

DIRETORES

Novembro e Dezembro - 1944

Prof. Gladstone A. Drummond
Prof. Arlindo P. Gonçalves
Prof. Manuel da Costa Lana
Prof. Erly Brandão
Prof. Paulo T. Alvim Carneiro

VOL. VI

N. 32

VIÇOSA — MINAS

Caixa postal, 4 — ESAV — E. F. Leopoldina

OBSERVAÇÕES CITOLÓGICAS EM CHALMOOGRA

CHOTARO SHIMOYA (*)

A) Introdução

No melhoramento das plantas é, sem dúvida, de máxima importância o conhecimento da fertilidade do pólen e do óvulo. No caso que estudamos no presente trabalho, como as plantas de Chaulmoogra já apresentavam frutos e sementes, não havia dúvida sobre a fertilidade acima referida; no entanto a existência de plantas estaminíferas e hermafroditas cultivadas em conjunto, poderia ser responsável pela frutificação. De outro lado a opinião corrente na Escola, favorável à eliminação das plantas estaminíferas, nos levou a estudar a fertilidade das flores hermafroditas. Realizamos assim esse trabalho com o intuito de contribuir para o conhecimento da biologia da Chaulmoogra, (*Tarakto-genus kurzii*, King) que tanto interesse tem despertado nos últimos tempos.

B) Material e métodos

Todo o material usado neste estudo da Chaulmoogra foi colhido nos pomares de plantas anti-leprosas da E. S. A.

Os galinhos com botões, ou botões simplesmente, conforme o dia de trabalho, eram colhidos no referido pomar, diariamente, trazidos para o laboratório, onde em seguida, eram tratados pelo método de esmagalhamento com aceto-

(*) Agr. Prof. do Depto. de Biologia.

carmin a 45%, afim de se determinar o início da divisão meiótica que teve lugar no dia 14 de Outubro. Conhecido o estado fisiológico, o material previamente preparado, foi fixado no fluido de «Nawaschin» e seguiu-se o método usual de impregnação pela parafina. Os cortes foram feitos com 8 a 10 micra de espessura e corados pela hematoxilina fér-rica de Heidenhain.

Os desenhos foram feitos com o auxílio de uma câmara clara «Carl Zeiss Jena n° 6966», usando-se a objetiva de imersão 100x e ocular 7x.

As microfotografias não foram tiradas devido à falta de material.

C) Microsporogênese

De acôrdo com o plano preestabelecido, as flores foram estudadas separadamente.

1) *Flor unissexual masculina.*

O núcleo da célula mãe do grão de pólen conserva a sua forma normal arredondada, colorindo-se, porém, menos intensamente do que o citoplasma envolvente, e o seu diâmetro mede cerca de 9 micra, (Fig. 1).

Ao iniciar a prófase, o volume da célula aumenta e o seu citoplasma colore-se mais levemente, quando os filamentos começam a mostrar-se de um modo mais claro. Neste estágio, nota-se que a maior parte dos filamentos cromáticos se condensam perto de um nucléolo, dando um aspecto de estágio leptonêmico (denso); e logo em seguida, os filamentos começam a expandir-se gradualmente. Mas, enquanto o nucléolo é visível, boa parte dos filamentos conserva-se mais ou menos ligada a ele — estágio leptonêmico (frouxo). Este estado dura um período maior que os demais subsequentes, e os cromonemas aparecem como meras linhas pontilhadas, (Figs. 2 e 3).

Em seguida, observamos o pareamento dos filamentos, com bastante dificuldade, pois, na maioria das vezes, havia condensação junto ao nucléolo, porém pudemos notar tal pareamento com mais clareza, à medida que prosseguia a meiose, principalmente nas regiões em que os filamentos não estavam aglomerados, isto, é no estágio zigonêmico, (Fig. 4). Neste estágio o núcleo mede cerca de 12 micra de diâmetro.

