



Biological

Sciences

Foudantions

Patrícia Michele da Luz
(Organizadora)

 **Atena**
Editora

Ano 2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Lorena Prestes e Karine de Lima

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
B615	Biological sciences foudantions [recurso eletrônico] / Organizadora Patrícia Michele da Luz. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-173-2 DOI 10.22533/at.ed.732191303 1. Ciências biológicas. 2. Biologia – Pesquisa – Brasil. I. Luz, Patrícia Michele da. CDD 574
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

Patrícia Michele da Luz

(Organizadora)

Biological Sciences Foudantions

**Atena Editora
2019**

APRESENTAÇÃO

A presente obra, que se oferece ao leitor, nomeada como “ Biological Sciences Foudantions ” de publicação da Atena Editora, aborda 11 capítulos envolvendo estudos biológicos de Norte a Sul do Brasil. Possuindo temas com vasta importância para compreendermos a importância do conhecimento interferindo na nossa vida.

Alguns estudos abrangem pesquisas realizadas com auxílio de geotecnologia, melhoramento genético e estudos citogenéticos, atividades enzimáticas, com diferentes classes de animais e plantas, relatando os distintos problemas distintos de saúde pública com visão de minimizar os efeitos causados por doenças transmitidas por insetos. Temos também pesquisas com áreas de qualidade de água subterrânea; ensino de microbiologia por jogos pedagógicos e sobre perfil epidemiológico de infecções para os pacientes oncológicos.

Apesar dos avanços tecnológicos e as atividades decorrentes, ainda temos problemas recorrentes que afetam nossa vida, causadores de riscos visíveis e invisíveis à saúde de todos dos humanos. Diante disso, lembramos a importância de discutir questões sobre a saúde pública da população, para aumentar a qualidade de vida.

Agradecemos sinceramente aos autores dos diversos capítulos, pela dedicação e esforços sem limites, que viabilizaram esta obra que retrata os recentes avanços científicos e todos os Organizadores da Atena Editora.

Por fim, esperamos que esta obra possa colaborar e instigar mais estudantes e pesquisadores na constante busca de novas pesquisas e assim, garantir a um melhor ambiente para futuras gerações, minimizando os efeitos de doenças.

Patrícia Michele da Luz

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ANÁLISE ESPACIAL DA PAISAGEM E A INCIDÊNCIA DA COCHONILHA-DO-CARMIM (<i>DACTYLOPIUS OPUNTIAE</i>) EM PALMA FORRAGEIRA NO ESTADO DE ALAGOAS	
Jackson Pinto Silva Claudio José dos Santos Junior Melchior Carlos do Nascimento Carla Ruth de Carvalho Barbosa Negrisoli	
DOI 10.22533/at.ed.7321913031	
CAPÍTULO 2	11
ATIVIDADE ENZIMÁTICA E CARACTERIZAÇÃO CITOMORFOLÓGICA DE UM ISOLADO DE <i>BEAUVERIA BASSIANA</i> (BALS.) VUILLEMIN <i>IN VITRO</i>	
Gabryel Cezar da Silva Marinho Adna Cristina Barbosa de Sousa	
DOI 10.22533/at.ed.7321913032	
CAPÍTULO 3	24
CARACTERIZAÇÃO DO CICLO CELULAR EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS RADICULARES DE <i>Allium Cepa L.</i> DO BULBO GRANDE	
Vitória Réggia Ferreira Lopes Adna Cristina Barbosa de Sousa	
DOI 10.22533/at.ed.7321913033	
CAPÍTULO 4	37
CONTROLE BIOLÓGICO E MONITORAMENTO DO MOSQUITO <i>Aedes</i> NO CAMPO	
Adriano Rodrigues de Paula Anderson Ribeiro Leila Eid Imad Silva Eduardo Rodrigues de Paula Richard Ian Samuels	
DOI 10.22533/at.ed.7321913034	
CAPÍTULO 5	46
DIVERSIDADE E DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES DE BORRACHUDOS (DIPTERA: SIMULIIDAE) DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL: INVENTÁRIO FAUNÍSTICO DA MESORREGIÃO NOROESTE RIO-GRANDENSE	
Sirlei Maria Hentges Tieli Cláudia Menzel Milton Norberto Strieder	
DOI 10.22533/at.ed.7321913035	
CAPÍTULO 6	53
IDENTIFICAÇÃO DE <i>Cryptococcus Sp.</i> EM EXCRETAS DE POMBOS – REGIÃO CENTRAL DE SÃO PAULO	
Karen Dias Costa Jorge Luís Freire Pinto Alípio Carmo Rildo Yamaguty Lima Marília Patrão Sandra Nunes Messias	

Fernando Luis Affonso Fonseca
Flávia de Sousa Gehrke
DOI 10.22533/at.ed.7321913036

CAPÍTULO 7 61

O USO DE JOGOS PEDAGÓGICOS NO ENSINO DE MICROBIOLOGIA

Márcia Regina Terra
Rafaela Sterza da Silva
Elisa Barbosa Leite da Freiria Estevão
Dayanna Saeko Martins Matias da Silva
Fernanda Gianelli Quintana
Ednalva de Oliveira Miranda Guizi

DOI 10.22533/at.ed.7321913037

CAPÍTULO 8 75

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE INFECÇÕES RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA EM SAÚDE EM PACIENTES ONCOLÓGICOS

