

DIRETORES

Escola Superior de Agricultura e
Veterinária do Estado de Minas Gerais

VIÇOSA — E. F. Leopoldina

Prof. Nello de Moura Rangel
Prof. Geraldo G. Carneiro
Prof. Octávio A. Drummond
Prof. Joaquim F. Braga
Prof. Edgard Vasconcellos
Prof. Arlindo P. Gonçalves

Microsporogênese em *Araucária angustifolia* (Bertoloni) O. Ktze.

EDGARD ALENCAR

(Do Depto. de Biologia)

INTRODUÇÃO

A escassês de literatura sobre a biologia da nossa *Araucária*, a ausência de dados que afirmam as épocas mais ou menos determinadas em que se passam os estados críticos do ciclo de vida dessa gimnosperma e o desejo de incluir o estudo desta planta nas ligeiras noções de «Morfologia Vegetal» ministradas ao complementar de botânica desta Escola, levou-nos à colheita de alguns dados citológicos que exporemos neste despretencioso trabalho.

A morfologia da *Araucária angustifolia*, foi detalhadamente estudada por L. L. Burlingame em três trabalhos publicados sucessivamente na «Botanical Gazette», em que o autor analisa com grande minuciosidade a microesporogênese e embriologia dessa planta.

Como dissemos de início, era nosso desejo saber as datas em que se processam determinados fenômenos críticos no ciclo de vida desse vegetal. Tendo Burlingame feito seus estudos com material de nossa *Araucária* introduzido na Califórnia, é claro que seus dados com relação a datas, não nos serviriam, considerando-se o ciclo de vida da planta no nosso meio.

Coligimos, também, alguns dados sobre a meiose dessa gimnosperma, acrescentando-se assim, um pouco mais de

conhecimentos sobre a sua microsporogênese, pois, o autor acima citado, não conseguiu informações sobre a redução cromática, não tendo sido também verificado em outra parte a existência de qualquer trabalho nesse sentido. No que diz respeito à bibliografia necessária à discussão do assunto, enfrentamos grandes dificuldades, pois não tivemos ao nosso alcance revistas em que encontrássemos trabalhos sobre a redução cromática em plantas relacionadas à Araucária. Aliás, a mesma parece ser muito escassa.

Na segunda parte deste trabalho, exporemos os resultados de nossas pesquisas sobre a microsporogênese, ao mesmo tempo que tentaremos expor em forma didática, o ciclo de vida dessa gimnosperma.

Neste primeiro trabalho daremos os principais fenômenos que se verificam na microsporogênese, até a fase em que o polen é libertado; não sendo considerado aqui, com detalhe, o tubo polínico e os gametas masculinos. Por ser este um estudo que exige o exame detalhado de copioso material, será objeto de pesquisa especial, e os resultados serão publicados na segunda parte.

Não poderíamos encerrar esta introdução sem expressarmos os nossos mais vivos agradecimentos ao dr. Chotaro Shimoya, a cuja valiosa colaboração devemos não só os desenhos e microfotografias que ilustram este trabalho, como ainda a leitura de numerosas preparações.

MATERIAL E MÉTODOS

Todo o material utilizado no estudo da microsporogênese do pinheiro do Paraná, foi colhido das árvores que ornamentam a Avenida do Departamento de Agronomia da ESAV, onde existem inúmeros exemplares de ambos os sexos.

Na fixação experimentamos o líquido do Carnoy como tratamento prévio — por ser o mesmo de penetração muito rápida — a outros líquidos, mas os resultados foram inteiramente falhos, pois, aquele líquido provoca terrível plasmólise nas células microsporogênicas.

Empregamos também o fixador de Petrunkevitch, com resultados idênticos. Com o fixador de Graf, obtivemos boa fixação, mas era muito pequeno o número de células em redução que se conseguia. Talvez, a natureza mucilaginosa da membrana dos meiócitos dificultasse a penetração desse líquido.

Conseguimos ótimos resultados para todos os estágios

da microsporogênese com o fixador de Nawaschin, usado segundo a seguinte fórmula:

| | | | |
|---------|---|---------------|----------|
| Sol. A. | { | Ácido crômico | 1,5 grm. |
| | | Ácido acético | 10 cc |
| | | Água dist. | 90 cc |
| Sol. B. | { | Formol | 40 cc |
| | | Água dist. | 60 cc |

Partes iguais dessas duas soluções eram ministradas no momento da fixação. Para facilitar a penetração do flúido fixador, cortavam-se secções de dois a três milímetros de espessura nos estróbilos, pedaços estes que permaneciam no fixador durante 24 horas. À fixação seguia-se o método usual de impregnação pela parafina. Todas as secções foram coradas pela hematoxilina férrica. Todos os cortes foram feitos com 10 micra de espessura.

Para que não se perdesse tempo com material em fases atrasadas ou por demais adeantadas, verificávamos antes o estágio das células microsporogênicas do estróbilo a ser fixado, pela coloração pelo ácto-carmin, macerando-se o tecido com um estilete de ferro em vez de se adicionar sais deste metal à solução corante. Só se conseguem boas preparações pelo método de Belling, deixando a preparação entrar em ebulição duas ou três vezes em uma chama. Talvez a natureza da membrana dos meiócitos dificulte a penetração do corante, tornando-se necessário o emprego desse método violento.

FLOR MASCULINA

O estróbilo estaminado na *Araucária angustifolia* é simples, os microsporófilos nascem diretamente sobre o eixo do cone, não possuem brácteas, todo o cone masculino constitue portanto uma flor e não uma inflorescência. (Figs. 1 e 2).

