

## Anomalias Observadas em Microsporogênese de algumas Espécies do Gênero Ophrys (\*)

C. SHIMOYA (\*\*)

### INTRODUÇÃO

Em continuação aos estudos das espécies do gênero "Ophrys", da França meridional, que iniciamos no ano de 1950, em colaboração com L. Ferlan, apresentamos, neste, notas sobre o fenômeno de microsporogênese.

Numerosos tipos de estrutura nuclear foram assinalados ou descritos desde a sua descoberta por Brown, em 1831, nas células epidérmicas de orquídeas.

Strasburger (1879-84) (10), Baranetzky (1880), Schaeede (1925), Yamaha (1926), Telezinsky (1930) (2), estudando os pêlos estaminais da Tradescantia, observaram, em seus núcleos, aspeto granuloso.

Outros autores, entretanto, observaram estrutura reticular, constituída unicamente por uma rede de cromatina muito densa ou uma associação desta arquitetura com granações mais importantes de cromatina, contida nela, que foram denominadas cromocentros.

Baseando-se neste estudo, P. Dangeard (2) apresentou uma classificação dos núcleos em repouso, em quatro grupos, que se assemelha à de C. Delay (1944) (5), que são: a) núcleo eurenticulado sem cromocentros; b) núcleo reticulado com cromocentros; c) núcleo semireticulado com cromocentros; e d) núcleo areticulado com procromosômos.

Podemos enquadrar Ophrys na classificação acima como pertencente ao grupo "c".

### MATERIAL E MÉTODOS (13)

Para maior exatidão, do ponto de vista da identificação das espécies e subespécies, as populações utilizadas foram determinadas, *in loco*, um ano antes de iniciarmos as colheitas (1949-1950), o que permitiu identificá-las com precisão.

(\*) Trabalho apresentado ao IV Congresso da Sociedade Botânica do Brasil, em Recife.

(\*\*) Engenheiro Agrônomo, professor do Departamento de Biologia da Escola Superior de Agricultura da Universidade Rural do Estado de Minas Gerais.



Quando a colheita se efetuou, as inflorescências ou os botões florais, colhidos em diversas localidades, foram trazidos para o laboratório, onde, em seguida, fixados, seguindo-se depois o método usual de inclusão em parafina. Outras vezes eram logo fixados no local da colheita.

O fixador de "Bouin" deu melhor resultado do que o de "Nawaschin" que provocou uma ligeira contração na metáfase. Empregamos, também, o fixador de "Regaud", com o objetivo de estudarmos os condriosomas, mas, infelizmente, este deu resultado softível, conforme já acontecera a Helena-Tarwidowa (15), embora para as figuras cromáticas se obtivesse uma imagem satisfatória.

Os cortes foram feitos com 5 a 6 micra de espessura e no sentido longitudinal.

Os desenhos foram realizados com auxílio de uma câmara clara "Stiassinie", usando-se a objetiva de imersão (Hom. 2 mm, n. A. 1. 3, tubo 160 mm, Karl Zeiss) e a ocular 8x.

As microfotografias foram tiradas com aparelho de microfotografia Karl Zeiss Jena nr. 9549, usando-se microscópio Reichert nr. 222578 Mod. R. C. com objetiva Reichert nr. 1491614 A = 0,65, 45:1; e ocular Karl Zeiss Mobini 15x.

## MICROSPOROGÊNESE

### 1ª Divisão

**PRÓFASE I** — A prófase de meiose heterotípica é a mais característica e ao mesmo tempo de mais longa duração. Estampa I, fig. 1; Estampa V, fig. 1.

**Estágio leptóteno** — Ao aproximar-se da meiose o volume do núcleo aumenta e a rede de cromatina muda de aspecto, isto é, transforma-se de rede nuclear em filamentos longos e ondulados, que se individualizam progressivamente. Devido ao aumento de volume nuclear e escassez de matéria envolvente, os filamentos leptonêmicos com cromocentros apresentam-se bem claros, e também o nucléolo e o micronúcléolo. Estampa I, figura 2 e Estampa IV fig. 2 b. No fim do estágio, o nucléolo permanece, porém, o micronúcléolo nem sempre é observado.