Bruno Oliveira de Veras
Katharina Marques Diniz
Fernanda Granja da Silva Oliveira
Maria Betânia Melo de Oliveira
Alexandre Gomes da Silva
Márcia Vanusa da Silva

DOI 10.22533/at.ed.7321913038

CAPÍTULO 9 83

PERSISTÊNCIA DE BLASTOSPOROS DE *Metarhizium Anisopliae* VISANDO O CONTROLE DE LARVAS DO MOSQUITO *Aedes Aegypti*

Simone Azevedo Gomes
Aline Teixeira Carolino
Josiane Pessanha Ribeiro
Thais Berçot Pontes Teodoro
Richard Ian Samuels

DOI 10.22533/at.ed.7321913039

CAPÍTULO 10 89

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS DA CIDADE DE CAMPOS DO JORDÃO – SP

Daniela Rodrigues Norberto
Alexandre Magno Batista Machado

DOI 10.22533/at.ed.73219130310

CAPÍTULO 11 93

SCREENING OF L-ASPARAGINASE THE SALT-TOLERANT AND THERMOSTABLE MARINE *BACILLUS SUBTILIS* STRAIN SR61

Bruno Oliveira de Veras
Yago Queiroz dos Santos
Anderson Felipe Jácome de França
Penha Patricia Cabral Ribeiro
Elaine Costa Almeida Barbosa
Krystyna Gorlach-Lira

DOI 10.22533/at.ed.73219130311

SOBRE A ORGANIZADORA..... 101

CARACTERIZAÇÃO DO CICLO CELULAR EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS RADICULARES DE *Allium cepa* L. DO BULBO GRANDE

Vitória Régia Ferreira Lopes

Lyceu Paraibano, João Pessoa/PB

Adna Cristina Barbosa de Sousa

Centro de Biotecnologia, Departamento de Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal da Paraíba - UFPB/João Pessoa/PB

RESUMO: A cebola é uma das hortaliças mais importantes do mercado brasileiro e mundial, por ser apreciada como condimento alimentar. Os programas de melhoramento visam à obtenção de variedades de polinização aberta, através de melhoramento populacional ou seleção recorrente. A seleção dos genótipos é realizada inicialmente, em grande parte, do germoplasma nacional já amplamente adaptado. Em 2006 foram lançados dois híbridos (Bella Dura e Bella Vista), os quais podem ser considerados os primeiros híbridos criados e desenvolvidos no Brasil. A partir de todos estes relatos, o estudo citogenético dará suporte aos programas de melhoramento, oferecendo informações que podem auxiliar na seleção de genótipos compatíveis para a hibridação, garantindo o processo de recombinação. Partindo dessas considerações, este estudo teve como objetivo avaliar o núcleo interfásico e o padrão de condensação profásico da cebola de bulbo grande, visando à caracterização. Foram utilizadas células

meristemáticas da raiz tratadas no fixador Carnoy. Após fixação, as raízes foram lavadas em água destilada, hidrolizadas com HCl 5N, posteriormente coradas com carmim acético a 2,0 % e analisadas ao microscópio óptico. Foi possível observar as fases características do ciclo celular da cebola: núcleo interfásico, prófase, pró-metáfase, metáfase, anáfase, telófase e citocinese. Na metáfase foi possível identificar cromossomos metacêntricos e sub-metacêntricos, e o número cromossômico ($2n = 16$) da cebola. A caracterização do ciclo celular e a definição do nível de ploidia darão suporte aos programas de melhoramento, oferecendo informações que podem auxiliar na seleção de genótipos compatíveis para a hibridação, garantindo o processo de recombinação de forma eficiente.

PALAVRAS-CHAVE: Citogenética vegetal, hortaliça, mitose, *Allium* sp.

ABSTRACT: The onion is one of the most important vegetables of the Brazilian and world market, for being appreciated as a food flavoring. Breeding programs aim to obtain open pollinated varieties through population improvement or recurrent selection. The selection of the genotypes is carried out initially, in great part, of the already widely adapted national germplasm. In 2006, two hybrids were introduced (Bella Dura and Bella Vista), which

can be considered the first hybrids created and developed in Brazil. From all these reports, the cytogenetic study will support the breeding programs, offering information that can help in the selection of compatible genotypes for the hybridization, guaranteeing the recombination process. Based on these considerations, this study aimed to evaluate the interphase nucleus and prophase condensation pattern of the large bulb onion, aiming at the characterization. Root meristematic cells treated in the Carnoy fixative were used. After fixation, the roots were washed in distilled water, hydrolyzed with HCl 5N, then stained with 2 % acetic carmine and analyzed under an optical microscope. It was possible to observe the characteristic phases of the onion cell cycle: interphase nucleus, prophase, prophase, metaphase, anaphase, telophase and cytokinesis. In the metaphase it was possible to identify metacentric and sub-metacentric chromosomes, and the chromosome number ($2n = 16$) of the onion. The cell cycle characterization and definition of the ploidy level will support the breeding programs, offering information that can help in the selection of compatible genotypes for the hybridization, guaranteeing the recombination process efficiently.

KEYWORDS: Plant cytogenetics, vegetable, mitosis, *Allium* sp.

