

CROMOSSOMOS POLITÊNICOS

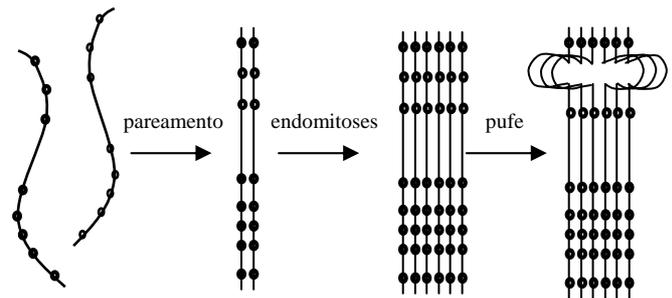
O termo “cromossomo” foi introduzido em 1888 por Waldeyer. Contudo, em 1881, Balbiani já havia descrito estruturas obtidas das glândulas salivares do díptero *Chironomus* que seriam conhecidas, três décadas adiante, como sendo os cromossomos politênicos. Estes cromossomos, assim como os cromossomos chamados plumosos, tem a sua origem em um tipo especial de núcleo poliplóide. Neste tipo de núcleo, os cromossomos homólogos e as novas cromátides irmãs, surgidas após cada ciclo endomitótico, são mantidos completamente pareados, lado a lado.

A replicação das cromátides, mantidas pareadas lado a lado, associada a uma descondensação do DNA, faz com que esses cromossomos se tornem progressivamente maiores. O seu aumento em tamanho torna possível a visualização de faixas escuras (bandas), formadas pela associação lateral dos cromômeros de cada uma das cromátides, e faixas mais claras (interbandas). O padrão de intercalamento das bandas e interbandas é específico para cada cromossomo, possibilitando a sua identificação individual, assim como o reconhecimento de rearranjos cromossômicos. Essas peculiaridades dos cromossomos politênicos os tornam extremamente importantes nas análises citogenéticas.

As glândulas salivares do estágio larval de diversas espécies de díptera são os órgãos onde é possível encontrar os cromossomos politênicos em seu melhor estágio para a visualização. Em determinadas situações, os cromômeros de uma banda ou faixa se descondensam dando origem a uma região menos densa e inchada chamada de pufe, relacionada a uma intensa atividade gênica, ou ainda, amplificação gênica. Esses pufes são excepcionalmente grandes em *Chironomus*, sendo denominados de anéis de Balbiani.

A investigação citogenética pode contribuir com um volume importante de informação – independente de caracteres morfológicos, bioquímicos, comportamentais,

entre outros –, que pode ser utilizada para a caracterização, a identificação e a determinação das relações evolutivas de diferentes espécies. Análises detalhadas de cada cromossomo politênico, em relação às suas faixas ou bandas, regiões de pufes e outras características, permitem a construção de mapas citológicos de grande valia para a comparação da organização genômica de diferentes espécies de dípteros.



Essa prática visa à preparação, visualização e análise dos cromossomos politênicos de *Drosophila melanogaster*. Embora possam ser obtidos em outros órgãos da larva, como os túbulos de Malpighi e os intestinos, as melhores preparações podem ser obtidas usando-se as glândulas salivares. As larvas a serem utilizadas são de moscas do estoque mantido em cultura no laboratório de genética, contudo, podem ser obtidas diretamente da natureza.

O ciclo de vida de *Drosophila*.

As moscas podem ser obtidas na natureza usando-se um recipiente de vidro com boca larga e iscas de bananas amadurecidas. As moscas adultas fazem as posturas nas iscas das quais se obtém, posteriormente, as larvas. É possível se usar diretamente meio de cultura que pode conter inúmeros ingredientes alternativos, entre eles: farinha de milho, açúcar mascavo, extrato de soja, farinha de centeio, sal e um anti-fúngico.