**Estágio zigóteno** — Os filamentos leptonêmicos emparelham-se a seu homólogo e as granulações, cromômeros, que eram pouco visíveis no estágio anterior, evidenciam-se. Estampa IV, fig. 3 b. Neste estágio, observa-se o fenômeno de "sinizesis" mais ou menos acentuado. Estampa I, fig. 4;



Estampa V, fig. 2; e Microfotografia nº 1. Os elementos que se emparelham mostram a sua individualidade, vistos ao microscópio, movimentando-se o parafuso micrométrico, com as extremidades livres no interior do núcleo, diferente do desenho, que os mostra apenas em um plano único. Estampa II, fig. 3. O nucléolo continua visível.

*Estágio paquíteno* — Após o emparelhamento, os filamentos parecem contrair-se, engrossando progressivamente e ao mesmo tempo, a cromaticidade é aumentada. Estampa II, fig. 5. Os filamentos emparelhados tornam-se cada vez mais unidos, parecendo fundir-se, dando o espirema como constituido de uma fileira de granulações cromáticas, com o aspecto de rosário. Estampa II, fig. 6. Apesar de diversas opiniões a respeito dos cromômeros: condensação da massa cromática desigual, defeito visual da figura espiralada etc., na realidade o cordão permanece duplo todo o tempo e os grânulos se mostram sempre aos pares.

O fenômeno de "sinizesis" pode ocorrer, e durante esta contração a cromatina forma uma espécie de aglomerado que se dirige a um polo do núcleo. Estampa IV, figs. 4 b e 5 b. Há autores que consideram este fenômeno sináptico como um artifício devido aos reativos. Mac Mahon (3) considera que a "sinizesis" é mais ou menos acentuada segundo a qualidade do fixador. Encontramos em *O. aranifera* ssp. litigiosa, pouco; e em *O. aranifera*, quase nada. Microfotografia nº 2.

No fim deste estágio começa o aparecimento da substância matriz, e o nucléolo continua visível.

*Estágio diplóteno* — Neste estágio os filamentos emparelhados e estreitamente unidos se separam, mas não totalmente, formando quiasmas. Esta separação ou desdobramento longitudinal de Gregorie (3), é como uma clivagem longitudinal idêntica à dos filamentos profásicos de uma divisão ordinária.

Durante este estágio continua a contração dos filamentos para formação de tétrades cromosômicas iniciadas no paquíteno, que implica em espiralamento dos cromonemas dentro da substância matriz. São visíveis ainda vestígios do nucléolo. Estampa II, figs. 7 e 8; Estampa IV, fig. 6 b.

*Estágio de diaquinese* — Este estágio é caracterizado pela presença de tétrades compactas, que se encontram bem espalhadas na periferia do núcleo. A condensação cromática torna-se mais intensa, os gemini aparecem mais curtos, espessos e o seu contorno mais definido. Estampa III, figs. 9,



10 e 11; Microfotografia nº 3. Devido á condensação da substância matriz que aumenta progressivamente e chega ao máximo no fim deste estágio, as tétrades parecem duplas em vez de quádruplas. Estampa III, fig. 11. Os "tractus" são bem visíveis e parecem desaparecer somente no fim. O nucléolo desaparece logo no início deste estágio, bem como a membrana nuclear.

**METÁFASE I** — As tétrades cromosômicas se dispõem no equador da célula e devido à sua forma arredondada e tamanho, não nos permitiram observar seus detalhes. Estampa III, fig. 12; Estampa IV, fig. 7 b; Estampa V, figs. 3 e 4; Estampa VI, figs. 1 e 3. Há aparecimento do fuso que liga os cromossomos aos polos. Estampa III, fig. 13. Devido aos caracteres acima, a metáfase vista lateralmente apresenta-se como uma linha.

**ANÁFASE I** — As tétrades separam os seus gemini, caminhando cada ramo aos polos opostos pelo fuso. A ascensão dos cromossomos se faz mais ou menos regular em *O. arañifera* ssp. *litigiosa*, havendo casos de alguns retardatários. Em *Neottia* (3) apresenta um belo exemplo de irregularidade na marcha dos cromossomos aos polos. O caso de retardamento é mais frequente em *O. arachnites* ssp. *Scolopax*, havendo ainda o caso de afastamento de cromossomos (1 ou 2) do grupo, e também a ascensão totalmente irregular. Estampa III, figs. 13 e 14; Estampa V, figs. 5, 6 e 7; Microfotografias nº 8 e 9.

Poderá haver caso de eliminação dos cromossomos excedentes em *O. arachnites* ssp. *Scolopax*? Tuschnyakova (3) faz certas observações sobre a divisão meiótica de *Listera*. Forma-se, seguida de divisão redutora, tanto nas células mães do pólen como nos macrósporos, núcleos com 16, 17 e 18 cromossomos. O número 17 predomina. Este número variável será devido ao fato de que certos gemini podem chegar aos polos inteiros e se fundirem com os cromossomos monovalentes. Isto é observado também nos cromossomos híbridos (2).

