, 3: 36 - 53.

\_\_\_\_\_. (1935) Chromosome structure in the meiotic chromosomes of Rhoeo discolor Hance. Jour. Arnold. Arboretum 16:216-224.

\_\_\_\_\_. (1937) Effect of variations in temperature on nuclear and cell division in Tradescantia. Amer. J. Bot. 24: 218-225.

- SIMMONDS, N.W. (1945) Meiosis in tropical Rhoeo discolor.  
Nature 155: 731.
- STEARNS, W.T. (1957) The boat - lily (Rhoeo spathacea). Baileyana.  
5: 195 - 198.
- STRAUB, J. (1936) Untersuchungen zur Physiologie der  
Meiosis II. Z. Bot. 30: 1 - 57.
- SWANSON, C.P. (1940) The distribution of inversions in  
Tradescantia. Genetics 25: 438 - 465.
- WALTERS, M.S., & GERSTEL, D.U. (1948) A cytological investigation of tetraploide Rhoeo discolor. J. Hered. 49: 185 - 188.
- WIMBER, D.E. (1968) The nuclear cytology of bivalent and ring forming Rhoeos and their hybrids. Am. J. Botany. 55: 572 - 574.
- ZIMMERMAN, E. (1968) Mechanism of non disjunctional chromosome distribution and the causes of pollen sterility in Rhoeo spathacea. Chromosoma. 25: 215 - 248.