Procurando o “X” das pimentas

Ricardo Neves Pedroso*, Milena Cristina Moraes, Darío Abel Palmieri, Mônica Rosa Bertão

Departamento de Biotecnologia. Faculdade de Ciências e Letras. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Assis. Avenida Dom Antônio, 2100, Parque Universitário - 19806-900 – Assis – SP. *ricardonpedroso@gmail.com

Palavras-chave: cariótipo, cromossomo, material genético, mitose, raiz

Você já se questionou sobre a importância científica das pimentas? Em várias universidades ao redor do mundo, existem diversos trabalhos que investigam as propriedades biológicas e as características genéticas desta especiaria, tão utilizada na culinária mundial, há centenas de anos. As pimentas são plantas do gênero *Capsicum*, apresentam frutos com diversos formatos (Figuras 1A e 1B) e níveis variados de ardência. Várias pesquisas sobre o gênero têm mostrado os benefícios da capsaicina (substância que confere a ardência), como atividade anticâncer, ação analgésica, anti-úlcera, útil na perda de peso, melhora do aparelho respiratório e ação anti-inflamatória. Estudar os cromossomos das pimentas também é interessante para explicar a relação de parentesco entre elas.

Figura 1A. *Capsicum annuum*

Figura 1B. *Capsicum frutescens*

Os citogeneticistas de vegetais são os pesquisadores que procuram cromossomos nítidos (“X” da pimenta) nas **metáfases** das **células somáticas** das plantas, pois é neste estágio do ciclo de divisão celular que o material genético apresenta maior grau de condensação, lembrando um “X”. Mas você sabe como é um cromossomo? Imagine você com um novelo de lã em mãos, totalmente desenrolado e, em seguida, recebe uma ordem para enrolá-lo. De forma semelhante, esse mesmo processo ocorre nas células, antes do processo de divisão celular, chamado mitose; elas recebem estímulos para que seu DNA (novelo de lã) se enrole junto com proteínas denominadas **histonas**. É através deste processo de empacotamento do material genético (DNA mais histonas) que se formam os cromossomos (Figura 2).

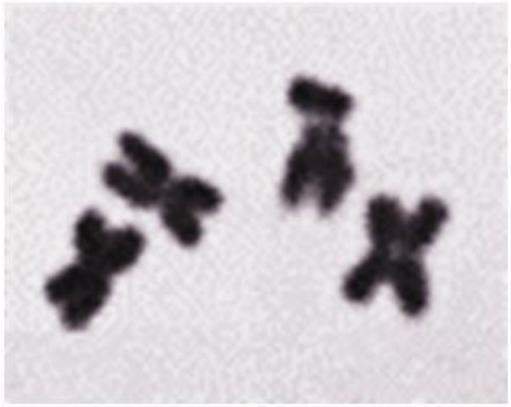

Figura 2. Cromossomos na fase de metáfase, com maior condensação. Fonte: os autores.

A análise dos cromossomos de uma célula vegetal pode fornecer inúmeras informações sobre a espécie estudada, pois o **estudo citogenético** provê dados que auxiliam na compreensão das relações de parentesco entre as espécies, permitindo entender como elas evoluíram ao longo do tempo. Para isso pode-se investigar a forma dos cromossomos, seus arranjos, funções, variações e, a partir daí, elaborar o cariótipo da espécie, ou seja, a representação fotográfica de todos os pares cromossômicos.

O ponto fundamental para obtenção de cromossomos é o domínio das diferentes técnicas de manipulação cromossômica, ou seja, das etapas de pré-tratamento, fixação e coloração do material em estudo. As raízes das plantas são muito utilizadas para obtenção de células na área de Citogenética Vegetal, pois apresentam meristema radicular, estrutura dinâmica com maior quantidade de células somáticas em divisão.

Como procuramos o "X" das pimentas?