**TELÓFASE I E INTERCINESE** — Os cromossomos telofásicos perdem logo os seus característicos. A cromaticidade da substância matriz é diminuída progressivamente e até completo desaparecimento e ao mesmo tempo os filamentos começam a emergir-se, mostrando cada um dos seus elementos, enfim, individualizam-se. Estampa III, figs. 15 e 16 e formam cada um o núcleo em estado de repouso; Estampa III, figs. 17 e 18.



Há caso de não se observar uma sincronização perfeita, um núcleo é formado mais precocemente ou atrasado, em relação ao outro; Estampa II, fig. 17; Estampa V, fig. 8.

## 2ª Divisão

**PRÓFASE II** — Os núcleos filhos entram em pequeno repouso para logo em seguida recomençar a sua segunda divisão, homeotípica. Não foi observada durante a intercinese a formação de membrana celular, nem tão pouco a formação do nucléolo bem nítido. Devido a tal rapidez pode-se supor a telófase I com a prófase II.

Seguem-se os processos semelhantes aos da prófase da mitose somática.

No término do estágio, formam-se os cromossômios e desaparece a membrana nuclear.

A anormalidade observada na telófase I continua, isto é, a velocidade na marcha do fenômeno é desigual para cada núcleo; assim pode-se encontrar um em prófase e outro já em metáfase; Estampa V, figs. 9 e 10.

**METÁFASE II E ANÁFASE** — O fenômeno continua, há formação de placa equatorial (metáfase), fuso e logo em seguida começa a ascensão dos cromossômios (cromátídeos) para os polos (anáfase); Estampa III, figs. 18 d e 19; Estampa V, figs. 9 e 10; Microfotografia n° 4. Observamos também a irregularidade na ascensão dos cromossômios aos polos.

**TELÓFASE II** — Os quatro grupos de cromossômios se organizam formando célula tetra-nuclear; Estampa III, fig. 20; Estampa II, fig. 21; Estampa V, fig. 14; Microfotografia n° 5.

**CITOCINESE** — Após a formação de tetra-nuclear, há formação de membrana celular para cada núcleo filho, dando então quatro micrósporos iguais; Estampa V, fig. 15; Estampa VI, fig. 9; Estampa III, fig. 22 e Microfotografia n° 6.

## FORMAÇÃO DO GRÃO DE PÓLEN

Os micrósporos parecem entrar em pequeno estágio de repouso, e, logo em seguida, tomam a forma menos angular; Estampa III, fig. 22. O núcleo sofre uma mitose ordinária, dando dois núcleos; Estampa VI, figs. 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12 e 13; Estampa II, figs. 23 e 24; Microfotografia n° 10. Ao mesmo tempo há espessamento da membrana do grão de pólen.



Observamos um fenômeno curioso: apesar de dois núcleos serem resultantes da mesma mitose, há diferença no tamanho e na forma, sendo que o núcleo menor, na maioria das vezes, possui uma aréola; Estampa II, fig. 23; Estampa VI, figs. 10 e 11; que mais tarde desaparece, porém, a diferença de cromaticidade e tamanho persistem; Estampa II, fig. 24; Estampa VI, fig. 13; Microfotografia n° 11.

Hagerup (7) fez interessantes observações sobre a divisão do núcleo do micrósporo de várias espécies do gênero *Orchis*, notadamente em *O. Maculata*. Nesta mitose, a metáfase é regular, mas na anáfase os cromossômios se agrupam de diferentes maneiras, semelhantes às figs. 6 e 7 da Estampa VI. Os cromossômios que vão dar o núcleo vegetativo se dispõem em superfície plana, enquanto que, no polo oposto, os cromossômios do núcleo gerador se amontoam em um grupo hemisférico. As fibras fusoriais se desprendem do núcleo vegetativo e se distribuem em forma de leque ao redor do núcleo gerador. O leque se estende de uma maneira contínua para os lados, chegando a envolver todo o núcleo, enquanto que uma membrana nuclear se forma. Isto se assemelha bem com o nosso material, conforme se observa na Estampa VI, figs. 6, 7, 10 e 11.