1 | INTRODUÇÃO

O gênero *Allium* é de grande importância econômica, englobando mais de 600 espécies, incluindo várias hortaliças e espécies ornamentais. O elevado número de espécies indica ter havido uma grande divergência evolutiva desde a origem do gênero, gerando uma marcante variabilidade em inúmeras características da planta (Tavares et al., 1998).

A espécie *Allium cepa* Lineu, conhecida popularmente como cebola, é uma das hortaliças mais importantes do mercado brasileiro e mundial, por ser bastante apreciada como condimento alimentar, principalmente devido ao aroma e ao sabor que conferem aos alimentos, além de ser amplamente usada para fins terapêuticos desde a antiguidade (Coelho et al., 1996).

A cebola é a terceira hortaliça mais produzida no mundo. A produção mundial em 2014 foi de 70 milhões de toneladas, em 2,9 milhões de ha (produtividade média de 19 t/ha). A América do Sul contribuiu com 8,5% e o Brasil participou com 2 % da oferta mundial (1,1 milhão de toneladas) com valor global da produção de US\$ 204 milhões. O Brasil e a Argentina produzem mais de 60 % da cebola da América do Sul e 97 % do Mercosul. No Brasil, a cebola é a terceira hortaliça mais importante economicamente (EPAGRI, 2014).

Morfologicamente, *A. cepa* L. é descrita como uma planta herbácea, cuja parte comercial é um bulbo tunicado, que apresenta variação em formato, cor, pungência, tamanho e conservação pós-colheita (Menezes, 1978).

No desenvolvimento da planta, as folhas, que podem ser cerosas ou não,

apresentam disposição alternada, formando duas fileiras ao longo do caule. As bainhas foliares, nas quais as folhas se inserem, projetam-se acima da superfície do solo e formam uma estrutura firme, comumente chamada de caule, mas que, na realidade, é um pseudocaule. O caule verdadeiro está localizado abaixo da superfície do solo e é composto por um disco achatado, situado na extremidade inferior do bulbo, que emite raízes fasciculadas, pouco ramificadas, com maior concentração nos primeiros 30 cm do solo, mas que podem alcançar 60 cm de profundidade. De forma geral, as raízes raramente alcançam 25 cm de profundidade, sendo que lateralmente não superam a 15 cm (Smith et al., 1986).

Esta espécie é considerada alógama com uma taxa de polinização cruzada, aproximadamente, de 93 %. A baixa taxa de autofecundação existente dá-se por meio da transferência de pólen entre flores de uma mesma umbela ou entre flores de umbelas diferentes de uma mesma planta, mas é impossível a sua ocorrência dentro de uma flor, individualmente. Os efeitos da depressão por autofecundações sucessivas na cebola são bem acentuados, sendo mais pronunciados na segunda geração. Em condições de cultivo comercial, as plantas autofecundadas são eliminadas devido à menor capacidade de sobrevivência (Muller et al., 2000).

Para *A. cepa* são conhecidas 276 espécies de insetos que visitam suas flores, sendo que destes, Hymenoptera e Diptera são os mais importantes polinizadores. Da ordem Hymenoptera, *Apis mellifera* destaca-se como a mais importante espécie polinizadora, sendo indicada para o manejo na produção comercial de sementes (Menezes, 1978).

Atualmente as formas hortícolas de *A. cepa*, são alocadas em três grupos: *Typicum*, *Aggregatum* e *Proliferum*.

- Grupo *Typicum* (*Regel*) - grupo das cebolas comuns que apresentam bulbos simples e grandes, inflorescência tipicamente sem bulbilhos, plantas quase sempre originárias de sementes verdadeiras e de ciclo bienal. Neste grupo, estão todas as cebolas comercialmente importantes.
- Grupo *Aggregatum* (*G. Don*) (*A. cepa* var. *aggregatum*) - grupo das cebolas com bulbos compostos, inflorescência tipicamente sem bulbilhos, podendo produzir sementes ou ser estéreis, de ciclo anual e multiplicação quase que exclusivamente vegetativa. Este grupo é caracterizado por bulbos que se multiplicam livremente e são comumente usados para a propagação. Possui três formas distintas:

a) Cebola múltipla ou batata (*Potato onion*) - os bulbos são agregados, apresentam coloração externa marrom e a propagação ocorre por meio da formação de numerosos bulbos laterais. Esses, por sua vez, podem originar uma nova planta e, no segundo ano, produzem bulbos que variam de 2 a 20 bulbilhos. Raramente florescem e as sementes são esparsas e de baixa germinação.

b) Cebola sempre-pronta (*Every-Ready onions*) - na Inglaterra, servem para suprir a falta de bulbos comerciais. Este tipo de cebola assemelha-se ao tipo comum; no entanto, é perene e possui poucos bulbos e folhas, a haste floral é curta e a umbela é menor. Raramente florescem e são propagadas por divisão, nunca por sementes. Um bulbo produz de 10 a 12 bulbos.

c) Chalota (*Shallot*) - alguns autores a consideram pertencente à espécie *A. ascolonicum*; no entanto, é uma forma de *A. cepa*. Usualmente, é de pequena altura, mas as flores e inflorescências são tipicamente da cebola comum.