O tamanho dos estróbilos masculinos é muito variavel. Segundo Koscinski, vai desde 5 cm. até 20 cm. de comprimento e de 1 a 4 cm. de diâmetro, quando maduro. Como observou o autor acima citado, o estróbilo masculino quando verde é erecto (fig. 1) virando para baixo após a deiscência.

Não procuramos avaliar em Viçosa, o número de grãos de polen que cada estróbilo produz, mas, segundo os estudos de Burlingame (na California) feitos em *A. angustifolia* lá introduzida, cada cone possui 1.000 esporófilos e cada microsporângio contem de 500 a 1.000 grãos de polen. Tendo sido

aqui verificado que cada microsporófilo contem em média 16 microsporângios, o cálculo mostra que cada cone produz de 8 milhões a 16 milhões de grãos de polen.

MICROSPOROGÊNESE

Cada microsporófilo contem em média 16 microsporângios. O tecido microsporogênico apresenta-se nos microsporângios em quatro ou cinco camadas de células poliédricas, de núcleos grandes e citoplasma denso (fig. 3).

Estas células acham-se envolvidas por uma camada de células do tapete, cujos núcleos embora bem grandes, apresentam-se menores que os das células mães e de citoplasma menos denso.

Em Setembro encontramos os primeiros estróbilos com as células mães em redução. Desde o mês anterior vinhamos procurando, pelo método de esmigalhamento de Belling, verificar a época do início da redução cromática.

Colhendo material em diversos pés, constatamos que nem todos entravam em redução cromática ao mesmo tempo, uns se adiantando muito enquanto que outros ainda se encontravam com o tecido microsporogênico no estado de células mães.

Apesar de fazermos exame do material quasi diariamente, somente nos primeiros dias de Setembro fomos encontrar as primeiras células mães em divisão. Alguns estróbilos já haviam passado o estágio de redução cromática, sendo bem provavel que alguns pés tivessem iniciado a redução bem antes da data acima citada.

Sendo grande o número de pinheiros na ESAV, pudemos verificar que durante todo o mês de Setembro e parte de Outubro, encontram-se indivíduos cujos estróbilos masculinos estão ainda em meiose.

Após as últimas divisões das células do tecido microsporogênico, as células mães dos grãos de polen, já muito próximas da meiose, e que antes se apresentavam formando um tecido compacto de células poliédricas, começam a se separar uma das outras, deixando de constituir um tecido cerrado, para se apresentarem livres, irregulares e de membranas muito delgadas.

Os núcleos destas células apresentam-se colocados numa posição bem central e têm 12,5 a 14,5 micra de diâmetro. Acham-se presentes nessa ocasião, 1 a 3 núcleolos, que se coram intensamente.

A matéria cromática nas células mães, mostra-se espa-

lhada na cariolinfa. Não apresenta aspeto reticular que se possa denominar «rede cromática», antes pelo contrário, tem aspecto granuloso e acha-se bastante difusa, não tomando com intensidade os corantes. (Fig. 4).

Nessa ocasião, as células do tapete apresentam-se, em sua maioria, uninucleadas e com a substância cromática também em forma de grânulos, porém, mais espessos e colorindo-se com mais intensidade, o que, muitas vezes, dificulta a observação dos nucléolos, os quais nem sempre estão presentes. Estas células são facilmente distinguidas das células mães, pelo menor diâmetro de seus núcleos e pela menor densidade do citoplasma.

Ao se iniciar a profase da primeira mitose, a cromatina, que antes se apresentava granulosa, dispõe-se em retículo, formado por filamentos delgados irregulares e anastomosados. O núcleo mede então, cerca de 17 micra de diâmetro. Os nucléolos desaparecem muito cedo. Em células mães já próximas do estado leptonêmico, estes corpúsculos nucleares já não existem mais. (Fig. 5).

Em franca profase, a rede cromática se decompõe aos poucos, pelo desaparecimento das anastomoses e regularização dos filamentos, em finos cromonemas muito regulares nos quais se vêem, com grande nitidez os cromômeros dispostos em série. Temos então, o estado de leptonema.

Esses filamentos leptotenos, apresentam-se entrelaçados, mas, mesmo assim, em alguns meiócitos, podem ser vistos individualmente.

Em seguida, esses filamentos, sem sofrerem nenhuma transformação em sua aparência, colocam-se aos pares, constituindo então a fase de zigonema, bem visível e facilmente caracterizada nas preparações. (Fig. 6).

A membrana nuclear, durante esses dois primeiros estágios, leptonema e zigonema, é bem visível.

A passagem do núcleo, do estado de zigonema ao estado de paquinema, é caracterizada por uma aglutinação e entrelaçamento dos filamentos zigonêmicos, os quais, antes, eram bem visíveis e homogêneos.

Muitas preparações foram observadas com filamento cromático muito delgado, compactamente enrolado em novelo e intensamente colorido. Deduzimos tratar-se de uma figura consecutiva ao estado de zigonema, por haver a membrana nuclear desaparecido. (Fig. 7 e 8).

Os filamentos zigonêmicos sofrem transformações tão profundas que o filamento cromático se apresenta como um

conjunto muito irregular em que já não se distingue mais, o menor vestígio do aspecto anteriormente apresentado.

Iniciando-se o estágio paquinema, o filamento cromático cora-se cada vez mais intensamente, tendência esta que se acentua à medida que progride o processo e ao mesmo tempo que o filamento se espessa.

Neste estágio, como já foi dito anteriormente, a membrana nuclear já desapareceu.

