

Anais da IV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental



ISSN 1517-3135

Março, 2008

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Documentos 58

Anais da IV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Occidental

Ricardo Lopes
Luadir Gasparotto
Lucinda Carneiro Garcia
Marcos Vinícius Bastos Garcia
Marinice Oliveira Cardoso
Nelcimar Reis Sousa
Editores Técnicos

Embrapa Amazônia Ocidental
Manaus, AM
2008

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM-010, Km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara
Caixa Postal 319
Fone: (92) 3621-0300
Fax: (92) 3621-0320
www.cpa.embrapa.br/sac/

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*
Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*
Membros: *Carlos Eduardo Mesquita Magalhães*
Cheila de Lima Bojink
Cintia Rodrigues de Souza
José Ricardo Pupo Gonçalves
Luis Antonio Kioshi Inoue
Marcos Vinicius Bastos Garcia
Maria Augusta Abtibol Brito
Paula Cristina da Silva Ângelo
Paulo César Teixeira
Regina Caetano Quisen

Revisor de texto: *Carlos Eduardo M. Magalhães/Síglia Regina dos Santos Souza*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito*

Diagramação: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Arte: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Fotos da capa: *Maria José Tupinambá*

1ª edição

1ª gravação em CD-Room (2008): 50

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Cip-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Amazônia Ocidental.

Lopes, Ricardo et al.

Anais da IV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa
Amazônia Ocidental / (editado por) Ricardo Lopes et al.
- Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008.
154 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos; 58).

ISSN 1517-3135

1. Pesquisa. 2. Ciência. I. Título. II. Série.

CDD 501

© Embrapa 2008

Métodos e Preparações Diferentes Indicam Números Diversos de Cromossomas para Crajiru

Natália Dayane Moura Carvalho
Paula Cristina da Silva Angelo
Francisco Célio Maia Chaves
Larissa Alexandra Cardoso de Moraes
José Jackson Bacelar Nunes Xavier

Resumo

O nome vulgar crajiru é associado à espécie *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) Verl. Na região de Manaus-AM há três tipos (I, II e III) dessa planta, que apresentam diferenças na morfologia externa. Acessos dos três tipos são mantidos na Coleção de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares por mais de uma década, sem florescer. O objetivo deste trabalho foi utilizar o método de hidrólise em HCl 5 N com esmagamento em ácido acético 45 % e retirada das lamínulas por congelamento em nitrogênio líquido, coloração com Giemsa a 2 % e montagem com Entellan para visualização em microscópio óptico para realizar a contagem dos cromossomas dos três tipos de crajiru. Para o tipo I foram contados 38 ou 40 cromossomas. Para os tipos II e III foram contados 40 ou 42. Esses resultados foram discutidos e comparados com resultados obtidos anteriormente no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Amazônia Ocidental em Manaus, onde foram contados 38, 38 e 48 a 50 cromossomas por núcleo para os tipos I, II e III, respectivamente. Métodos e preparações diferentes indicaram números diversos de cromossomas para crajiru.

Termos para indexação: *Arrabidaea*, fitoterapia, citogenética.

Introdução

Crajiuru é um nome comum pelo qual é reconhecida a *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) Verl., uma planta escandente da família Bignoniaceae. O chá das folhas de crajiuru é utilizado na medicina tradicional como adstringente, antiespasmódico, no tratamento da leucemia e da anemia e na lavagem de feridas (Lorenzi & Matos, 2002).

Na região de Manaus existem pelo menos três tipos de crajiuru, sendo mais freqüentemente encontrado em quintais o tipo I. Os tipos I, II e III apresentam diferenças de hábito e de morfologia externa das folhas. Dos acessos mantidos na Coleção de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares da Embrapa Amazônia Ocidental, o tipo I é um arbusto ereto, que apresenta folhas trifolioladas, com folíolos lanceolados. Os tipos II e III apresentam-se como arbustos e têm características de plantas escandentes tais como ramos novos pouco lenhosos e muito flexíveis. No tipo II, as folhas inseridas nos dois nós mais apicais apresentam uma gavinha muito delicada, ladeada por dois folíolos elípticos. Os três entrenós apicais são mais longos que os restantes de um mesmo ramo e as folhas inseridas a partir do terceiro nó são trifolioladas e não apresentam gavinhas. No tipo III, as folhas inseridas até o terceiro ou quarto nó podem apresentar gavinhas robustas ladeadas por dois folíolos elípticos e largos. Os quatro ou cinco entrenós apicais são longos e bastante flexíveis e as folhas inseridas a partir do terceiro ou quarto nó são trifolioladas. Entre esses tipos, o tipo II se assemelha à exsicata de *A. chica* var. *acutifolia*, mantida no New York Botanical Garden⁽¹⁾. Uma característica que parece comum a todos os tipos e que dificulta a sua identificação taxonômica é a ausência de flores nas condições da Amazônia, pois todos os relatos de coleta nessa região mencionam apenas material estéril.