- Grupo *Proliferum* (*A. cepa* var. *proliferum*) - grupo das cebolas com bulbos, às vezes pouco desenvolvidos. As inflorescências apresentam-se carregadas de bulbinhos usualmente sem sementes verdadeiras. A propagação é feita vegetativamente pelos bulbilhos da inflorescência (Kotlinska et al., 1991; Geoffriau et al., 1997b; Klein et al., 1999).

São espécies diploides com número básico de cromossomos é $x=8$ (nas espécies cultivadas) e $x=7$. Em ambas as séries têm evoluído poliploides. As hibridações interespecíficas espontâneas são raras, existindo fortes barreiras de cruzamento que separam inclusive espécies morfologicamente similares. *A. cepa* é conhecida apenas sob cultivo (domesticada), não sendo encontrada na forma silvestre (Campion et al., 1995; Bohanec et al., 1995).

No que se refere à citogenética da cebola, o número básico de cromossomos é $2n = 16$, sendo uma das espécies mais polimórficas, exibindo diferenças quanto ao formato, tamanho, cor, conteúdo de matéria seca, reação a fotoperiodismo e outros caracteres da planta (Austin, 1972). Entretanto há carências em estudos relacionados aos diversos métodos de bandeamento, filogenia e mapeamento físico, principalmente nas espécies cultivadas no Brasil.

A grande variação de características morfológicas e fisiológicas nesta espécie está associada à sua alta taxa de polinização cruzada, bem como ao intenso processo de seleção consciente e inconsciente a que foi submetida ao longo de sua domesticação. As seleções visam, de modo geral, modificar características como: formato; coloração; retenção de escamas e tamanho de bulbos; aumentar a produtividade; melhorar a conservação pós-colheita; adaptar a diferentes condições edafoclimáticas. Como resultado marcante, pode-se ressaltar a adaptação da cebola a diferentes latitudes, cuja produção estende-se desde os trópicos até regiões mais próximas aos círculos polares, regiões estas muito diferentes do seu centro de origem, principalmente em se considerando que o fotoperíodo é fator limitante no processo de bulbificação (Musial et al., 2005).

A citogenética compreende todo e qualquer estudo relativo ao cromossomo isolado ou em conjunto, condensado ou distendido, tanto no que diz respeito a sua morfologia, organização, função e replicação quanto a sua variação e evolução. Em alguns casos,

a simples determinação do número cromossômico, fornece informações importantes para a compreensão da filogenia e evolução dos grupos, deste que associada a outras abordagens como morfologia, características geográfica, entre outras (Stebbins, 1971). Ainda pode se investigar possíveis alterações cromossômicas nas plantas devido à presença de agentes mutagênicos na sua composição ou decorrentes do seu metabolismo (Guerra, 1998; Guerra e Souza, 2002).

As mutações em geral, podem ser detectadas, citologicamente pela inibição do ciclo celular, interrupção em metáfases, indução de alterações cromossômicas numéricas e estruturais e de trocas entre cromátides irmãs entre outros (Guerra e Souza, 2002).

Em plantas, a maior quantidade de células em divisão mitóticas se encontra no tecido meristemático. Esse tecido pode ser encontrado em diferentes órgãos das plantas e se caracteriza por não apresentar células diferenciadas. Para análise cromossômica mitótica vegetal o melhor meristema é o radicular, devido ao maior volume celular e ao crescimento muito rápido. A obtenção de raízes para a análise cromossômica pode ser feita a partir de diferentes fontes. As mais comuns são sementes, bulbos e caules (Guerra, 1998).

No caso da cebola, o longo ciclo da espécie e a baixa variabilidade genética das linhas A (macho-estéril-MS) e B (linha mantenedora) têm limitado a obtenção de híbridos no Brasil. Utilizando-se a técnica da cultura de tecidos vegetais, especialmente a cultura *in vitro* de óvulos, ovários ou botões florais de cebola, é possível reduzir o tempo de obtenção de linhas “C” (polinizadoras) homocigotas, criar variabilidade e desenvolver novas variedades. A indução de plantas haploides ou duplo-haploides a partir da cultura de óvulos (ginogênese) oferece ao melhoramento convencional a possibilidade de obter linhas puras, derivadas de óvulos oriundos de plantas das gerações F1 ou F2 (Campion et al., 1995).

No Brasil são poucos os programas de melhoramento de cebola. Programas públicos podem ser encontrados na ESALQ/USP, EPAGRI, EMBRAPA e IPA. Esses programas visam à obtenção de variedades polinização aberta, através de melhoramento populacional ou seleção recorrente. A empresa privada SAKATA Seed Sudamerica Ltda vem realizando melhoramento genético no Brasil. O seu programa de melhoramento de cebola utiliza em grande parte germoplasma nacional, já amplamente adaptado (Allan et al., 2003). Em 2006 foram lançados dois híbridos (Bella Dura e Bella Vista), os quais podem ser considerados os primeiros híbridos criados e desenvolvidos no Brasil.

A partir de todos estes relatos, o estudo citogenético dará suporte aos programas de melhoramento, oferecendo informações que podem auxiliar na seleção de genótipos compatíveis para a hibridação, garantindo o processo de recombinação de forma eficiente. Partindo dessas considerações, este estudo teve como objetivo avaliar o núcleo interfásico e o padrão de condensação profásico da cebola de bulbo grande, visando à caracterização.

2 | METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório Genética Molecular e Biotecnologia Vegetal, Centro de Biotecnologia – CBIOTEC/UFPB.