Neste mesmo estágio, verifica-se uma grande tendência dos filamentos cromosômicos para a contração; mas nem sempre, até pelo contrário, esses elementos contraídos colocam-se em posição excêntrica, e nem mesmo existe a membrana nuclear permitindo determinar tal posição. (Figs. 9 e 10).

Essa contração pode-se verificar em diversas ocasiões no estado de paquinema. Assim, às vezes, dá-se no início, quando o filamento é ainda pouco espesso e de contorno irregular ou mais para o fim, quando o filamento já se cora mais densamente, é mais espesso e também mais regular e homogêneo. É possível que essa contração se dê em duas ocasiões, como foi verificado na meiose da *Oenothera*.

Embora não se possa afirmar a colocação excêntrica desse amontoado de filamentos cromáticos, as figuras lembram o que tem sido descrito por vários citologistas, sob o nome de sinisese.

Poucas figuras foram vistas que pudessem ser interpretadas como diplonema. Nas preparações em que tais figuras foram observadas, os cromosomas já se apresentavam muito mais curtos, embora mais longos que na metafase, de contorno já relativamente homogêneo e também aos pares, cujos elementos eram facilmente visíveis. Nesse estágio não se observou uma só tétrada cromosômica e, como já foi dito acima, apresentam-se os cromosomas aos pares. Todavia, devido se superporem, e muitas vezes por se amontoarem, não é fácil a contagem. (Fig. 11 e 11a.)

Ao contrário do que acontecia anteriormente, encontraram-se várias figuras representativas da diaquinese. Neste estado, os cromosomas já se apresentam como corpos compactos, intensamente coloridos e também muito reduzidos em comprimento, o qual é idêntico ao comprimento apresentado na metafase. As figuras formadas pelos cromatídeos são bem características deste estágio, tais como em forma U, X, etc. conforme o ponto de contacto dos elementos seja no meio ou extremidades.

Nos microsporângios com meiócitos profásicos, a maio-

ria das células do tapete já se achava binucleada e algumas em divisão mostrando os seus cromosomas somáticos, longos, bem característicos.

Nos meiócitos apresentam-se inúmeros pequeninos grãos de amido, colocados no extremo oposto ao núcleo, quando este se acha situado excentricamente na célula, o que constitue o caso mais geral.

Quando os núcleos desses meiócitos se encontram no centro, os grãos de amido apresentam-se ao seu redor, formando uma zona mais clara no citoplasma, circundada por uma zona mais escura, externa, onde não se encontram os mesmos grãos.

Passando à metafase, com o aparecimento do fuso acromático, os cromosomas colocam-se regularmente no equador da célula, em forma de alças com as aberturas voltadas para os polos. Apresentam-se sempre muito cerrados.

A contagem dos cromosomas nesta fase, embora tivesse sido feita em várias figuras, não é cousa facil, pois os mesmos, apesar de não serem de tamanho diminuto, apresentam-se sempre muito juntos, o que dificulta ve-los isoladamente. Nesta fase já se podem ver as tétradas cromosômicas.

O número de cromosomas em *Araucária angustifolia* é oito, como foi verificada por Burlingame (1).

Como se pode ver pelas figuras 13 e 14 que representam uma diaquinese vista de um dos polos do núcleo, os cromosomas não são todos do mesmo tamanho. Contudo, não nos foi possível verificar se existe ou não desigualdade de tamanho ou forma em dois elementos de uma mesma diada, como se podia esperar, por se tratar de um vegetal dióico.

Dadas as poucas figuras que se prestavam a tais observações, apesar do grande número de lâminas examinadas, a questão relativa à morfologia dos cromosomas de nossa *Araucária* será objeto de outro estudo, quando analizarmos a mitose somática nas células meristemáticas das raízes.

A figura representada no desenho 18 e na microfotografia nº. 12 não foi tomada como base para a morfologia dos cromosomas pelo fato de não termos obtido outras figuras que se prestassem a tal estudo. Seria audacioso tirar-se conclusões definitivas fundamentadas em uma única lâmina.

Como ficou dito acima, não encontramos na metafase diferenças entre dois cromosomas homólogos de modo a lhes atribuir a distribuição dos sexos à progênie. Porem, na

anafase, a migração dos cromosomas para os polos da célula, não se dá simultaneamente para todos os pares, ha sempre um par que precede aos demais nesse movimento. Pelo que foi observado, parece tratar-se sempre, de um mesmo par, pois, os cromosomas que são vistos precederem aos outros, apresentam sempre o mesmo tamanho, a mesma forma, sendo um deles reto e outro ligeiramente curvo. (Fig. 14).

O estudo da distribuição dos sexos nas plantas, com relação aos cromosomas, tem sido feito em diversos vegetais dióicos. É assim que na Briófitas, *Sphaerocarpus Donelli*, o esporófito tem oito pares de cromosomas, incluindo um par muito desigual XY, cujos cromatídeos disjuntam-se na primeira mitose e dividem-se na segunda, sendo o cromosoma X muito maior que o cromosoma Y.

Dos quatro esporos que se formam, dois, com sete autossomas mais cromosoma X, darão gametófitos femininos, enquanto que os esporos cujos núcleos levam sete autossomas mais o cromosoma Y, darão os masculinos.

Ainda nas Briófitas, cromosomas sexuais bem diferenciados foram determinados no gênero *Pellia*.

Nas Angiospermas, em *Elodea canadensis*, especie dióica, foi verificada a presença de heterocromosomas nos núcleos da célula e a sua distribuição nos dois sexos, sendo os cromosomas sexuais do tipo XY. Os núcleos das células dos indivíduos femininos contém os cromosomas X, e os masculinos um cromosoma X e outro Y.