Os filamentos zigonêmicos sofrem transformação de tal forma que o elemento cromático se apresenta como um con-

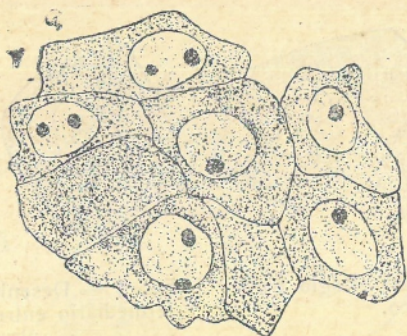


Fig. 1 — Desenho da célula mãe do grão de pólen antes de entrar em redução

Fig. 2 — Desenho do grão de pólen no estágio leptotênico (denso)

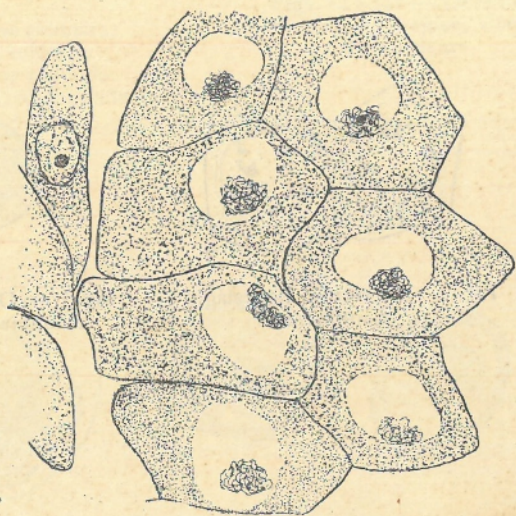


Fig. 3 — Desenho no estágio leptotênico

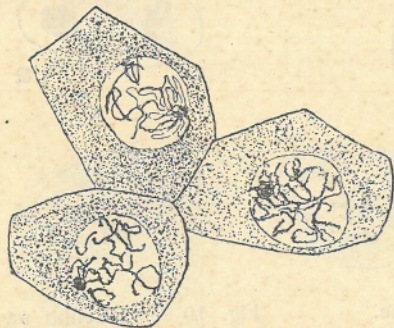


Fig. 4 — Desenho no estágio leptotênico para o zigotênico

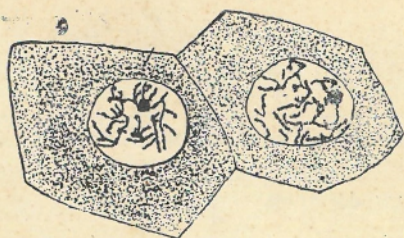


Fig. 5 — Desenho no estágio zigo-nêmico.

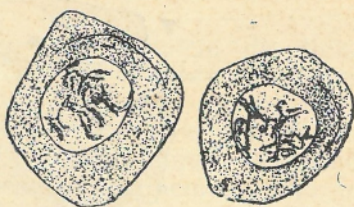


Fig. 6 — Desenho no estágio in-termediário entre paquinema e di-plonema.

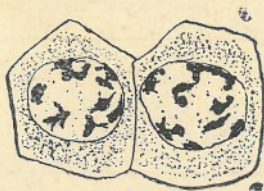


Fig. 7 — Desenho no estágio diaquinese.



Fig 8 — Desenho no estágio diaquinese para metáfase.



Fig. 9 — Desenho na metáfase.

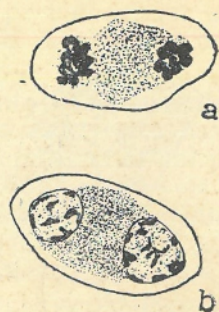


Fig. 10 — Desenho na telófase.

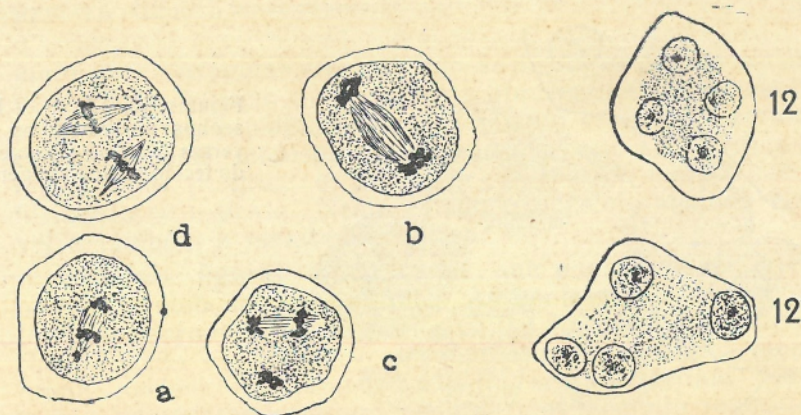
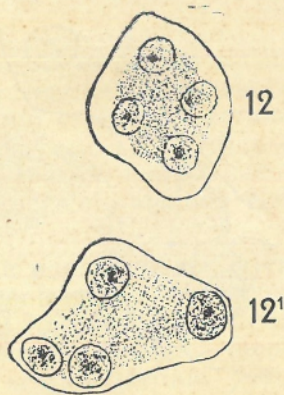


Fig. 11 — Desenhos:
 a) da anáfase primeira;
 b) do início telófase;
 c) da anáfase segunda;
 d) da metáfase segunda.