Foram utilizadas células meristemáticas de bulbos de *A. cepa* para análise do ciclo celular.

As raízes de cebola procedentes do bulbo foram fixadas, coradas com carmim acético a 2,0 % e observadas ao microscópio óptico.

2.1 Obtenção das raízes

Foram tirados dos bulbos os catafilos secos, e em seguida os bulbos foram colocados em contato com água livre de cloro contida em um frasco de vidro. Foi colocado em contato com a água apenas a parte inferior do bulbo.

2.2 Fixação

As raízes foram mergulhadas no fixador Carnoy 3:1 de 2 a 20 horas à temperatura ambiente.

Fixador Carnoy 3:1 – 8,0 mL

a) 6,0 mL de etanol e 2,0 mL de ácido acético glacial;

b) Agitou-se a solução antes e posteriormente acrescentou-se o material a ser fixado (as raízes).

2.3 Estocagem

Após o período de 20h00 as raízes foram armazenadas em *freezer* a -20 °C.

2.4 Lavagem

As raízes foram mergulhadas duas vezes em água destilada (5 minutos cada) para a lavagem.

2.5 Hidrólise

Foi retirado o excesso de água das raízes em papel filtro e em seguida mergulhadas em uma solução de HCl 5N à temperatura ambiente por 20 minutos.

2.6 Preparação das lâminas

A ponta da raiz foi transferida para uma lâmina contendo uma gota do corante de carmim acético a 2,0 %. Com o auxílio de um estereomicroscópio, retirou-se a coifa

e as capas mais externas da raiz deixando apenas o meristema. Fragmentou-se o meristema em pedaços pequenos e em seguida a raiz foi coberta com uma lamínula. Foi realizado o esmagamento do tecido com a ponta do bastão de vidro, e em seguida a lâmina foi observada ao microscópio óptico.

3 | RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 Obtenção das células meristemáticas radiculares de *Allium cepa*

O crescimento das raízes para obtenção dos meristemas radiculares de *A. cepa* foi observado no período de 16 dias, em contato com a água. A Figura 01 ilustra o processo de obtenção das raízes da cebola roxa do bulbo grande.



Figura 01 – Obtenção das raízes de *Allium cepa* para avaliação do ciclo celular.

(Fonte: Autores)

3.2 Caracterização do ciclo celular de *Allium cepa*

O ciclo celular funciona de maneira controlada, de forma a garantir que, a cada ciclo de divisão, duas células idênticas sejam formadas. Os eventos que ocorrem durante esse processo são sequenciais, contínuos e foram identificados em *A. cepa*. Eventos chamados de interfase (Figura 02), prófase (Figura 03 - 1), pró-matáfase (Figura 03 - 2), matáfase (Figura 04), anáfase (Figuras 05 e 06), telófase (Figura 07) e citocinese.

No núcleo interfásico (Figura 02) não foi observado nenhuma diferença morfológica significativa à microscopia óptica. Porém, essa fase é caracterizada como um intervalo de tempo (*G*, do inglês, *gap* = intervalo) entre os eventos da mitose.

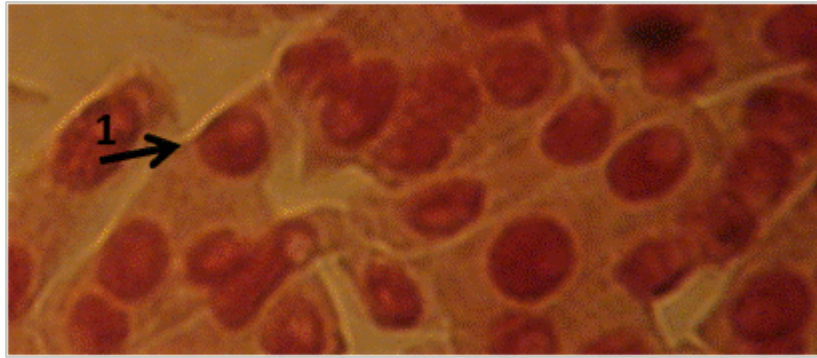


Figura 02 – Núcleo interfásico (1) obtidos por esmagamento da ponta da raiz de *Allium cepa*.

(Fonte: Autores)

A prófase (Figura 03 – 1) se caracteriza pelo início da condensação da cromatina. Pela atuação da condensina é possível visualizar filamentos mais espessos. Cada um dos filamentos é formado por duas cromátides, cada uma com seu próprio centrômero e telômero. As coesinas ativadas durante o processo de divisão celular garantem a coesão entre as cromátides-irmãs até o fim da metáfase. Ainda na prófase ocorre à fragmentação do nucléolo, cujos componentes se dispersam pelo citoplasma na forma de corpúsculo de ribonucleoproteínas. Os dois centrossomos, começam a se mover para os pólos opostos da célula e entre eles, pode-se observar a formação das fibras polares. As fibras originadas nos pólos opostos interagem entre si na região equatorial da célula por proteínas motoras da família das dineínas. A partir da prófase, todas as modificações que ocorrem na célula são desencadeadas por fosforilações nas proteínas histonas, alterando o comportamento da cromatina, nas lâminas e nas proteínas nucleolares, levando à desmontagem do envoltório nuclear e do nucléolo e nas proteínas associadas aos microtúbulos, causando mudanças para a formação do fuso.