Esse tipo XY (m) XX (f) foi ainda encontrado em *Melandrium album*. Outros tipos de heterocromosomas têm sido determinados em diversos vegetais superiores.

Como dissemos anteriormente, não verificamos par de heterocromosomas em nenhuma metafase. Mas, foi observada com muita frequência, uma diferenciação fisiológica entre determinado par e os cromosomas restantes. Um par de cromosomas, sempre o mesmo, migra primeiro para os polos. Estes cromosomas são facilmente identificáveis por se apresentarem sempre retos ou ligeiramente curvos enquanto que os outros apresentam-se em forma de alças.

Algumas figuras mostravam apenas 2 cromatídeos indo para um dos polos e outras mostravam 4 cromatídeos, sendo 2 para cada polo. (Figs. 14, 15, 16, 17 e 18).

Essa migração prévia, (precessão), foi verificada no Hemiptero, *Oncopeltus fasciatus*, estudado por Wilson (Dreyfus). Neste Hemiptero, apesar dos cromosomas sexuais serem idênticos nos dois sexos, distinguem-se dos autossomas por não apresentarem intensa união como a que se observa en-

tre os 2 componentes de cada par de autosomas na profase da primeira mitose de maturação. Na anafase os cromosomas sexuais movimentam-se para os polos antes dos autosomas.

Não observamos essa fraca união entre quaisquer elementos cromosômicos, mas, repetimos, há sempre um par de cromosomas que precede os outros no movimento anafásico.

Quasi todas as anafases encontradas ou eram finais ou iniciais. Nas primeiras, todos os cromosomas já se apresentavam nos polos. Quando as figuras observadas representavam o início dessa fase, os outros cromosomas achavam-se ainda dispostos no equador da célula enquanto que os cromosomas em questão, já haviam percorrido meio caminho ou mesmo já se encontravam em situação polar.

E' usual a migração de 2 cromatídeos para cada polo, provavelmente 4 elementos de uma mesma tétrada cromosômica que assim se distribuem. (Fig. 18).

São também muito frequentes figuras em que se vêm apenas 2 cromatídeos dirigindo-se para um mesmo polo (figs. 14 e 15). Estes cromatídeos em algumas figuras podem ser identificados mesmo quando todos os cromosomas já chegaram aos polos, por se apresentarem retos ou ligeiramente curvos, como já ficou dito antes, enquanto que os outros se apresentam em forma de alças.

Chegando aos polos da célula, os cromosomas se reúnem e reconstituem os dois núcleos filhos, rodeados por uma membrana. (Fig. 19).

Nesses núcleos, que são de forma elíptica, como se pode vêr pela fig. 19, uma vez organizados, não se distinguem mais os cromosomas. Ainda aqui, com relação à estrutura do núcleo, a cromatina se apresenta em forma de grânulos, não formando rede. Parece que a fase de organização dos núcleos filhos é muito rápida, pois, enquanto que são abundantes as figs. mostrando-os já organizados, é pequeno o número de células em que se vêm cromosomas em situação polar, o que mostra ser muito rápida essa transformação.

Após a constituição dos dois núcleos filhos, não há formação de membrana mediana, separando duas células.

A segunda divisão segue-se sem qualquer particularidade digna de menção. As membranas dos dois núcleos desaparecem, a cromatina volta a se condensar em cromosomas que tomam posição formando as placas equatoriais; em seguida, vêm-se os cromosomas das díadas se separarem e se dirigirem para os polos, formando-se então 4 grupos haploides que se dispõem como os vertices de um tetraedro.

Atingidos os polos, os cromosomas se desintegram,

reorganizando-se em 4 grupos envolvidos cada um deles por sua membrana. (Figs. 20 e 21).

Em seguida, constituídos os 4 núcleos da téttrade, aparece nas zonas citoplásmicas intermediárias, pelo espessamento equatorial dos filamentos fusoriais, a membrana que irá limitar os citoplasmas pertencentes a cada um dos quatro micrósporos. (Fig. 22).

Após a redução cromática, com a formação dos quatro micrósporos, seguem-se as sucessivas divisões dos núcleos. De cada um dos micrósporos forma-se então, um grão de polen, que ao ser libertado possui em geral 20 a 24 núcleos.

Segundo Chamberlain (2), em Araucária e outras Coníferas de duas ou mais células protaliais, as primeiras duas células, e algumas vezes uma terceira, formam-se como em *Pinus*, isto é por sucessivas divisões periclinais do núcleo do micrósporo. É raro encontrar-se mais de duas células formadas como em *Pinus*, e quando a primeira célula protalial se divide periclinamente, parece terem sido as três células formadas pela modalidade de *Pinus*. A primeira divisão nas células protaliais primárias é quasi sempre anticlinal; e mesmo quando há doze células protaliais, pode não haver divisões periclinais.

O que acima foi exposto, é o que se verifica nas divisões do núcleo do micrósporo do nosso pinheiro e que ficou muito bem esclarecido no trabalho de Burlingame sobre esta planta.

O núcleo do micrósporo dividindo-se, forma a primeira célula protalial, esta, coloca-se a um canto do micrósporo e o outro núcleo permanece livre. Nestas mitoses sucessivas, os núcleos são frequentemente vistos nas diversas fases; os cromosomas na metafase, apresentam-se longos, como os verdadeiros cromosomas somáticos encontrados nas raízes, ao contrário dos cromosomas que se formam durante a meiose, que comparados com estes são muito curtos.