Para conseguirmos visualizar o "X" das pimentas temos que obter **preparações citológicas**. E como se faz isso a partir de uma raiz? Antes de mais nada, as sementes das pimentas são separadas e passam por um processo químico de ativação da germinação, permanecendo por 10 minutos numa solução de nitrato de potássio. Após isso, elas são transferidas para potes plásticos contendo um **substrato** a base de musgo (*Sphagnum*) umedecido e são expostas a uma temperatura de 28-30ºC. O tempo médio de germinação das sementes das pimentas é de 14 dias, durante esse período o embrião da semente germina, e na sequência, formam-se as primeiras folhas e a raiz (Figura 3).

O momento ideal para coleta das raízes é quando elas possuem comprimento entre 1 e 2 cm. As raízes coletadas são então deixadas em uma solução conhecida como **antimitótica**, durante 2 horas e 30 minutos. Nesse momento, as células que iniciaram o processo de divisão são impedidas

de formar as fibras do fuso celular, que deveriam ajudar na separação do material genético, que foi previamente duplicado. Após, as raízes são fixadas (preservadas) em solução de Carnoy (Figura 3).

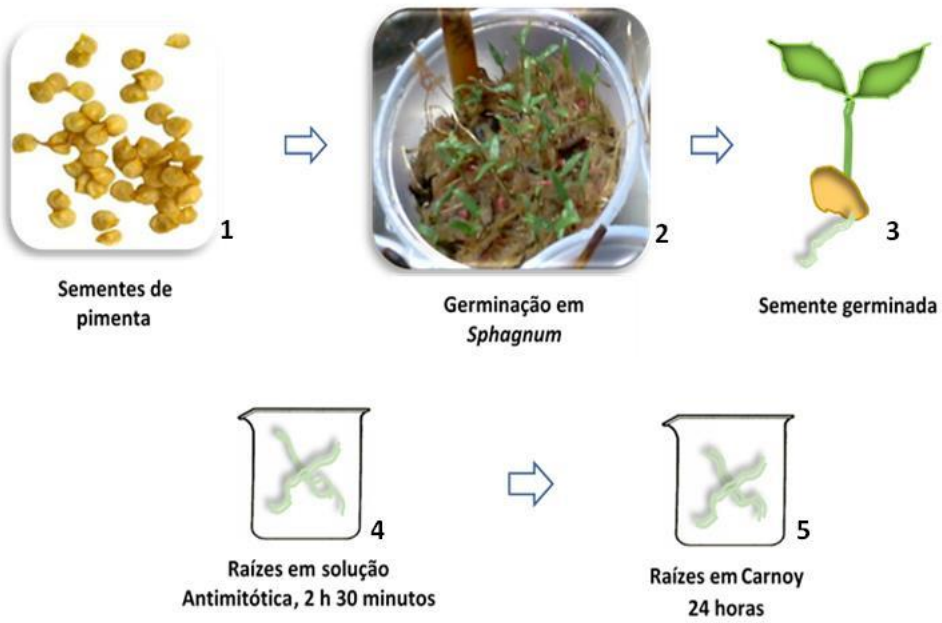

Figura 3. Sequência de procedimentos para germinação das sementes (1 a 3). Pré-tratamento das raízes com solução antimitótica (4). Fixação e preservação das células em solução de ácido acético e álcool etílico (solução de Carnoy) (5). Fonte: os autores.

Veja na Figura 4, as etapas para dar sequência à busca pelo "X" das pimentas:

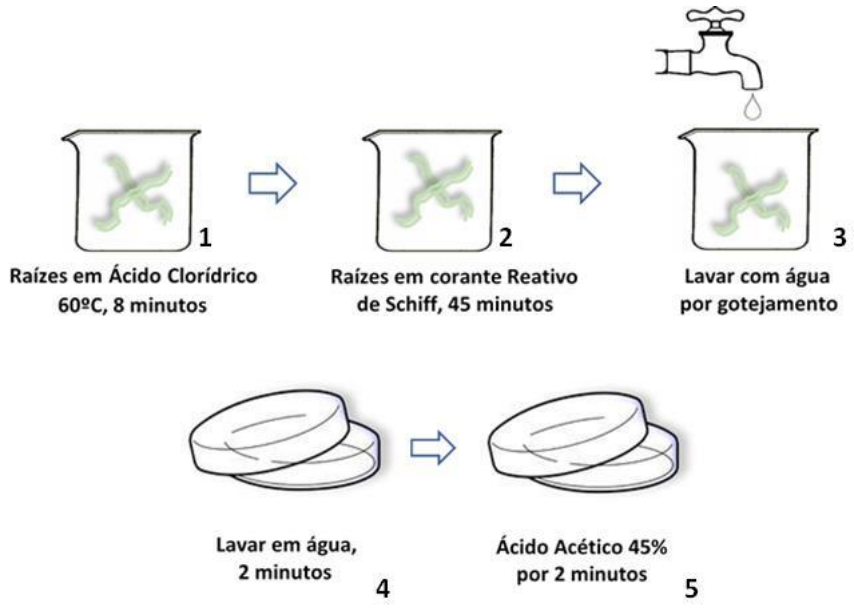

Figura 4. Hidrólise ácida em ácido clorídrico para amolecer o tecido da raiz (1). Coloração do DNA (2). Gotejamento sobre as raízes para permitir a entrada do corante Schiff (3). Lavar as raízes com água para remover o excesso de corante (4). Ácido acético para facilitar o esmagamento das raízes para que ocorra a liberação das células (5). Fonte: os autores.

Agora sim, estamos muito próximos de enxergar o "X" das pimentas, e para isso precisamos corar as células (Figura 5).

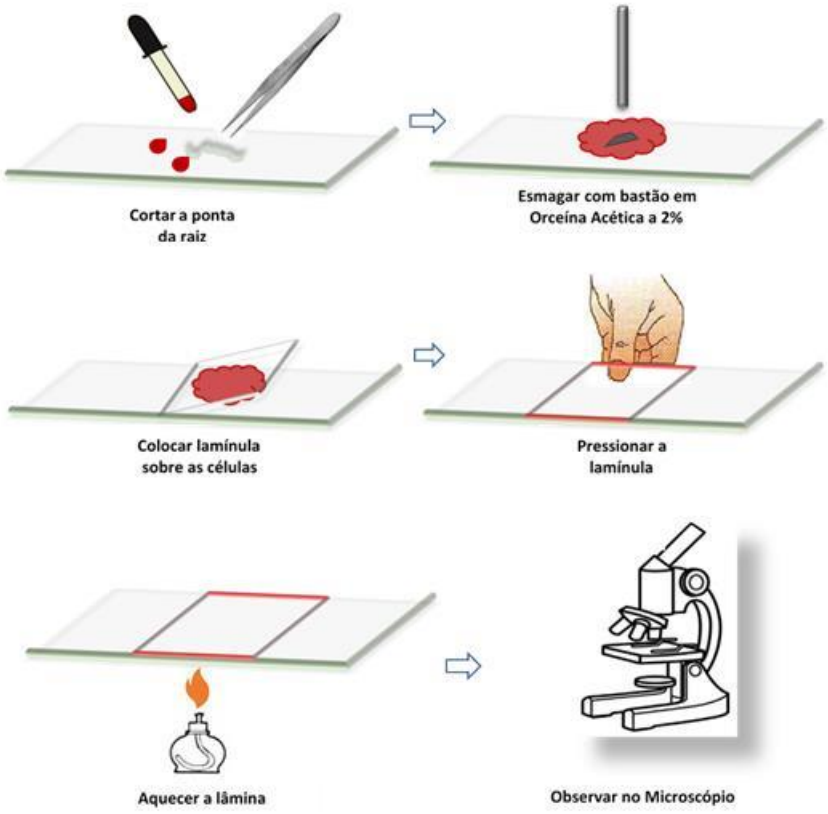

Figura 5. Preparação da lâmina a partir das raízes das pimentas. Fonte: os autores.