Na pró-metáfase (Figura 03 – 2) a cromatina encontra-se mais condensada, mostrando filamentos mais grossos e mais curtos, e o nucléolo não é mais visualizado. O envoltório nuclear, organelas membranosas, complexo de Golgi e o retículo endoplasmático, fragmentam-se em pequenas vesículas. Os centrossomos migram para os pólos opostos. Forma-se o cinetócoro, estrutura protéica ligada à região do centrômero de cada cromátide-irmã, na qual os microtúbulos do fuso se associam e exercem tensão sobre essas cromátides. No caso de *A. cepa*, na pró-metáfase ocorre a remoção das coesinas presentes entre os braços das cromátides-irmãs, mas não das coesinas da região centromérica. A remoção das coesinas dos braços ocorre por fosforilações que levam à perda da habilidade de sua ligação com a cromatina.

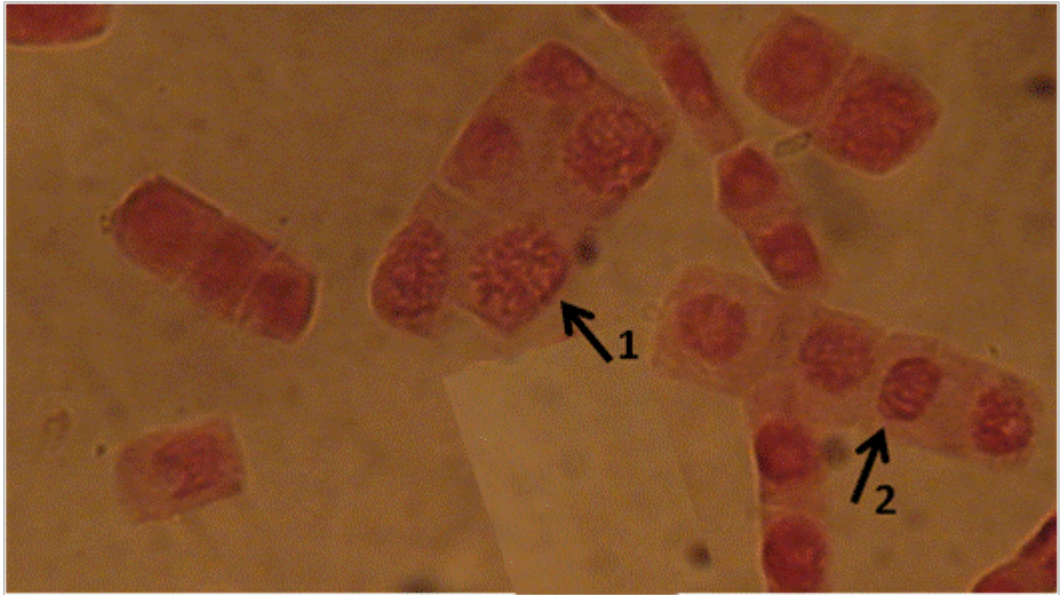


Figura 03 – Fases do ciclo celular de *Allium cepa*. Prófase (1) e pró-metáfase (2).

(Fonte: Autores)

Na metáfase (Figura 04 – 1 e 2) ocorre à condensação máxima da cromatina. A tensão proporcional que os microtúbulos exercem em direções opostas sobre as cromátides-irmãs leva os cromossomos a assumir uma posição de equilíbrio em um plano na região equatorial da célula entre os dois pólos. A coesão presente na região centromérica só é desfeita na transição metáfase-anáfase. Nas células metafásica de *A. cepa*, foi possível identificar cromossomos metacêntricos e sub-metacêntricos, e o número cromossômico ($2n = 16$).

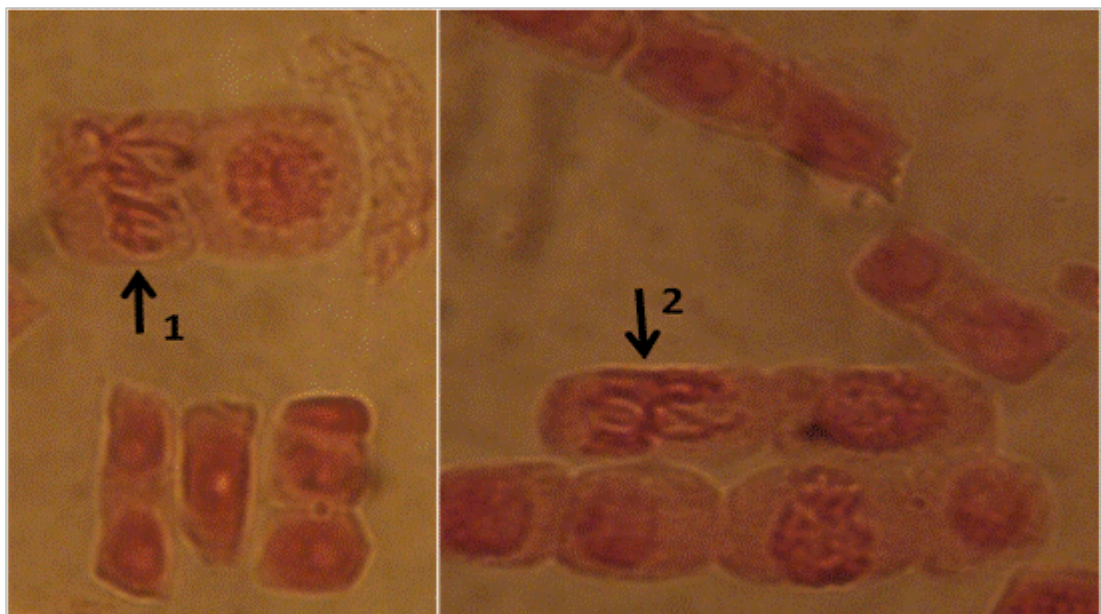


Figura 04 – Fases do ciclo celular de *Allium cepa*. Metáfase (1 e 2).