Figs. 12 e 12' — Desenhos no fim da meiose, «tetra-de nuclear».

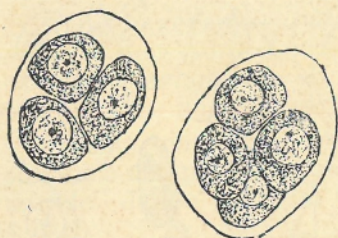


Fig. 13 — Desenho da citocinese, dando 4 micrósporos.

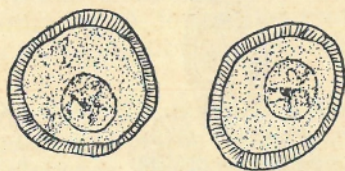


Fig. 14 — Desenho do grão de pólen em formação.

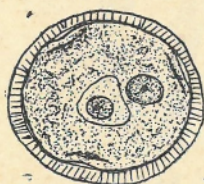


Fig. 15 — Desenho do grão de pólen maduro.

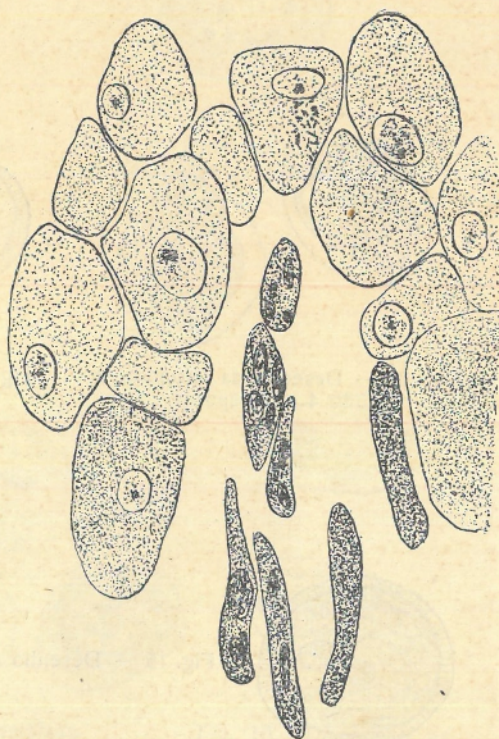
Figuras: 16, 17, 18 — Desenhos mostrando as diversas fases de afinamento do tecido microsporogênico



16



17



18

junto muito irregular em que não se distingue mais o menor vestígio do aspecto anteriormente apresentado, iniciando-se assim o estágio paquinema. O filamento cromático cora-se cada vez mais intensamente, tendência que se acentua à medida que progride o processo, ao mesmo tempo que o filamento se espessa. Neste estado o nucléolo é ainda visível e também a membrana nuclear.

Poucas figuras foram vistas que pudessem ser interpretadas como diplonema típico. Ao contrário do que acontecia anteriormente, encontramos várias figuras de diaquinese. Neste estado os nucléolos desaparecem e também a membrana nuclear. Os cromossomos já se apresentam como corpos compactos intensamente coloridos e muito reduzidos no seu comprimento, em relação ao apresentado na metáfase, (Figs. 6, 7 e 8).

Iniciando-se a metáfase, com o aparecimento do fuso acromático, os cromossomos colocam-se regularmente no equador da célula, em forma de alças com as aberturas voltadas para os polos.

A contagem dos cromossomos neste estágio, não é fácil, pois, além de serem de tamanho diminuto, apresentam-se sempre muito juntos, (Fig. 9).

(Obs.—achamos para *T. kurzii* o número haploide 8, porém, é necessária a sua confirmação. A forma dos cromossomos e o fenômeno da precessão que observamos serão apresentados posteriormente).

