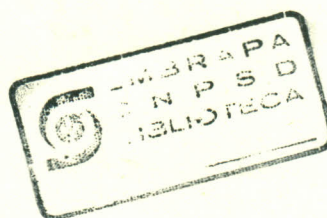


E M B R A P A

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SERINGUEIRA E DENDÊ - C N P S D



PESQUISAS-TÉCNICAS DE CONTAGEM DE CROMOSSOMAS

ANTONIO PESSOA REBELLO

Técnico de Laboratório

MANAUS-AMAZONAS/1981

FOL
1785

A P R E S E N T A Ç Ã O

O presente relatório mostra três técnicas que foram utilizadas para contagem de cromossomas em primórdios foliares, raízes e flores no Departamento de Botânica do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA).

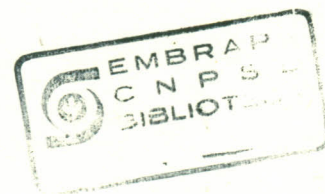
Estagiamos no período de 26/01/81 a 06/02/81, sob a orientação da Dra. Izonete de Jesus Araújo Aguiar.

No decorrer deste, apresentaremos as técnicas realizadas com os devidos resultados.

O B J E T I V O

Tomar conhecimento das técnicas de conta
gem de cromossomas em primórdios foliares ,
e raízes de seringueira, classificando assim
a de melhor adaptação, para posterior apli
cação dentro da pesquisa a ser realizada.

RELATÓRIO



- PESQUISA : técnicas de contagem de cromossomas.
- NÚMERO DE TESTES : 60 lâminas analisadas.
- TECIDO : primórdios foliares e raízes do clone IAN 8000 e flores (grãos de pólen) *Hevea camargoana*.
- MATERIAL TÉCNICO UTILIZADO : - pinças
- bisturi cirúrgico
- estilete
- placas de petri
- lâminas
- lamínulas
- lamparina de álcool
- SOLUÇÕES UTILIZADAS : - fixador Carnoy
- água sulfurosa
- reativo de Schiff
- orceína acética
- carmim acético
- ácido clorídrico 5N
- ácido acético 50%
- álcool 70 e 95%
- TÉCNICAS ESTUDADAS : 1ª - Reação de Feulgen (original)
2ª - Reação de Feulgen (adaptada para primórdios foliares e raízes).
3ª - Reação Feulgen [adaptada para flores(grãos de pólen)].

DESCRIÇÃO DAS TÉCNICAS

1.^a - Reação de Feulgen (original)

a) fixar os primórdios foliares ou raízes no fixador Carnoy de 1 a 24 horas.

b) lavar em água destilada por duas vezes, por 5 minutos cada.

c) colocar uns (de 3 a 6) primórdios foliares ou raízes nas seguintes soluções:

c.1) - Solução de HCL5N a temperatura ambiente por 15 minutos e agitar a cada cinco minutos.

c.2) - Solução de HCL5N a temperatura ambiente por 30 minutos e agitar a cada 5 minutos.

c.3) - Solução de HCL5N a temperatura ambiente por 1 hora, usando o processo anterior.

d) lavar novamente em água destilada para interromper a hidrólise.

e) colocar os primórdios foliares ou raízes no reativo de Schiff e deixar por 30 minutos.

f) lavar 2 vezes em água sulfurosa, 10 minutos cada.

g) fazer o esmagamento com ácido acético a 50%. Não esquecer de usar apenas a pequena região meristemática.

OBS: Antes do esmagamento em raízes é importante não colocarmos a coifa.

h) para montagem de lâminas definitivas é necessário deixar o material numa cubeta cheia de vapores de álcool a 95% por uma noite. Depois mergulhar em álcool a 95% para deslocar a lâmina repetindo a passagem por duas ou três vezes, deixar secar e montar em Euparal.

2ª - Reação de Feulgen (adaptada para primórdios foliares e raízes).

