

**ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS INDUZIDAS POR RAIOS GAMA EM
RAIZ DE CEBOLA (*Allium cepa* L.)***

**TÂNIA LUCIA MONTENEGRO STAM-
FORD**

Prof. Assistente do Dep. de Ciências Do-
mésticas da UFRPE.

EDMAR CHARTONE DE SOUZA

Prof. Assistente do Dep. de Genética da Uni-
versidade Federal de Minas Gerais.

CARLOS A. D'OLIVEIRA VENTURA

Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesqui-
sa Agropecuária (EMBRAPA-PE).

MARIA JOSÉ VALARINI

Bolsista da Fundação de Pesquisa do Estado
de São Paulo (FAPESP).

*Doses crescentes de radiação gama (40, 80, 160, 320, 640 e 800 R) foram aplicadas em células de raiz de cebola (*Allium cepa*) com os objetivos de pesquisar a influência dessas doses nas frequências de aberrações cromossômicas e nos índices mitóticos (IM). A frequência de aberrações cromossômicas para cada dose foi calculada pela contagem de fragmentos, pontes e cromossomos em anéis observados na anáfase. Os dados mostraram que de 160 a 640 R houve aumento sucessivo das frequências de aberrações cromossômicas havendo, entretanto, queda relativa de frequência na dose de 800 R. Os índices mitóticos (IM) decresceram sempre com o o crescimento das doses.*

* Trabalho realizado no Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, em 1976.

INTRODUÇÃO

As mutações ocorrem espontaneamente em frequência muito baixa. Os agentes mutagênicos químicos ou físicos aumentam essa frequência.

As radiações têm sido usadas para induzirem mutações desde os trabalhos pioneiros de MULLER⁴ (1927), quando foi usado o raio X para obter mutação em *Drosophila*.

As radiações causam tanto mutações gênicas como cromossômicas, sendo as últimas estudadas por métodos genéticos e citológicos. Células meristemáticas de raiz de cebola constituem-se em excelente material para estudos das anomalias cromossômicas.

Este trabalho foi desenvolvido com os objetivos de estudar os efeitos da radiação gama nos índices mitóticos e na frequência de aberrações cromossômicas em células meristemáticas na ponta da raiz de cebola (*Allium cepa*).

Consultando a literatura observa-se que SAX⁵(1941), usando raio X, apresentou os primeiros dados provando que as células meristemáticas da raiz de cebola representam um bom material para estudos das anáfases, principalmente quando se pesquisam anormalidades cromossômicas. Esse autor observou que a raiz deve ser cortada a um centímetro de sua extremidade pois nesse segmento são encontradas as anáfases anormais em grande número. Foi constatado que há diminuição gradativa das aberrações cromossômicas com as sucessivas divisões celulares. Esse fato foi também observado por outros autores em tecidos animais, conforme citação de LEA³(1956). Esse autor dividiu os efeitos das radiações sobre os cromossomos em dois tipos: efeitos fisiológicos e estruturais (quebras e suas conseqüências). GAUL²(1964) apud YAMAGUCHI, também considerou a anáfase como a melhor fase para se observar aberrações cromossômicas. Sugeriu que para os testes dos efeitos das doses de radiação fosse usada essa metodologia citológica.

DUBININ¹ et alii (1972), após irradiação de células no estágio G₁, observaram rearranjos cromossômicos e de cromátides.

THOMAS⁶ et alii (1975), usando radiação gama, verificaram que as condições fisiológicas do bulbo de cebola interferem nas respostas à irradiação, como por exemplo, causam descoloração dos centros de crescimentos ativos.

Finalmente, deve-se mencionar que diversos autores, incluindo alguns dos já citados anteriormente, estudaram os efeitos da radiação sobre a divisão celular concluindo que a radiação afeta seu mecanismo, diminuindo ou mesmo anulando as divisões celulares. Este efeito tende a aumentar com a elevação das doses e pode ser medido através do "índice mitótico".

MATERIAL E MÉTODOS

Os bulbos de cebola, provenientes do Instituto Agronômico de Campinas, São Paulo, foram colocados com sua parte basal mergulhada em água. Os bulbos foram suspensos por segmentos de arame para que só a região de emergência das raízes entrasse em contato com a água. Logo depois, este material foi colocado em câmara de incubação a 20°C, por 24 horas, tempo considerado suficiente para a emergência das raízes. Devido à pequena emergência observada nesse período esse tempo foi acrescido de 4 horas.