Após a formação das duas primeiras células protaliais estas entram novamente em divisão, dando origem a novas células que se colocam umas ao lado das outras, nunca formando mais do que duas camadas. (Figs. 23, 24 e 25).

Após a formação das duas primeiras células protaliais, ou enquanto estas se dividem para formar novas células, o núcleo livre torna a se dividir dando origem ao núcleo do tubo polínico e à célula germinativa, g. (Figs. 25 e 26).

Segundo Burlingame (1) enquanto as células protaliais se dividem, a célula germinativa produz a célula espermatógena primária e a célula suspensora, que fica ao lado da primeira. Esta célula suspensora, é assim chamada, por ho-

mologia à célula suspensora do grão de polen de *Pinus*, em que a sua posição corresponde a tal denominação.

Examinamos inúmeras lâminas do grão de polen em formação, mas, infelizmente, não conseguimos nenhuma figura que mostrasse a célula geradora e a célula suspensora.

O grão de polen é posto em liberdade no estado representado pela fig. 27. Pode apresentar nessa ocasião até 24 núcleos protaliais. Estes, que bem antes do grão de polen se achar em condições de ser libertado apresentam-se em camadas dispostas com regularidade, com os respectivos protoplasmas limitados por delicadas membranas, apresentam-se, agora, dispostos irregularmente no citoplasma geral, tendo todos aproximadamente o mesmo tamanho, com excepção do núcleo da célula espermatogena, «body-cell», que é maior que todos os demais e mostra-se circundado por bem delimitado citoplasma. (Fig. 27).

Em Viçosa, a polinização tem início já bem no fim de Setembro; nessa ocasião, os jovens estróbilos femininos destinados a serem polinizados pelo polen que ora é posto em liberdade, têm apenas 3 cm. de comprimento e em suas escamas não se vêem ainda nem mesmo vestígios dos óvulos.

Examinando esses estróbilos, para ver onde se alojavam os grãos de polen, só fomos encontrar esses últimos germinados nos fins de Novembro, o que nos leva a deduzir que, após a polinização, os grãos de polen levam cerca de 2 meses para germinar.

Com relação às pinhas que se formaram no ano passado, os gametângios em Setembro (época em que se dá a polinização dos cones femininos recémformados) apresentavam-se ainda no estágio nuclear livre, e em muitas lâminas estes núcleos eram encontrados em franca divisão.

Nestes cones femininos, formados e polinizados no ano anterior, só no início de Novembro fomos encontrar arquegônios já formados e em condições de serem fecundados. Porém, em alguns pés mais precoces, encontramos, também proembriões já bastante desenvolvidos.

Donde se pode concluir que o espaço de tempo entre a polinização e a fecundação é aproximadamente de um ano e um mês. Durante todo este tempo, são encontrados os tubos polínicos muito ramificados, entre as escamas ovulíferas; o seu citoplasma apresenta-se muito ativo, muito rico em inclusões, e os núcleos protaliais são numerosíssimos.

Como foi verificado por Burlingame, também tivemos ocasião de observar que, depois de penetrarem no núcleo, os tubos polínicos se ramificam muito, antes de alcançarem os arquegônios.

ABSTRACT

Studying the microsporogenesis of *A. angustifolia* in Viçosa, State of Minas Gerais, we have obtained some cytological data about the meiosis in this gymnosperm.

In microspore mother cells which are very near the beginning of prophase of the first mitosis the nucleoli have already disappeared. The nuclear membrane disappears during the pachynema stage.

The chromatin has an accentuated tendency to shrink during the stages that follow the zygonema stage.

Being *A. angustifolia* a dioicous plant we thought to find sex chromosomes belonging to the types already described for several plants and animals.

We could not find any difference between the members of a same diad, but we observed to be frequent a physiological behavior, different from that of the other chromosomes in the members of a same chromosomic tetrad.

These chromatids begin first the poleward movement as it was observed by Wilson in the Hemipterus *Oncopectus fasciatus*. By their function in advance and by some slight differences presented by them, they could be differentiated from the others during anaphase.

In Viçosa the reduction division occurs in September. Pollen grains begin to be shed in the last days of September.

The pollen grains were found germinated two months after pollination.

The period that goes from pollination to fertilization is about one year and one month.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Burlingame, L. L. — The morphology of *Araucaria brasiliensis*. Bot. Gazette 55:97—114. Fls. 45. 1913.
- (2) Chamberlain, Charles Joseph — *Gymnospermus Structure and Evolution*. The University of Chicago Press.
- (3) Van Tieghen — *Traité De Botanique*.
- (4) Koscinski, Manssuetõ — *O Pinheiro na Silvicultura Paulista*.
- (5) Sharp, Lester W. — *Introduction To Cytology*. McGraw-Hill Book Company. In. (1934).
- (6) Guilliermond A. — G. Mangenot e L. Plantefol — *Traité de Cytologie Végétale*. Librairie E. Le François — Paris.
- (7) Strasburger — *Tratado de Botânica*.
- (8) Dreyfus A. — *Chromosomas e Sexo*. Separata da revista «*Medicina Cirurgia Pharmacia*».
- (9) Chamberlain, Charles J. — *Methods In Plant Histology*. The University of Chicago Press.
- (10) Johansen, Donald Alexander — *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Company. Inc. 1940.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Todas as microfotografias foram tiradas com a «Miflex» Zeiss 9 x 12. Por conveniência técnica, a fig. 10 e 11a. foi ampliada para 1250 vezes o natural. Os desenhos foram feitos com Zeichenapparat, com o aumento de 1250 vezes.