Encontramos também um outro fenômeno em *O. araniifera* ssp. litigiosa, conhecido pelo nome de citomixia, no qual, pela interpretação das figuras em alguns casos, o núcleo gerador até parece ser formado pela porção do núcleo expulso; Estampa VII. Durante a divisão homeotípica em *O. arachnites* ssp. *Scolopax* (Cav.) encontramos diversas figuras conforme Estampa V, figs. 11, 12 e 13; Microfotografias n° 7, 12 e 13, sendo estas 2 últimas de *O. lutea* Cav.

### CÉLULAS DO TAPETE

As células do tapete se dividem por mitose de um modo geral paralelamente à meiose heterotípica e sofrem citocinese dando sempre células mononucleares. Estampa I, figs. 1 e 4. Pode ocorrer caso de fusão nuclear, pois notamos, em certas células, núcleos volumosos; Estampa II, fig. 21. O desaparecimento das células do tapete se inicia com o término da meiose, e cujos detalhes serão objeto de próximo trabalho.



## CONCLUSÃO

A prófase, heterotípica, difere muito da prófase mitótica. Ela é caracterizada por processos complexos dos quais alguns detalhes ainda não foram esclarecidos devidamente. Assim há diversas opiniões tais como (1) se a sinapsis é o primeiro mistério do processo meiótico, o crossing-over será o segundo; há quem diga (5) que a maioria dos citologistas acham que a sinapsis seja um artifício devido a uma coagulação do suco nuclear, mas outros, devido à sua constância, consideram que represente um fenômeno normal e até chegam a distinguir duas contrações sucessivas, primeiro no leptóteno e segundo no paquíteno, e há ainda um terceiro (9) que afirma a sinapsis ocorrer no estado zigóteno, favorecendo o emparelhamento dos filamentos leptonêmicos.

Notamos no núcleo de *O. aranifera* ssp. *litigiosa* o fenômeno "sinizesis" bem acentuado no fim do estágio leptonêmico para zigotênico e em *O. aranifera*, ligeiramente, no paquíteno. Difere da citação de Eltimiu-Heim (3) que diz ser pouco acentuada nas orquídeas e não forma nunca um aglomerado, mais ou menos compacto, como nas outras plantas, atribuindo isto ao fixador, o qual pode mesmo ser acentuado, como foi verificado.

Enfim a prófase heterotípica é normal nas células mães de micrósporos, salvo, no fim da prófase I para metáfase I em que se notam cromossomos em cadeia com "tractus". Nossas atenções foram voltadas especialmente para o tipo de cromossomos curtos, e mais ou menos semelhantes. Apesar das muitas figuras de que dispomos não conseguimos obter quaisquer observações do que se passa na metáfase e na anáfase isto é, não foram vistas figuras anafásicas clássicas, em V ou V duplo, devido aos característicos já citados ou à qualidade do fixador empregado. Notamos também em certas figuras que a ascensão polar se faz de maneira irregular, semelhante às anomalias provocadas por diversos agentes químicos e físicos.

Assim, (3) em *Neottia-nidus-avis* onde o fungo enche e hipertrofia as células da raiz, as irregularidades citológicas são mais evidentes.

Notamos ainda o fenômeno de citomixia durante a prófase homeotípica e na prófase do micrósporo em *O. aranifera* ssp. *litigiosa*. Trata-se de um fenômeno que se pode observar com certa frequência (6) que se atribui a uma causa patológica, fisiológica, ou a um defeito de fixador (12).

Julgamos que se trate de um fenômeno fisiológico, pois,



o encontramos em diversas plantas que foram estudadas na mesma época, sem podermos descobrir a razão (14).

### RESUMO

Notamos no núcleo de *O. aranifera* ssp. *litigiosa* Cam. no fim do estágio leptonêmico para o início de zigotênico o fenômeno de "sinizesis" e também em *O. aranifera* Huds. ligeiramente, no paquíteno e quase nenhum em *O. lutea* Cav.

Os cromossômios no fim da prófase I para a metáfase I apresentam dispersos na periferia do núcleo com seus "tractus", que dão aspeto de rosário. Não encontramos no início da anáfase I figuras clássicas anafásicas o que atribuímos à sua forma e tamanho, o que torna muito difícil a nossa observação ou talvez, em parte, a qualidade do fixador empregado pudesse ter provocado ligeira contração na metáfase. Notamos em alguns exemplares certa irregularidade na anáfase, isto é, a ascensão polar dos cromossômios se faz desordenadamente.

Observamos o fenômeno de citomixia que se apresenta durante a prófase II e na prófase mitótica do micrósporo sem o podermos esclarecer.

