

PREPARAÇÃO DE CROMOSSOMOS SOMÁTICOS DE MILHO PARA BANDAMENTO-C. Mônica Rosa Bertão e Margarida L.R. Aguiar-Perecin. Depto. Genética - ESALQ/USP, Piracicaba-SP

Um aspecto importante para o desenvolvimento de técnicas de análise e identificação de cromossomos somáticos de milho, seja através de coloração convencional, bandamento-C e/ou hibridização molecular *in situ*, é a obtenção de preparações citológicas de alta qualidade, com alta frequência de metáfases e pró-metáfases nítidas em que a variabilidade do comprimento dos braços cromossômicos, decorrente da presença de knobs heterocromáticos grandes, possa ser claramente visualizada. Durante a realização de experimentos para padronização de técnicas de hibridização *in situ* foram realizados vários ensaios para a otimização da obtenção de metáfases e pró-metáfases. Foram introduzidas modificações em metodologia descrita anteriormente (Aguiar-Perecin, M.L.R., Caryol. 38:23,1985), envolvendo ensaios com o inibidor de fuso mitótico, hidroxiquinolona, e o inibidor de síntese protéica, cicloheximida, que promove condensação cromossômica. Foram realizados experimentos com a progênie F2 - M28, derivada de uma variedade flint (Jac Duro), que apresenta alto índice mitótico. A comparação de raízes pré-tratadas com: 1) 300ppm de hidroxiquinolona; 2) 300ppm de hidroxiquinolona + 25ppm de cicloheximida, durante 2:30hs em ambos os tratamentos, mostrou maior frequência de metáfases e prometáfases condensadas e de morfologia bem nítida no 2º tratamento. Foram também realizados ensaios de digestão enzimática para a maceração de raízes. A combinação de Macerozyme (R-10, Yakult) 20% e Cellulase (Serva) 2%, diluídas na mesma proporção em tampão citrato (pH4,5), por 30 minutos, a 37°C, foi bastante efetiva para a maceração de raízes para preparações coradas pelos métodos de Feulgen e de bandamento-C. A metodologia descrita mostrou-se efetiva para a obtenção de metáfases e pró-metáfases de boa qualidade em rotinas diversas envolvendo a análise de cromossomos somáticos de raízes e calos embriogênicos de milho.

Auxílio financeiro: FINEP, FAPESP, CNPq.

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MEIÓTICO EM ACESSOS POLIPLÓIDES DE *Paspalum*. Maria Suely Pagliarini, Patrícia Matias de Freitas, Suely Yumi Takayama. Depto. de Biologia Celular e Genética, UEM, Maringá-PR. e Luís Alberto Rocha Batista, CPPS/EMBRAPA, São Carlos-SP.

Atualmente, diversos projetos visando ampliar as opções de gramíneas forrageiras no país estão sendo desenvolvidos por diferentes órgãos de pesquisas. Um deles é o programa de melhoramento de *Paspalum* desenvolvido pelo Centro de Pesquisa de Pecuária do Sudeste/EMBRAPA (São Carlos-SP). Existem cerca de 280 acessos de *Paspalum* na coleção de germoplasma deste centro, sendo que alguns, por apresentarem bom potencial forrageiro, participarão nos programas de melhoramento. Ainda que o número de cromossomos já tenha sido descrito, o comportamento meiótico detalhado tem sido avaliado em apenas um número limitado de espécies deste gênero. Desse modo, o presente trabalho visa obter informações básicas relativas ao comportamento meiótico, as quais deverão contribuir significativamente para o melhor conhecimento da citologia destas espécies subsidiando os programas de melhoramento genético. Para a análise foram coletadas inflorescências, as quais foram fixadas em Carnoy por 24 horas e, em seguida, transferidas para álcool a 70% e acondicionadas em freezer. As lâminas foram preparadas por esmagamento e os microsporócitos corados com carmin propiônico a 1%. Foram analisados 60 acessos de *Paspalum* (grupo Plicatula), sendo 14 acessos de *Paspalum plicatulum*, 3 de *P. guenoarum*, 2 de *P. compressifolium*, 1 de *P. atratum*, 2 de *P. yaguaronense*, 2 de *P. conspersum* e 36 acessos de *Paspalum* sp ainda em vias de identificação. O número de células analisadas por acesso foi superior a 2000. Várias irregularidades foram encontradas em alta frequência no decorrer da meiose. Dentre elas destacaram-se cromossomos univalentes e associações cromossômicas multivalentes na fase de diacinese, ascensões precoces nas metáfases I e II, cromossomos retardatários nas anáfases I e II e presença de micronúcleos nas telófases I e II. Como consequência houve alta frequência de tétrades anormais. O número cromossômico encontrado nestes acessos foi  $2n=40$  e  $2n=60$ . Considerando que a condição diplóide do gênero é  $2n=20$ , os acessos em questão seriam tetra e hexaplóides, o que explica a alta frequência de irregularidades meióticas observada.