- Fig. 1 — Ramo mostrando as flores masculinas bem antes da deiscência.
- Fig. 2 — Flor masculina, corte transversal da mesma, microsporófilos vistos da face dorsal e ventral e cortes transversais das mesmas.
- Fig. 3 — Microfotografia mostrando o tecido microsporogênico em corte transversal. x 480.
- Fig. 4 — Desenho de célula mãe do grão de polen antes de entrar em redução, mostrando o estado da cromatina. x 1250.
- Fig. 5 — Desenho da célula mãe já muito próxima de entrar em redução, x 1250.
- Fig. 6 — Desenho de meiócito no estágio zigonema. x 1250.
- Fig. 7 — Desenho de meiócito mostrando o estado da cromatina após estágio zigonema.
- Fig. 8 — Microfotografia do mesmo estágio da fig. 8 (9x90x1,5).
- Fig. 9 — Desenho mostrando o estado de contração da cromatina durante o estágio paquinema, x 1250.
- Fig. 10 — Microfotografia do mesmo estágio da fig. 9 x 1240.
- Fig. 11 — Desenho representando o estágio diplonema.
- Fig. 11a. - Microfotografia da célula representada na fig. anterior, x 1240.
- Fig. 12 — Microfotografia mostrando os 16 cromosomas. Embora esta figura mostre os cromosomas em tamanhos diferentes, essa desigualdade não é verificada quando os mesmos se apresentam arranjados no