Também há outro fenômeno, que é a formação de uma aréola durante a formação do núcleo gerador do grão de pólen, que se assemelha à descrição feita por Hagerup em *Orchis*.

### AGRADECIMENTO

Ao expormos os resultados das nossas observações, desejamos agradecer ao sr. professor L. EMBERGER, Diretor do Instituto Botânico da Faculdade de Ciências da Universidade de Montpellier, que nos deu apoio para execução do nosso trabalho, e do mesmo modo, à Escola Superior de Agricultura da Universidade Rural do Estado de Minas Gerais, que nos proporcionou oportunidade, oferecendo-nos um bolsa de estudos, para que nos dedicássemos, na França, ao estudo de Citologia Vegetal.

### RÉSUMÉ

Nous avons observé dans le noyau de *Ophrys aranifera* ssp. *litigiosa* Cam. à la fin du stade leptotène au début de zygotène, une contraction de la masse nucléaire en un peloton, synizesis ou synapsis, et aussi dans l'*Ophrys aranifera*



Huds. en pachytène, mais moins, et très peu ou presque rien dans l'Ophrys lutea Cav.

Les chromosomes à la fin de la prophase I à metaphase I fait découvrir, une disposition spéciale des chromosomes qui apparaissent rattachés les uns aux autres, bout à bout, par un fin tractus, qui ressemblent à des perles et se trouvent disperses dans la périphérie du noyau ou la cavité nucléaire.

Nous n'avons pas trouvé dans le début de l'anaphase I, malgré le très grand nombre de figures examinées à ce stade, des figures anaphasiques classiques que nous avons attribué à leur taille et forme trop peu différenciées, ce qui rend très difficile notre observation ou peut-être, selon la qualité de fixation employée on peut subir cette contraction légère dans la métaphase.

Nous avons observé dans quelques exemplaires certaine irrégularité dans l'anaphase, c'est-à-dire, l'ascension des chromosomes ne s'effectue pas en même temps vers les pôles, par conséquent d'une façon désordonnée.

Nous avons observé les phénomènes de cytomixie pendant la prophase II et la prophase de la microspore (mitose) sans pouvoir les éclaircir.

Nous avons observé également le phénomène de la formation d'une aréole pendant la formation du noyau reproducteur des grains de pollen (mitose) lequel ressemble beaucoup avec celui que Hagerup a trouvé.



## BIBLIOGRAFIA

- 1 — Bourne, G. H. — Cytology and Cell Physiology Second Edition Oxford. At the Clarendon Press. (1951).
- 2 — Dangeard, P. — Cytologie Végétale et Citologie Générale Paul Lechevalier, Editeur 12, Rue de Tournon, 12 Paris (VIe). (1947)
- 3 — Eftium-Heim, P. — La mitose hétérotypique des Orchidées Le Botaniste série XXXII (2). (1943)
- 4 — « — Sur la structure du noyau quiescent dans la famille des Orchidées. C. R. S. A. t. 212 p. 1096 — 1098, 23 (6). 1941)
- 5 — Gautheret, R. J. — La Cellule Éditions Albin Michel 22, Rue Huyghens, 22 Paris. (1949)
- 6 — Guilliermond, A; Mangenot, G e et Plantefol, L. — Traité de Cytologie Végétale Librairie E. Le François 91, Boulevard Saint-Germain, Paris. (1933)
- 7 — Hagerup, O. — A peculiar asymmetrical mitosis in the microspore of Orchis Hereditas, XXIV. (1938)
- 8 — Langeron, M. — Précis de microscopie Septième édition Masson et Cie, Editeurs Libraires de l'Académie de Médecine 120, Boulevard Saint-Germain, Paris (VIe). (1949)
- 9 — Robertis, E. D. P. de; Nowinski, W. W. y Saez, F. A. — Citologia General Libreria y Editorial "El Ateneu" Florida 340, Buenos Aires. (1946)
- 10 — Sechet, J. — Recherches caryologiques chez les Iris Le Botaniste, Série XXXV, Fasc. I-VI. (1951)
- 11 — Sharp, W. L. — Fundamentos de Citologia Traducido de la primeira edición en Inglés por M. E. Sanguineti de Ferrovía Acme Agency, Soc. Resp. Ltda. Suipacha, 58, Buenos Aires. (1947)
- 12 — Sheffield, F. M. L. — Cytological studies of certain meiotic stages in Oenothera Ann. of Bot. (1927)
- 13 — Shimoya, C. e Ferlan, L. — Determinações cromosômicas em Ophrys Revista Brotéria, Série de Ciências Naturais Vol. XXI (XLVIII), Fasc. IV, Lisboa. (1952)
- 14 — Shimoya, C. — Note sur la caryologie de quelques espèces du genre Thymus L. de France Recueil des Travaux des Laboratoires de Botanique, Géologie et Zoologie de la Faculté des Sciences de Montpellier, Série Botanique, Fasc. 5. (1952)
- 15 — Siwicka-Tarwidowa, H. — Sur l'évolution du chrondriome pendant le développement du sac embryonnaire de l'Orchis latifolius L. Acta Societatis Botanicorum Poloniae Vol. XI, n° 4. (1934)