Assim continuam os processos da meiose, havendo somente a citoquinese, quando microsporócitos estiverem em "tetrad" dando cada um 4 micrósporos, Figs. 10, 11, 12, 13, 14 e 15.

2) *Flor hermafrodita.*

Os microsporócitos das flores hermafroditas deviam seguir os mesmos processos das flores unissexuais masculinas, mas não observamos isto.

Preparamos numerosas lâminas de grande número de plantas, cujo resultado foi o seguinte:

a) As células mães do grão de pólen podem passar por todos os estágios da meiose, sem sofrer a citoquinese, contraem-se gradativamente, afinando-se na parte central do tecido microsporogênico, formando, assim, uma massa única cujo aspecto é de degenerescência, (Figs. 16, 17, 18, 19 e 20).

b) Às vezes esta degenerescência apresenta-se parci-

almente, isto é, algumas células permanecem sem nenhuma modificação anormal.

c) Outras vezes, uma antera pode apresentar uma só teca normal e três degeneradas.

d) Uma flor que normalmente possui 8 anteras "ditecas" possui uma só teca normal. Muitas flores têm anteras totalmente atrofiadas, donde podemos concluir que a planta tende a ser polígama, (ou até dióica).

D) Observações sobre o pólen

Diante destes resultados resolvemos estudar o pólen das referidas flores. Fizemos inúmeras preparações de lâminas de anteras das flores recém-abertas, empregando o método de esmigalhamento com aceto-carmin, cujo resultado é o seguinte:

- 1º) De flores unissexuais masculinas em todas as preparações observamos grande número de grãos de pólen.
- 2º) De flores hermafroditas em todas preparações não observamos pólen algum, apesar de termos observado em estudos anteriores a existência de microsporócitos normais.

Os grãos de pólen que observamos não apresentavam certa uniformidade quanto à sua forma, tamanho e coloração. Efetuamos ainda, rapidamente, um pequeno teste de germinação do grão do pólen cujo resultado foi o seguinte: os germinados tinham o tamanho médio, 25 micra de diâmetro de forma angulosa, e eram do tipo que se coram pelo aceto-carmin, (Fig. 15).

E) Macrosporogênese

Estamos procedendo ao estudo da macrosporogênese da *Chaulmoogra* e podemos adiantar que a meiose ocorre posteriormente à da microsporogênese. O ovário possui um número aproximado de 24 a 26 óvulos.

F) Observações gerais

De acordo com o exposto acima, podemos tirar algumas conclusões de caráter econômico, baseando-nos nas seguintes observações:

- 1) No pomar, as plantas hermafroditas mais carregadas de frutos são as que estão em plano de nível mais baixo e próximas às estaminíferas.

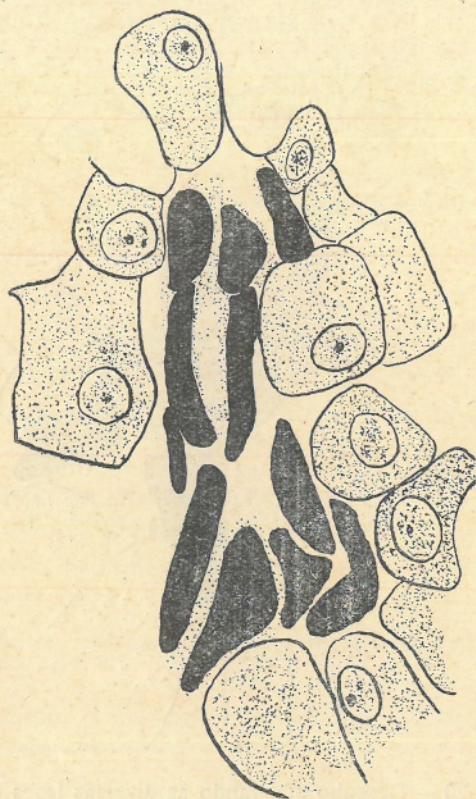


Figura 19 — Desenho mostrando as diversas fases de afinamento do tecido microsporogênico.