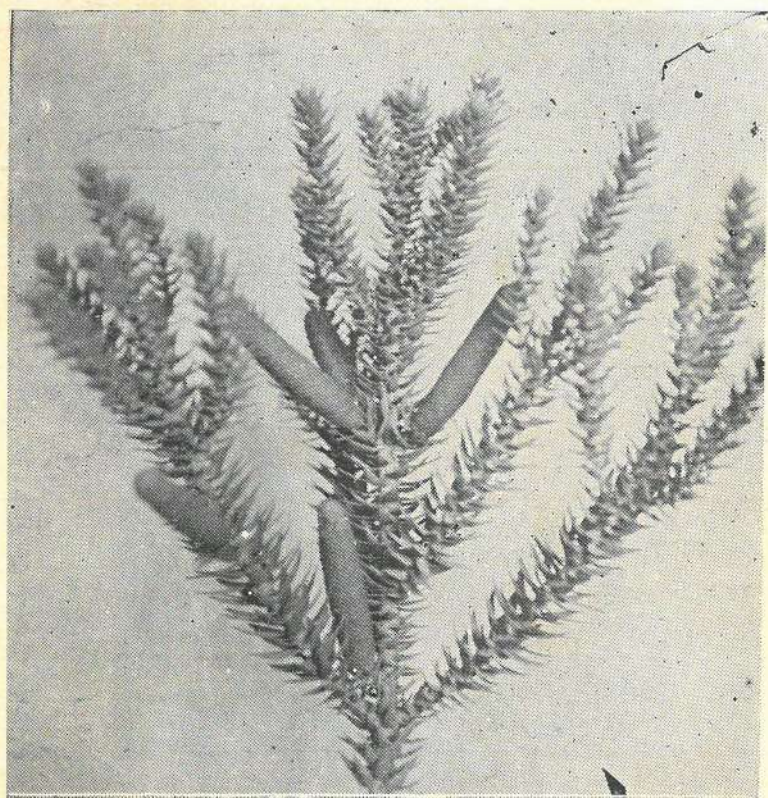


Fig. 1

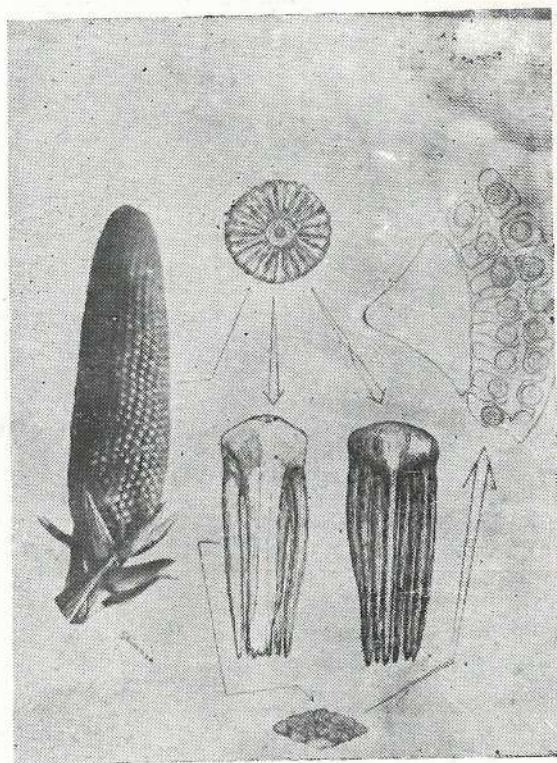


Fig. 2

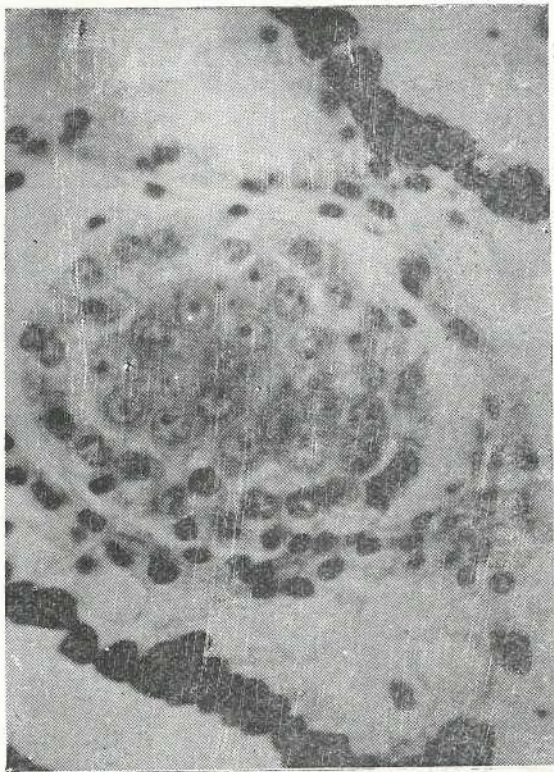


Fig. 3

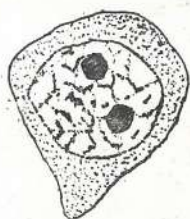


Fig. 4

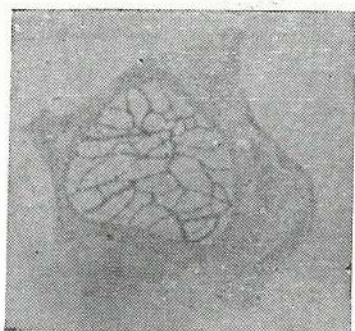


Fig. 5

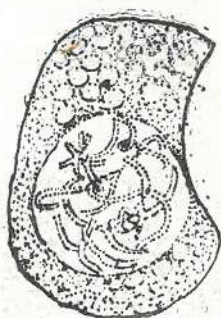


Fig. 6

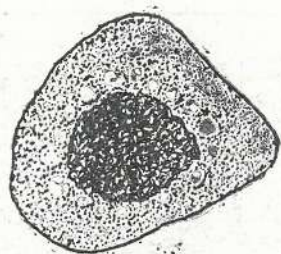


Fig. 7



Fig. 8

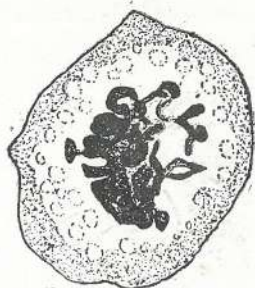


Fig. 9

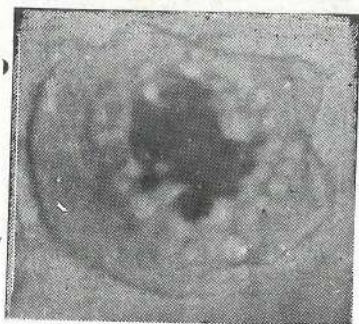


Fig. 10



Fig. 11

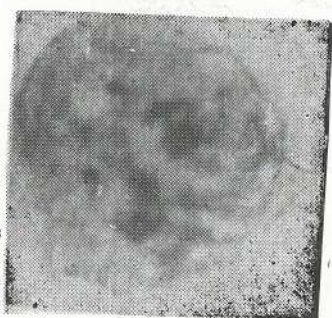


Fig. 11a.

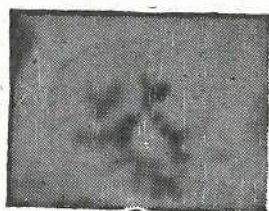


Fig. 12

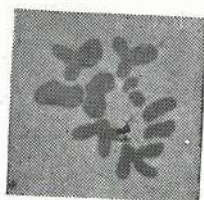


Fig. 13



Fig. 14

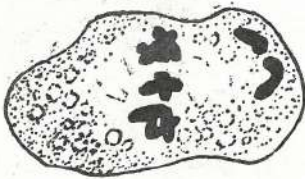


Fig. 15

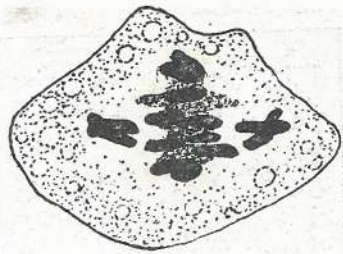


Fig. 16



Fig. 17

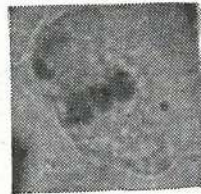


Fig. 17a.



Fig. 18

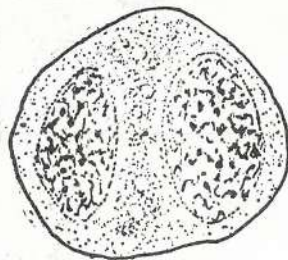


Fig. 19

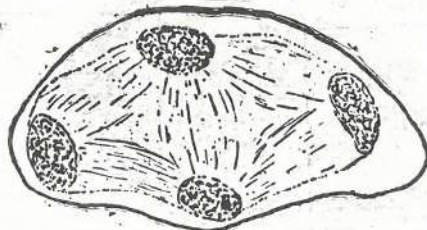


Fig. 20

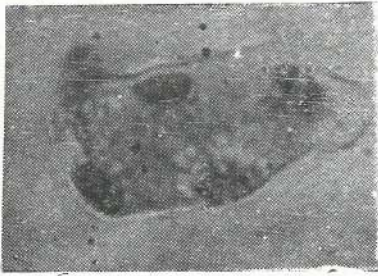
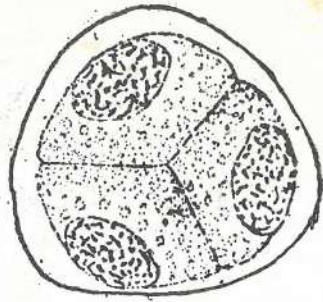
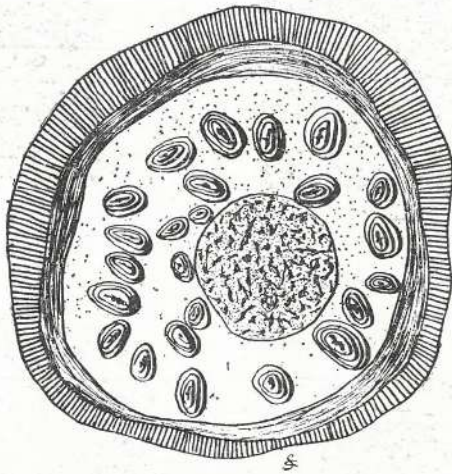