- a) fixar os primórdios foliares e raízes no fixador Carnoy por 12 horas.
- b) lavar em água destilada duas vezes por 5 minutos.
- c) colocar os primórdios ou raízes no reativo de Schiff e deixar por 10 minutos.
- d) lavar duas vezes em água sulfurosa por 5 minutos e depois passar em água destilada.
- e) transferir para álcool a 70% por 10 minutos a temperatura ambiente.

OBS: nesta etapa o material pode ser armazenado no refrigerador para posterior utilização.

- f) fazer a coloração de acordo com Tjio e Levan ou seja, pingar uma gota deorceina acética ou carmin acético sobre a lâmina, colocar o material e aquecer levemente na chama da lamparina de álcool sem deixar ferver.
- g) pressionar a lamínula com o polegar (protegendo este com papel absorvente) a fim de tirar todo o excesso de corante, permitindo assim uma maceração homogênea.
- h) para preparação de lâminas permanentes proceder como na técnica anterior.

3ª - Reação de Feulgen (adaptada para flores)

- a) coletar o botão floral, com os botões de diferentes tamanhos.
- b) colocar os botões de tamanho diferentes no fixador Carnoy de 6 a 12 horas.
- c) transferir para álcool a 70% a temperatura ambiente.
- d) dissecar os botões dos maiores aos menores. Retire as anteras e veja em que estágio do desenvolvimento se encontra.
- e) Se encontrar grãos de pólen ou tetrades é porque o botão já está maduro. Vá escolhendo em ordem decrescente e dissecando botão por botão, até encontrar as células meristemáticas.
- f) faça a coloração pingando uma gota de orceína acética ou carmim acético e proceda da mesma forma que na técnica anterior.

ATIVIDADES

- 26.01.81 - Contato com a Dra. IZONETE DE JESUS ARAÚJO AGUIAR, sobre a possibilidade do treinamento.
- 27.01.81. - Listagem do material necessário para o desenvolvimento da pesquisa.
- 28.01.81 - Coletamos pela manhã o material (primórdios foliares) no C.N.P.S.D. e transportamos para o Departamento de Botânica do INPA. A parte da tarde destinou-se a preparação das soluções e do material a ser utilizado durante o treinamento.
- 29/30.01.81 - Coletamos novos materiais (primórdios foliares). Utilizamos então o material coletado no dia anterior na preparação de 10 lâminas no processo original da Reação de Feulgen. A tarde preparamos mais 10 lâminas, pelo processo da Reação de Feulgen nº 2.
- 02/03.02.81 - Coletamos outro material (raízes) no C.N.P.S.D. e procedemos da mesma maneira anterior.
- 04.02.81 - Coletamos diversos botões florais em diferentes estágios de desenvolvimento no C.N.P.S.D. transportamos novamente para o Departamento de Botânica do INPA, onde trabalhamos na montagem de 10 lâminas utilizando a 2ª Reação de Feulgen.

05.02.81 - Voltamos a trabalhar com os botões florais sô que utilizamos a 3ª Reação de Feulgen, onde, 10 lâminas foram preparadas e analisadas.

06.02.81 - Concluimos a pesquisa.

OBS: Das 60 lâminas analisadas somente 5 apresentaram a metafase, sendo que: 2 lâminas de primórdios foliares, 2 de raízes e 1 de flores.

CONCLUSÃO

Concluimos que a 1.^a técnica da reação original de Feulgen não nos proporcionou uma nítida visibilidade para que pudéssemos assim fazer uma contagem precisa dos números de cromossomas, quando comparada a 2.^a e a 3.^a reação adaptada. A 2.^a reação prestou-se melhor aos primórdios foliares e raízes e a 3.^a para flores (grãos de pólen).

Recomendamos a 2.^a reação de Feulgen adaptada, para contagem de cromossomas em primórdios foliares e raízes, por ser mais rápida e precisa assim como a 3.^a para contagem de cromossomas em grãos de pólen.