(Fonte: Autores)

A anáfase (Figuras 05) inicia abruptamente com a separação das cromátides-irmãs, que se movem para os polos. Nesta fase, o posicionamento de cada homólogo do par não depende um do outro no equador da célula permite que, ao separar as cromátides-irmãs, cada célula-filha receba todos os pares de cromossomos, mantendo assim a ploidia.

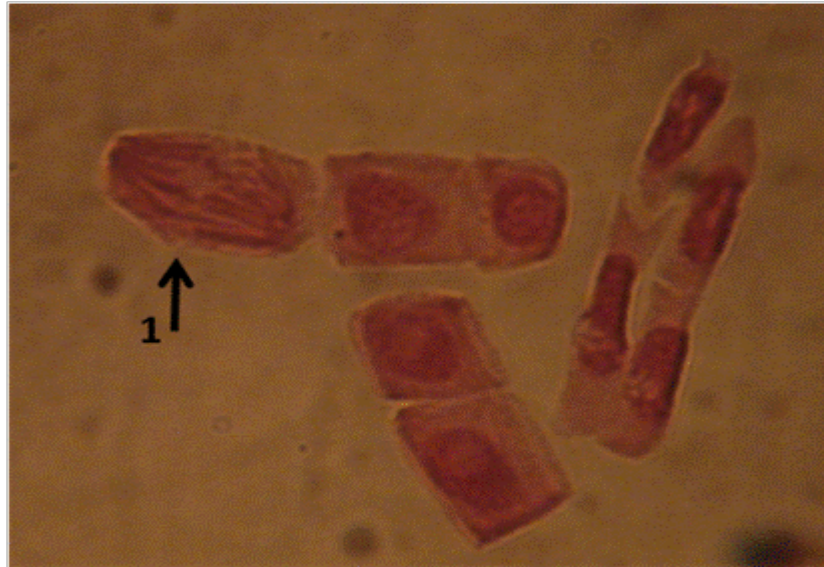


Figura 05 – Fases do ciclo celular de *Allium cepa*. Anáfase (1).

(Fonte: Autores)



Figura 06 – Fases do ciclo celular de *Allium cepa*. Final da anáfase (1).

(Fonte: Autores)

A telófase (Figura 07) se caracteriza pela reestruturação do envoltório nuclear a partir da reassociação dos componentes dispersos pelo citosol na pró-metáfase. As vesículas das membranas do envoltório nuclear se fundem em torno dos cromossomos, os complexos de poros se inserem nas membranas, a lâmina nuclear se reorganiza e ao final da telófase, o envoltório nuclear está totalmente reconstituído. Os cromossomos

irão se descompactar gradativamente até o final desta fase, assumindo o estado mais distendido da cromatina e característico da intérfase. O nucléolo é reconstituído a partir dos fragmentos dissociados na prófase. Os microtúbulos do cinetócoro desaparecem e os polares permanecem apenas na região equatorial, na qual se dará a citocinese. As organelas membranosas são reconstituídas e juntamente com as demais são distribuídas aleatoriamente entre as duas células-filhas.

Na citocinese ocorre a divisão citoplasmática da célula em duas, de maneira a assegurar que cada célula-filha receba um núcleo e quantidades suficientes dos constituintes celulares. Nas células vegetais, o local onde ocorre a citocinese é definida por uma banda de microtúbulos formada, em forma de anel justaposto à membrana plasmática, marcando o local em que irá se formar a nova parede. No final da anáfase (Figura 06), ocorre uma concentração de material na região equatorial da célula, a partir da fusão de vesículas achatadas produzidas pelo complexo de Golgi, formado uma estrutura chamada de fragmoplasto. O fragmoplasto contém actina e miosina, bem como microtúbulos associados, necessários para a sua formação e função. No interior das vesículas estão presentes os precursores das macromoléculas formadoras da parede celular. A parede se reconstitui do interior em direção à parede celular original e as membranas das vesículas formam a membrana plasmática. A celulose é sintetizada por complexos protéicos enzimáticos presentes na membrana plasmática e depositadas na nova parede, direcionados pelos microtúbulos corticais, que reaparecem na telófase (Carvalho e Recco-Pimentel, 2009).



Figura 07 – Fases do ciclo celular de *Allium cepa*. Telófase (1).