Análises fitoquímicas preliminares do extrato bruto das folhas desses três tipos de crajiuru indicaram a presença de taninos, flavonóides e saponinas. O perfil do extrato metanólico do morfotipo III foi menos intenso no sistema clorofórmio-acetato de acetila (1:1) em sílica gel e os autores consideraram necessário dar continuidade à investigação química para identificar marcadores químicos específicos para cada um

⁽¹⁾ A foto da exsicata de *A. chica* var. *acutifolia* foi consultada na página da internet mantida pelo New York Botanical Garden (http://www.nybg.org/bsci/online_pubs.html, consulta em julho de 2006).

O objetivo deste trabalho foi utilizar o método desenvolvido por Guerra (2002), com e sem modificações, para contagem dos cromossomas dos três tipos de cajú.

Material e Métodos

Para realizar o método desenvolvido por Guerra (2002) foram utilizados dois pré-tratamentos para tecidos de brotos foliares, sendo: **a)** 8-hidroxiquinoleína 0,002 M + 1-bromonaftaleno saturado + 1 gota de óleo de rícino por 4 horas, à temperatura ambiente, fixados em Carnoy (etanol: ácido acético 3:1) por 6 horas e em seguida estocados na geladeira, até a preparação das lâminas; **b)** 8-hidroxiquinoleína 0,002 M por 24 horas na geladeira (12 °C), fixados em Carnoy por 6 horas e estocados novamente na geladeira até a preparação das lâminas. Na preparação das lâminas, os tecidos de brotos foliares foram lavados em água destilada, com troca a cada 5 minutos, por duas vezes; em seguida, hidrolisados em HCl 5 N, à temperatura ambiente por 20 minutos e armazenados em água destilada. Os tecidos foram isolados com auxílio de uma lupa (estereomicroscópio) e esmagados em ácido acético 45 %. As lâminas foram retiradas por congelamento em nitrogênio líquido e as lâminas foram deixadas para secar ao ar. Posteriormente foram coradas com Giemsa 2 % com tampão fosfato pH 6.8 por 6 minutos e montadas com Entellan. Todas as preparações foram visualizadas em microscópio óptico. As preparações foram realizadas no Laboratório de Citogenética da Universidade Federal de Pernambuco. O método de Guerra (2002) está descrito na letra **b**, acima.

Resultados e Discussão

Artigos científicos em que esteja definido o número diplóide de cromossomas para plantas com nome vulgar de "cajú" ou nome científico "*A. chica*" não foram localizados. Há, por outro lado, muitos trabalhos relacionados com a sua utilização na medicina tradicional.

Nas análises aqui relatadas foram utilizados dois métodos para o pré-tratamento, a fixação e a hidrólise de tecidos meristemáticos dos três tipos de cajú, com o objetivo de observar células na fase da metáfase mitótica, quando os cromossomas são mais facilmente visualizados devido à maior contração e individualização (Guerra, 1985).

Os pré-tratamentos utilizados neste trabalho incluíram a hidroxiquinoleína (8-HQ) e o bromonaftaleno. Ambos têm função de penetrar rapidamente nos tecidos, inibindo o fuso mitótico nas células em metáfase e permitindo o espalhamento dos cromossomas durante o esmagamento. As diferenças entre os pré-tratamentos a e b utilizados foram a combinação dessas substâncias antimitóticas com o óleo de rícino, que tem a finalidade de separar as células no esmagamento, a duração e a temperatura dos pré-tratamentos. Os melhores resultados foram alcançados com a inclusão do óleo de rícino e manutenção do pré-tratamento por 4 horas, à temperatura ambiente (método a, Fig. 1), que é uma modificação do pré-tratamento desenvolvido por Guerra (2002).