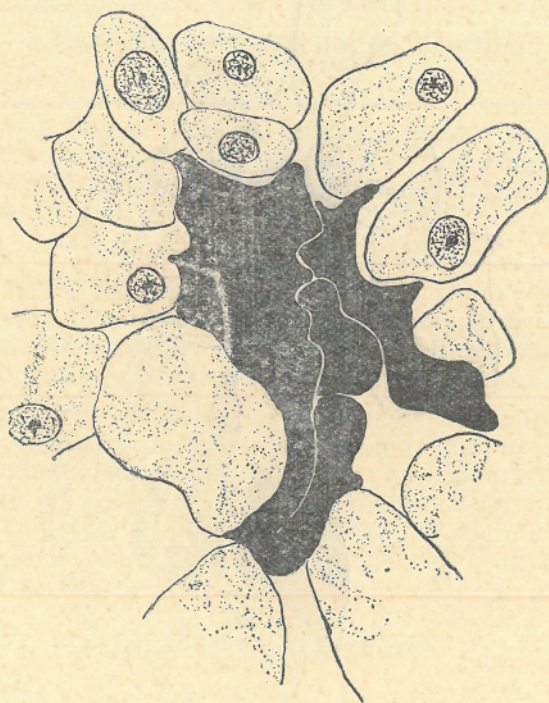


Figura 20 — Desenho mostrando as diversas fases de afinamento do tecido microsporogênico.

2) Mesmo no galho frutificado, quando este estiver próximo de flores unissexuais masculinas, encontramos frutos de maior diâmetro, portanto, com maior número de sementes.

3) Colocando-se junto ao galho de flores hermafroditas um vaso com flores unissexuais masculinas em água, observa-se um aumento de produção.

4) As flores unissexuais masculinas, de um modo geral, caem com muita facilidade logo após a deiscência da antera.

Do exposto acima podemos concluir que a flor hermafrodita funciona como sendo polígama para a unissexual feminina, portanto, a eliminação de pés masculinos e a formação de um pomar somente de plantas hermafroditas não seria vantajosa.

A esterilidade existe em plantas frutíferas cultivadas, e podendo ainda ser de caráter genérico (permanente) ou fisiológico (temporário).

Por outro lado, conhecemos um dos processos de multiplicação de plantas muito empregado em pomicultura que é a *enxertia*. Assim podemos lançar mão dela para estudar este desequilíbrio de produção e para isto sugerimos o seguinte plano de estudos para o futuro:

1º) a) na planta hermafrodita enxertar um galho de unissexual masculina.

b) na planta unissexual masculina enxertar um galho de hermafrodita; e

c) na planta unissexual masculina como cavalo, enxertar planta hermafrodita.

2º) Ensaios de polinização (fertilização).

3º) Análise genética.

Este plano é para observarmos o comportamento ou manifestação do cavaleiro sobre o cavalo, porque há plantas que demonstram esta influência, dando maior ou menor número de sementes, tamanho do fruto, etc.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — Rolfs, P. H. e C. Rolfs — Domesticating anti-leptic species in Brasil. Reprinted from «Leprosy Review», vol. IX, nº 3 -- July and nº 4 — October. 1938.
- 2 — Rolfs, P. H. e C. Rolfs — Aclimação e Domesticação das Espécies Anti-Lépticas. A. Lavoura. XXXV: 238-249, 1631.
- 3 — Chamberlain, Charles J. — Methods in Plant Histology. The University of Chicago Press.
- 4 — Johansen, Donald Alexander. — Plant Microtechnique. McGraw-Hill Book Company. Inc. 1940.
- 5 — Alencar, Edgar — Microsporogênese em Araucária angustifolia (Betoloni) O. Ktze. Ceres, Vol. II, nº 12.
- 6 — Sharp, Lester W. — Introduction To Citology. MacGraw Hill Book Company. Inc. 1934.
- 7 — Guilhermond, A e G. Mangenot — Biologie Végétale. 1937.
- 8 — Moreira, Silvio e J. T. Gurgel — A fertilidade do pólen e sua correlação com o número de sementes, em espécies e formas do gênero Citrus. Bragantia, vol. I, nºs 11-12.
- 9 — Brieger, F. G. e J. T. A. Gurgel — Influência do cavaleiro, em Citrus. Bragantia, vol. I.
- 10 — Briquet, Raul Carlos, Junior — Curso de Biologia Geral -- Parte III. Fisiologia Celular. Escola Superior de Agricultura do Estado de Minas Gerais, Viçosa, A. 613, 1942.