A duração do ciclo vital dessas moscas varia segundo a espécie e a temperatura. Aos 25⁰ C, o ciclo de vida de *D. melanogaster* ocorre com a seguinte cronologia: ovo-larva (3

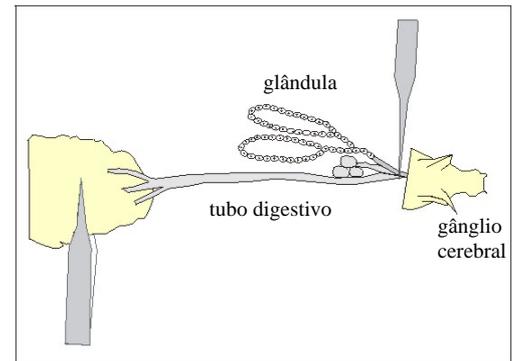
dias), larva-pupa (5 dias) e pupa-ímago (7 dias).

Material:

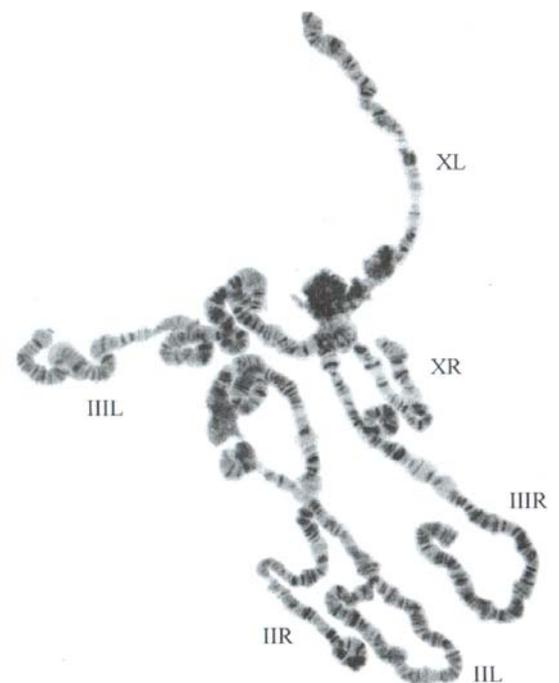
- o larvas de drosófila no 3º instar
- o lâminas e lamínulas de vidro
- o pinça de ponta fina e estilete – agulha histológica
- o papel-filtro, esmalte de unhas
- o lupa-microscópio
- o ácido acético 45 %
- o orceína acética 1 ou 2 %
- o óleo de imersão

Preparação:

- (a) escolher uma larva em estágio final de desenvolvimento, prestes a se tornar pupa.
- (b) colocá-la em uma lâmina com uma gota de solução de Ringer.
- (c) sob lupa com fundo escuro, prender o corpo da larva com pinça, observar os movimentos.
- (d) com outra pinça ou agulha histológica prender a cabeça.
- (e) com movimento firme, no sentido oposto ao do corpo, desprender a cabeça do restante do corpo --, várias estruturas serão liberadas, entre elas as glândulas – dois sacos translúcidos que flanqueiam bilateralmente o corpo.
- (f) transferi-las para outra lâmina com uma gota de ácido acético a 45 % por 2 minutos.
- (g) remover o ácido com o auxílio de papel absorvente e pingar uma gota de orceína, deixando corar por 5-10 minutos.
- (h) pingar uma gota de ácido acético para dar contraste.
- (i) proceder ao esmagamento com lamínula de vidro.



Representação esquemática da dissecação de uma larva de *Drosophila* (do Guerra e Souza, pg. 124).



Cromossomos politênicos de *Drosophila malerkotiana* (do Guerra e Souza, pg. 124).

Soluções:

- (a) Ringer - use um béquer de 1500 ml e coloque 500 ml de água destilada estéril. Dissolva 6,5 g de NaCl e em seguida 0,25 g de KCl e nessa ordem, 0,2 de NaHCO₃ e 0,3 de CaCl₂. Usar agitador.
- (b) Ácido acético 45% - misture 45ml de ácido acético e complete com água destilada até 100 ml.
- (c) Orceína acética - dissolver 2 g de orceína acética em 100 ml de ácido acético 45 %. Agitar por 10 minutos em agitador magnético.