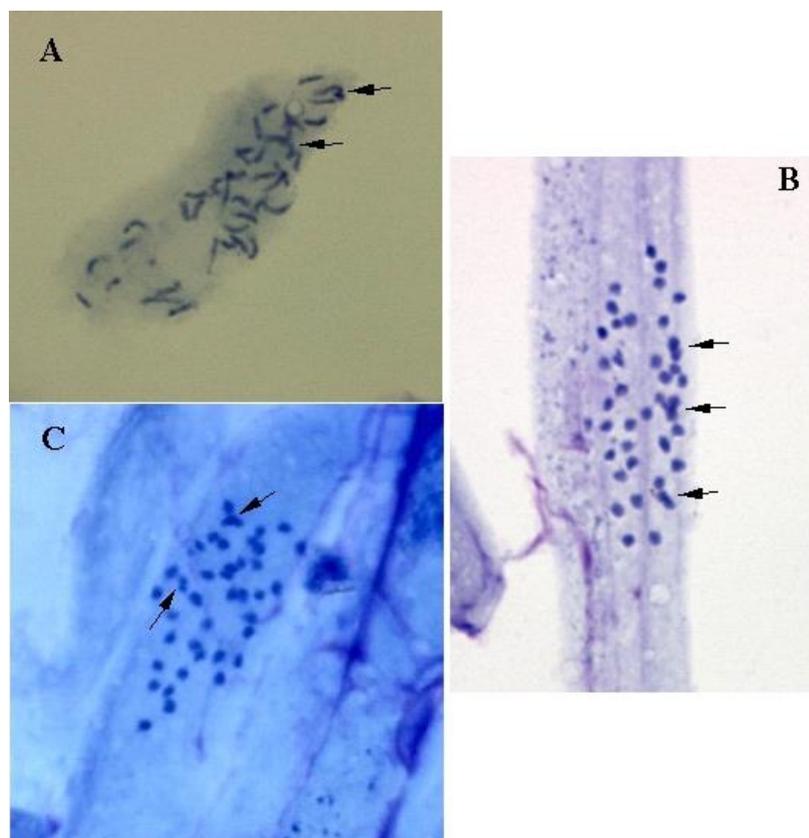


Fig. 1. Cromossomas de crajiçu, corados com Giemsa 2 %, em aumento de 1.000 x.

Os passos seguintes para a preparação das lâminas seguiram o método de Guerra (2002) sem modificações. O fixador desidrata os tecidos e mantém a estrutura dos cromossomas. Segundo Walker (1973), citado por Penázola (2005), a principal função do fixador é permitir a coagulação e precipitação das proteínas, mantendo a forma e a estrutura do conteúdo celular, promovendo a conservação por longos períodos, sem decomposição.

A hidrólise foi realizada com HCl 5 N, que permitiu espalhamento suficiente e a visualização dos cromossomas. A hidrólise ácida amolece a parede celular (Fox, 1969 citado por Guerra, 1999), permitindo o melhor espalhamento das células e dos cromossomas, tornando o citoplasma transparente. Nos trabalhos anteriores do mesmo autor foi utilizada a hidrólise enzimática com celulase e pectinase (Carvalho et al., 2006). A hidrólise enzimática tem como objetivo decompor as celuloses, as hemiceluloses e as pectinas que envolvem as células e estruturam os tecidos, expondo a membrana plasmática e permitindo o entumescimento da célula e espalhamento dos cromossomas (Mondin & Docha Neto, 2006).

Em diversas células metafásicas de plantas do tipo I foram contados anteriormente 38 cromossomas (Carvalho et al., 2006). Neste trabalho, em uma única preparação de melhor qualidade, foram contados 38 ou 40 cromossomas, devido à possibilidade de ter ocorrido sobreposição (Fig. 1A, setas). Para esse tipo de cajuru, o número de cromossomas mais provável é, portanto, 38.