Finalmente, depois do material separado e corado podemos visualizar os cromossomos, e para isso usamos um microscópio óptico, afinal os cromossomos não são visíveis a olho nu, eles têm dimensões minúsculas, microscópicas! É no microscópio óptico que você então observa as células da raiz que ficaram na fase de metáfase, com todos os seus cromossomos bem espalhados (Figura 6). E, a partir daí, pode estudar o número de cromossomos e os parâmetros que definem o cariótipo da espécie (veja a Figura 7 para um exemplo), como comprimento de cada cromossomo, posição do centrômero (região que define o meio dos cromossomos) e tamanho dos braços de cada cromossomo.

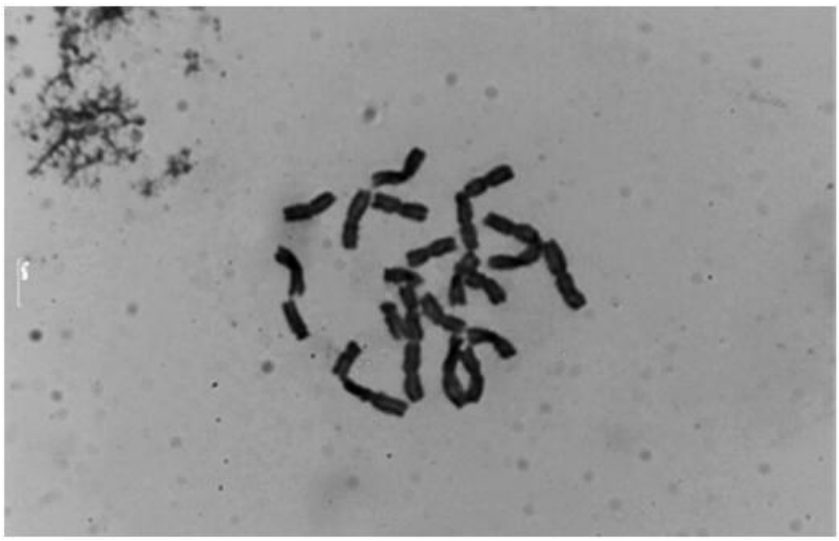

Figura 6. Metáfase da espécie *Capsicum annuum.* Fonte: os autores.

Figura 7. Cariótipo da espécie *Capsicum annuum*. Representação fotográfica dos pares cromossômicos. Fonte: os autores.

Depois das etapas acima você conseguiu visualizar os cromossomos das pimentas. O uso de substâncias químicas possibilitou o bloqueio das células em metáfase permitindo as análises cromossômicas e estudos de parentesco entre as espécies, os quais são fundamentais para a compreensão das espécies do gênero *Capsicum*, que podem ser usadas para fins de melhoramento genético e desenvolvimento de novos cultivares. Neste sentido, a Citogenética, através das diversas técnicas, é uma ferramenta eficiente para a avaliação genética das plantas e o conhecimento da diversidade vegetal.

Glossário

Antimitótica – diz-se da solução que impede a formação do fuso mitótico na metáfase.

Células somáticas – células que estão em maior número nos organismos e se dividem por mitose, gerando células idênticas à célula que as originou.

Estudo citogenético – área da genética que visa à obtenção de células no estágio de metáfase da divisão celular.

Histonas – proteínas associadas ao DNA e responsáveis pelo processo de compactação e descompactação do DNA.

Metáfase – fase da mitose em que os centrômeros dos cromossomos estão ligados as fibras do fuso celular e os cromossomos apresentam maior grau de condensação (são mais visíveis).

Preparações citológicas – processos utilizados na preparação de material para observação ao microscópio.

Substrato – suporte para germinação das sementes.

Referências

Guerra, M.; Souza, M.J. 2002. **Como observar cromossomos:** um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, 201p.

Reifschneider, F.J.B.; Nass, L.L.; Heinrich, A.G.; Ribeiro, C.S.; Henz, G.P.; Euclides Filho, K.; Boiteux, L.S.; Ritschel, P.; Ferraz, R.M.; Quecini, V. 2015. **Uma pitada de biodiversidade na mesa dos brasileiros**. Brasília: Embrapa.