Após esse período os bulbos que apresentaram emergência considerada razoável foram irradiados (8 bulbos por dose). Usou-se as seguintes doses de radiação: 40, 80, 160, 320, 640 e 800 R. Foi montado um controle composto por 8 bulbos que não foram irradiados (dose zero).

Imediatamente após a irradiação os bulbos foram novamente incubados a 20°C, por 24 horas. Após esse tempo as raízes foram cortadas a cerca de 1 cm da extremidade e fixadas em Carnoy por 24 horas. A seguir a solução de Carnoy foi desprezada e em seu lugar foi colocado álcool 70%. Após uma hora esse álcool também foi desprezado e colocado em seu lugar mais álcool 70%, com o objetivo de lavar resíduos de Carnoy ainda existente. Todo o material foi colocado, a seguir, em refrigerador, para posterior uso.

As células meristemáticas foram observadas após tratamento com Carmin acético e esmagamento. Foram preparadas seis lâminas para cada dose, com 4 extremidades de raiz em cada uma; um mínimo de 4 campos foram observados ao microscópio em cada lâmina.

Para cada dose foram observadas e contadas um número superior ou igual a 1.482 células. Os seguintes dados foram levados em consideração:

- a) número de células observadas (em divisão ou em interfase);
- b) número de células em divisão;
- c) número de células apresentando aberrações cromossômicas na anáfase (fragmentos, pontes e cromossomos em anel)

As seguintes fórmulas foram usadas para os cálculos da frequência de aberrações cromossômicas e do índice mitótico (IM):

$$\text{IM} = \frac{\text{No. de células em divisão}}{\text{No. total de células observadas}}$$

$$\text{Freq. Abert. Crom.} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de células c/aberração}}{\text{N}^{\circ} \text{ total de células observadas}} \times 100$$

RESULTADOS

O quadro 1 apresenta os resultados parciais obtidos no presente trabalho, contendo os valores dos índices mitóticos (IM) e freqüências de aberrações cromossômicas, para as diversas doses de radiações usadas.

Quadro 1 – Valores dos índices mitóticos, das freqüências de aberrações cromossômicas, das doses de radiações, dos totais de células observadas, de células em mitose e de células com aberrações cromossômicas.

Doses (R)	Total	C é l u l a s		IM	Freq. ++ aberr.crom %
		Em mitose	Com aberr. crom. +		
800	1799	142	23	0,079	1,28
640	1756	149	29	0,085	1,65
320	1881	197	8	0,105	0,43
160	1573	169	5	0,107	0,32
80	1518	167	0	0,110	0,00
40	1907	218	0	0,114	0,00
0	1482	171	0	0,115	0,00

+ Com aberr. crom. = Com aberração cromossômica

++ Freq. aberr. crom. = Freqüência de aberrações cromossômicas.

No quadro 2 estão discriminados os diversos tipos de aberrações cromossômicas observadas na anáfase. Nota-se que o tipo de aberração mais freqüente foi a presença de pontes, em número de 32. Foram observadas 21 anáfases apresentando um fragmento, sendo 16 nas células tratadas com a dose de 640 R. É digno de nota, ainda, a presença de 4 células apresentando 2 pontes na dose 800R.

Quadro 2 – Número de células apresentando aberrações cromossômicas em sucessivas doses de radiação gama.

Doses R	A b e r r a ç õ e s			C r o m o s s ô m i c a s			Anel	Total
	1 fg ⁺	2 fg	1 pt ⁺⁺	2 pt	1 fg+1 pt	2fg+1pt		
800	1	0	17	4	1	0	0	23
640	16	2	9	0	1	1	0	29
320	1	1	4	1	0	0	0	8
160	3	0	2	0	0	0	0	5
80	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

+ fg = fragmento

++ pt = ponte

anel = cromossomo em anel

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

No quadro 1 observa-se que os valores dos índices mitóticos (IM) decrescem sucessivamente com o aumento das doses de radiações, partindo de 0,115 para o controle e chegando a 0,079 para a maior dose usada que foi de 800 R. Esses dados estão de acordo com a maioria dos dados obtidos por outros autores, conforme relato de LEA³ (1956).