Para o tipo II, nas melhores preparações, foram contados 38 cromossomas anteriormente (Carvalho et al., 2006). Com o método utilizado para o presente trabalho foram contados 40 ou 42 cromossomas, pois persistiram as hipóteses, em um ponto, de haver um par de cromossomas muito próximo e um outro par sobreposto (Figura 1B, setas). Para o tipo III foram contados anteriormente 48 ou 50 cromossomas (Carvalho et al., 2006) e 40 ou 42 cromossomas por núcleo diplóide, neste trabalho (Fig. 1C).

Os tipos II e III da planta são semelhantes morfológicamente, sendo alguns órgãos, no tipo III, como folhas e gavinhas, apenas maiores e mais robustos. A poliploidia para o tipo III que havia sido anteriormente considerada uma hipótese para explicar essas diferenças morfológicas (Carvalho et al.) não foi demonstrada pela contagem do número de

cromossomas. Sendo assim, o número diplóide de cromossomas desses dois últimos tipos de cajuru, que provavelmente são variedades da mesma espécie, deve estar próximo de 40. As preparações realizadas seguindo o método de Guerra (2002) com modificações proporcionaram melhor visualização dos cromossomas, se comparadas com os resultados obtidos anteriormente. Ainda assim, será necessário repetir os experimentos para que seja possível determinar, com base em um número maior de boas preparações, o número diplóide de cromossomas para as plantas de cajuru mantidas na Embrapa.

Conclusão

O tipo I de cajuru tem provavelmente 38 cromossomas por núcleo diplóide e os tipos II e III, que são provavelmente variedades da mesma espécie, têm número cromossômico próximo de 40.

Agradecimentos

Ao CNPq/MCT, pelo financiamento do projeto RENARGEN - Rede Nacional de Recursos Genéticos e pela bolsa de Iniciação Científica para a primeira autora.

Aos laboratoristas da Embrapa Amazônia Ocidental Sérgio Araújo da Silva (Laboratório de Fisiologia Vegetal) e Jéferson Chagas da Cruz (Laboratório de Biotecnologia Vegetal), pelo apoio técnico.

Ao Professor Dr^o Marcelo Guerra pela orientação durante o estágio voluntário na UFPE.

Referências

CARVALHO, N.D.M.; ANGELO, P.C.S.; CHAVES, F.C.M.; MORAIS, L.A.C; XAVIER, J. J. B. N. Avaliação preliminar do cariótipo de três morfotipos de cajuru. In: **II Encontro de Genética da Região Norte**, 2006. Belém. Anais, Belem: II Engenor, 2006. p. 16

CARVALHO, N.D.M.; ANGELO, P.C.S.; CHAVES, F.C.M.; MORAES, L.A.C; XAVIER, J. J. B. N. Avaliação inicial do número diplóide de cromossomas de três tipos da planta medicinal conhecida vulgarmente como cajuru. In: **III Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus. Anais, Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental (no prelo).

GUERRA, M. Hematoxylin: a simple, multiple-use dye for chromosome analysis. **Genetics and Molecular Biology**, v.22, n.1, p. 1-7, 1999.

GUERRA, M. Os cromossomos metafásicos e o ciclo mitótico. In: GUERRA, M. (Ed.). **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: UFPE; Ed. Guanabara Koogan SA, 1985. p.1-12.

GUERRA, M. Variação e evolução cromossômica: variação numérica. In: GUERRA, M. (Ed.). **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: UFPE; Ed. Guanabara Koogan SA, 1985. P.82-101.

GUERRA, M., SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto: Ed. FUNPEC, 2002. p. 25-29

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Nova Odessa -SP: Instituto Plantarum, 2002. p.85.

MESQUITA, L.S.B.; FARIAS, A. A Análise cromatográfica comparativa dos extratos brutos das variedades de cajuru- *Arrabidaea chica* Verlot. In: **XII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS**, Manaus. **Anais**. Manaus: Ed. Amazon Graphic, 2003. p. 52.

MONDIN, M.; DOCHA NETO, A. Citogenética Vegetal enfatizando a Orchidaceae. **Orchidstudium**. v. 4. p.24-54, 2006.

PENÃLOZA, A.D.P.S. **II Curso de Citogenética Aplicada a Recursos Genéticos Vegetais**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, v.154. p.01-89, 2005.