Fig. 21



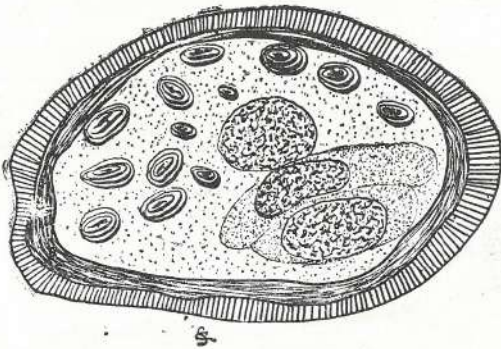
♂

Fig. 22



♂

Fig. 23



♂

Fig. 24

Fig. 25

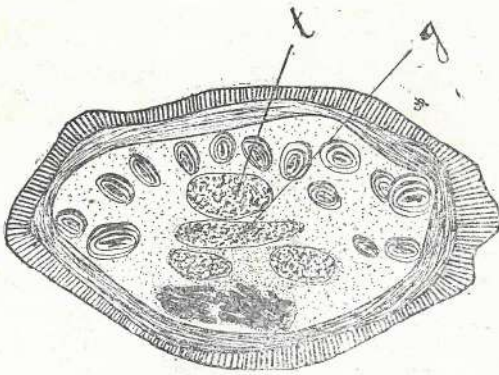
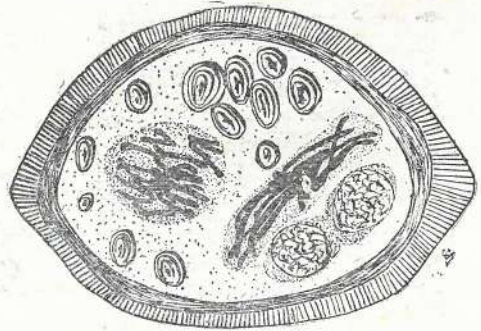
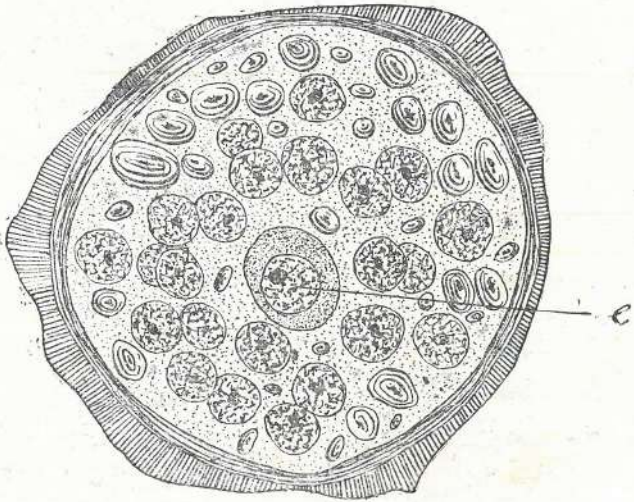


Fig. 26

Fig. 27



equador do núcleo ou nos polos dos meiócitos, onde sempre se mostram em forma de alças, com exceção dos cromosomas que apresentam o fenomeno de precessão, x 1080.

Fig. 13 — Desenho da mesma célula apresentada na fig. 12. x 1240.

Fig. 14 — Microfotografia mostrando uma díada em «precessão» x 1080.

Fig. 15 — Desenho mostrando 1 díada em precessão. x 1240.

Fig. 16 — Desenho mostrando 2 díadas em precessão. x 1240.

Fig. 17 — Microfotografia mostrando 2 cromatídeos iniciando a migração prévia. x 810.

Fig. 17a. - Microfotografia mostrando os dois cromosomas já nos polos. x 1215.

Fig. 18 — Microfotografia mostrando 4 cromatídeos quasi nos polos, tendo sido distribuidos 2 para cada polo.

Fig. 19 — Desenho de um meiócito em interfase. x 1240.

Fig. 20 — Desenho de uma telofase da 2ª. mitose.

Fig. 21 — Microfotografia da mesma célula apresentada no desenho anterior. x 1215.

Fig. 22 — Desenho mostrando uma tétrada já formada. x 1250.

Fig. 23 — Micrósporo uninucleado x 1250.

Fig. 24 — Primeiras células protaliais e o núcleo livre. x 1250.

Fig. 25 — A primeira célula protalial já dividida anticlinalmente, a 2ª. em divisão, o núcleo livre dividindo-se para formar a célula geradora e o núcleo do tubo polínico. x 1250.

Fig. 26 — Desenho mostrando o núcleo da célula geradora g. e o núcleo do tubo polínico t. x 1250.

Fig. 27 — Grão de polen já formado, no estado em que é posto em liberdade. (e) célula espermátogena. x 1250.