(Fonte: Autores)

A caracterização do nível de ploidia de diferentes genótipos de *A. cepa* auxilia na seleção de genótipos geneticamente compatíveis para cruzamentos, visando o

aumento da variabilidade. A cebola de bulbo roxo grande apresenta um ciclo biológico longo e baixa variabilidade genética entre diferentes linhagens. Essa característica tem limitado a obtenção de híbridos. A partir da caracterização citogenética de diferentes genótipos, de diferentes linhagens de *A. cepa* é possível reduzir o tempo de obtenção de linhagens polinizadoras homozigotas, criar variabilidade e desenvolver novas variedades (Campion et al., 1995). Alguns autores (Campion et al., 1995; Bohanec et al., 1995; Allan et al., 2003; Musial et al., 2005) têm utilizado a citogenética clássica para selecionar genótipo geneticamente compatíveis. Resultados desses estudos levaram a obtenção de linhas puras (Linhagem “C”), polinizadoras homozigotas como fonte essencial de variabilidade genética.

O conhecimento e a manutenção da diversidade genética em espécies cultivadas, como fonte de biodiversidade, é uma alternativa viável e sustentável para a conservação e aumento da produtividade. Isso porque a diversidade genética é o fator responsável pelas diferenças de produtividade, adaptação e reprodução entre indivíduos de uma espécie. Com isto, o agricultor/ produtor poderá ter um aumento na qualidade do produto, aumento da produção e a valorização dos recursos vegetais de sua propriedade.

4 | CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que:

- A metodologia utilizada foi possível isolar as células e caracterizar as diferentes fases do ciclo celular de *A. cepa*: interfase, prófase, pró-matáfase, matáfase, anáfase, telófase e citocinese.
- Na metáfase foi possível definir a morfologia e o número cromossômico;
- O estudo forneceu informações básicas que podem auxiliar no programa de melhoramento da cebola.

REFERÊNCIAS

- ALAN, A.R.; MUTSCHELER, M.A.; BRANTS, A.; COBB, E.; EARLE, E.D. **Production of gynogenic plants from hybrids of *Allium cepa* L. and *A. Royle Stearn***, Plant Science. v. 165, p. 1201-1211, 2003.
- BOHANEK, B.; JAKŠE, M.; IHAN, A.; JAVORNIK, B. **Studies of gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.): induction procedures and genetic analysis of regenerants**. Plant Science. v. 104, p. 215-224, 1995.
- CAMPION, B.; BOHANEK, B.; JAVORNIK, J. **Gynogenic lines of onion (*Allium cepa* L.): evidence of their homozygosity**. Theor. Appl. Genet. v. 91, p. 598-602, 1995.
- CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, S. M. **A Célula**. 2ª.edição. 380p. 2009.

- COELHO, E.F.; SOUZA, V.A.B.; CONCEIÇÃO, M.A.F. **Comportamento da cultura da cebola em três regimes de irrigação e cinco espaçamentos**. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v. 31, p. 585-591, 1996.
- EPAGRI. **Sistema de produção para cebola: Santa Catarina** (3. Revisão). Florianópolis: 2014. 91 p. (EPAGRU. Sistemas de produção, 16).
- GEOFFRIAU, E.; KAHANE, R.; RANCILLAC, M. **Variation of gynogenesis ability in onion (*Allium cepa* L.)**. Euphytica. v. 94, p. 37-44, 1997b.
- GUERRA, M. & SOUZA, M.J. **Como Observar Cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto, Editora FUNDECT, 2002.
- GUERRA, M. **Introdução a Citogenética Geral**. Rio de Janeiro, Editora Guanabara, 1998.
- KLEIN, M.; KORZONEK, D. **The relationship between flower size and development stage of (*Allium cepa* L.) umbels**. Acta Biologica Cracoviensis, series Bot.41, p. 185-192, 1999.
- KOTLINSKA, T.; HAVRANEK, P.; NAVRATILL, M.; GERASIMOVA, L.; PIMAKHOV, A.; NEIKOV, S. **Collecting onion, garlic and wild species of *Allium* in Central Asia, USSR**. Plant Genetic Resources Newsletter. v. 84, p. 31-32, 1991.
- MENEZES SOBRINHO, J.A. **Origem e botânica da cebola**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte. v. 4, p.48-14, 1978.
- MULLER, J.J.V.; CASALI, V.W.D. **Produção de Sementes de Cebola**. Boletim Técnico EMPASC, Florianópolis, n. 16, p. 64, 1982. MIC
- HALIK, B.; ADAMUS, A.; NOWAK, E. **Gynogenesis in Polish onion cultivars**. J. Plant Physiology. v. 156, p. 211–216, 2000.
- MUSIAL, K.; BOHANEK, B.; JAKŠE, M.; PRZYWARA, L. **The development of onion (*Allium cepa* L.) embryo sacs in vitro and gynogenesis induction in relation to flower size**. In vitro Cell, Development Biology - Plant. v. 41, p. 446-452, 2005.
- SMITH, B. M.; GODWIN, R. M.; HARVEY, E.; WERNER, C. P. **Gynogenesis from whole flower buds in bulb onions (*Allium cepa* L.) and leeks (*Allium porrum* L.)**. Journal of Genetetic Breeding. v. 45, p. 353–358, 1991.
- STEBBINS, G.L. 1971. **Chromosomal evolution in higher plant**. Edward Arnold, London, 216p.
- TAVARES, M.; TRANI, P.S.; SIQUEIRA, W.J. **Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. Boletim Técnico IAC, v. 6, p.175-176, 1998.

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-7247-173-2



9 788572 471732