Apoio financeiro: CNPq

RNA RELOCATION DURING MITOSIS AND MEIOSIS IN PLANT CELLS. P.H.P.A. Schildknecht, L. Prioli and M.L.S. Mello. Depto. Biologia Celular, IB and CBMEG/UNICAMP, Campinas, SP.

A critical electrolyte concentration (CEC) method based on binding of toluidine blue molecules to nucleic acid phosphates under  $Mg^{2+}$  competitive conditions has been proposed for distinguishing RNA from DNA (Mello MLS et al., *Acta Histochem. Cytochem.* 26:1, 1993). This method relies on the principle that at the DNA CEC point, while the DNA metachromasy is abolished (green color), the RNA metachromasy is well evident (violet color). In animal cells, RNA relocation especially of the ribosomal type has been followed by the CEC method during mitosis. Here we describe by the same method the RNA relocation in root tip cells (mitosis) and anther cells (meiosis) of the maize strains L902, L922 and L922 x L160, in comparison with data for animal cells. We found that similarly to the observations for animal cells, the nucleolar RNA in plant somatic cells deeply surrounds the chromosomal plate, then moves to a region between the two sets of chromosomes in motion to the opposite cellular poles, and finally diminishes at late telophase when only a few small nucleolar globules become visible. However, nucleolus-like bodies such as those found in the cytoplasm of animal cells at the various mitotic phases were not found in the maize cells. During meiosis, as soon as the nucleolus is disrupted, a faint RNA metachromasy appeared surrounding the chromosomal mass (metaphase I) and radiating along the spindle structure (anaphase I). It was practically not observed there after, certainly because of further absence of nucleolar structures in male germ cells.

Supported by CNPq, FAPESP.

MEIOTIC BEHAVIOR OF *Passiflora setacea* (*Passifloraceae*). MARGARETE MAGALHÃES DE SOUZA, TELMA SANTANA PEREIRA, AND ALFREDO LAM-SANCHEZ. LMGV-CCTA-UENF. Campos dos Goytacazes, RJ.

In order to study the meiotic behavior of *Passiflora setacea* pollen grains mother cells were observed. Squash preparations of meiocytes were made from buds fixed in the morning with cold fixative, absolute ethyl alcohol and glacial acetic acid (3:1). Fixed buds were stored in 70% ethanol in a refrigerator. Anthers were squashed in a drop of 1% propiono-carmin. *Passiflora setacea* has eighteen chromosome as in other *Passiflora* species, and nine bivalentes at diakinesis. Occasionally, some irregularities were observed indicating that the meiosis was not completely normal. Tetrads with micronuclei were observed. The meiotic index calculated based on percentage of normal tetrads was around 90%. The meiotic index value suggests that *Passiflora setacea* is probably unstable with regards to meiosis. It became apparent that the major type of abnormality was the simple failure to pair which led to the inclusion of lagging chromosome as micronuclei in some young pollen tetrads. Other abnormalities were also observed such as non oriented metaphase I and anaphase I. These abnormalities explain the pollen grains of different sizes observed in this species. Over 90% of the normal size pollen grains were well-stained with I<sub>1</sub>KI, whereas abnormal pollen grains, small ones, were not well-stained indicating that the small pollen grains are not functional.

Financial Support: FENORTE/UENF.