As frequências de aberrações cromossômicas observadas na anáfase cresceram com o aumento das doses, atingindo o valor máximo de 1,65% para a dose de 640 R e caindo a seguir para 1,28% para a dose de 800 R. Esses dados estão de acordo com outros autores. Examinando-se ainda, o quadro 1 nota-se que nas doses mais baixas, isto é, nas doses 0 (controle), 40, 80 e 160 R nenhuma aberração foi detectada, mesmo pesquisando um grande número de células como foi o caso presente. Essa ausência de atuação da radiação gama nessas doses iniciais pode estar relacionada com o estado fisiológico dos bulbos, conforme é citado na literatura.

Pelos resultados encontrados no quadro 2 pode-se constatar que na dose de 640 R estavam presentes 16 células apresentando fragmentos, enquanto na dose de 800 R foi observada somente uma célula com essa aberração. Observa-se também que na dose de 640 R foram encontradas 9 células com pontes e em 800 R 17 células com essa anomalia. Continuando a analisar o quadro 2 verificamos ainda que na dose de 800 R foram observados 4 células apresentando 2 pontes simultaneamente, enquanto que esse fato só foi notado em uma das outras doses (320 R). Esses dados estão de acordo com a literatura.

Pelos dados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que a radiação gama atrasou a divisão celular das células meristemáticas de raiz de cebola, pois os valores dos índices mitóticos decresceram com o aumento sucessivo das doses aplicadas. Esse atraso na divisão celular é citado, entre outros, por LEA³(1956).

Por outro lado, houve um aumento na frequência de aberrações cromossômicas com o aumento das doses, mas atingiu o limite representado pela dose de 640 R. Na maior dose (800 R) houve uma queda na frequência de aberrações. Para explicar o fenômeno pode-se argumentar que a atuação das altas doses de radiação (800 R) sobre as células de cebola provocaram grande alteração fisiológica levando as células a não se dividirem ou a se dividirem com menos intensidade, fazendo com que as aberrações cromossômicas que tenham ocorrido não fossem detectadas. Outra explicação seria a ocorrência de muitas aberrações nas mesmas células tornando-as inviáveis.

ABSTRACT

Cells of onion roots (*Allium cepa*) were irradiated with gamma-rays (40, 80, 160, 320, 640 e 800 R) in order to observe the influence of these doses in the frequency of chromosomic aberrations and in the mitotic index (MI). The frequency of chromosomic aberrations was calculated by counting fragments, overpasses and chromosomes in the links observed in the anaphase. It was showed that the frequency of chromosomic aberrations increased of 160 to 640 R doses, however negative influence with relative dropping in the frequency of chromosomic aberrations was observed. The mitotic index (MI) still decreased with crescent levels of irradiation.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – DUBININ, N. P. & NEMTSEVA, L. S. Chromosome and chromatid rearrangement as the result of radiation treatment in the G₁ stage of cells of *Allium cepa* seeds. *Fisiologia e Genetika*, 6(2):99-102, 1972. Apud PLANT BREEDING ABSTRACTS, Cambridge, 45, 1975. Abstract.
- 2 – GAUL, H. *Radiation Botany*, Elmsford, 4:155, 1964. Apud YAMAGUCHI, H. *Radiação aplicada na agricultura*. Piracicaba, Instituto de Genética, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, 1968.
- 3 – LEA, D. E. *Actions of radiations on living cells*. Cambridge, University Press, 1956. 416 p.
- 4 – MULLER, H. J. Artificial transmutation of the gene. In: PETERS, James A. ed. *Classic papers in genetics*. Englewood Cliffs. Prentice-Hall, 1959. p.149-55.
- 5 – SAX, K. & SWANSON, C. P. Differential sensitivity of cells to X-rays. *American Journal of Botany*, Columbus, 28:52-9, 1941.
- 6 – THUMAS, P.; SRIRANGARAJAN, A. N.; LIMAYE, S. P. Studies on sprout inhibition of onions by gamma irradiation. I. Influence of time interval between harvest and irradiation, radiation dose and environmental conditions on sprouting. *Radiation Botany*, Elmsford, 15:215-22, 1975.
- 7 – YAMAGUCHI, H. *Radiação aplicada na agricultura*. Piracicaba, Instituto de Genética, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, 1968. 118 p.