## ESTAMPA — I

- Fig. 1 — Células mães do grão de pólen, à direita, e células do tapete, à esquerda.  
 2 — Núcleo em estágio leptóteno, mostrando filamentos leptonêmicos, nucléolo e micronúcleolo.  
 4 — Núcleo em estágio zigóteno em "sinizesis"

## ESTAMPA — II

*Ophrys aranifera* ssp. *litigiosa* Cam.

- Fig. 3 — Núcleo da célula mãe do grão de pólen em estágio zigóteno.  
 5 e 6 — Núcleos da célula mãe do grão de pólen em estágio paquíteno, mostrando granulações cromáticas.  
 7 e 8 — Núcleo em diplóteno.  
 21 — Célula mãe do grão de pólen com 4 núcleos.  
 23 e 24 — Grãos de pólen com 2 núcleos.

## ESTAMPA — III

*Ophrys aranifera* ssp. *litigiosa* Cam.

- Figs. 9, 10 e 11 — Núcleo das células mães do grão de pólen em diversos estados de diaquinese.  
 12 — Núcleo em metáfase I.  
 13 e 14 — Núcleo em anáfase I.  
 15 a 18 — Núcleo em telófase I.  
 18 d — Núcleo em metáfase II.  
 19 — Núcleo em anáfase II.  
 20 — Núcleo em telófase II.  
 21 — Célula mãe do grão de pólen com 4 micrósporos.  
 22 — Micrósporos.

## ESTAMPA — IV

*Ophrys aranifera* Huds.

- Fig. 2 b — Núcleo da célula mãe do grão de pólen em estágio leptóteno.  
 3 b — Núcleo em zigóteno.  
 4 b — Núcleo em paquíteno, com "sinizesis".  
 5 b — Núcleo em paquíteno frouxo.  
 6 b — Núcleo em diplóteno.  
 7 b — Núcleo em metáfase I.



## ESTAMPA — V

*Ophrys arachnites* ssp. *Scolopax* (Cav.)

Fig. 1 — Núcleo da célula mãe do grão de pólen em repouso.

2 — Núcleo em zigóteno.

3 — Núcleo em metáfase I frouxo.

4 — Núcleo em metáfase I contraído.

5 — Núcleo em anáfase I normal.

6 — Núcleo em anáfase I, nota-se irregularidade na ascensão dos cromossômios.

7 — Núcleo em anáfase I, notam-se cromossômios afastados.

8 — Núcleo em telófase I, sendo um núcleo anormal.

9 e 10 — Os núcleos das células mães do grão de pólen em estágio metáfase II, e na anáfase II nota-se certa irregularidade.

11, 12 e 13 — Diversos aspetos de citomixia.

14 — Célula mãe do grão de pólen com 4 núcleos.

15 — Célula em citocinese.

## ESTAMPA — VI

*Ophrys lutea* Cav.

Fig. 1 — Núcleo da célula mãe do grão de pólen em estágio metáfase I.

2 — Núcleo em metáfase mitótica.

3 — Núcleo em metáfase I, nota-se um cromossômio afastado.

4 — Núcleo no início da anáfase mitótica.

5 — Núcleo durante a anáfase mitótica.

6 e 7 — Núcleo no estágio final da anáfase e início da telófase mitótica.

8 — Núcleo em telófase mitótica.

9 — Os 4 micrósporos.

10 e 11 — Formação dos núcleos, sendo um areolado.

12 e 13 — Grão de pólen com 2 núcleos formados.

## ESTAMPA — VII

*Ophrys aranifera* ssp. *litigiosa* Cam.

Diversas figuras de citomixia observado no micrósporo.



## MICROFOTOGRAFIAS

- Nº 1 — Núcleo em "sinizesis" — *O. aranifera* ssp. litigiosa Cam.
- 2 — Núcleo em paquíteno — *O. aranifera* ssp. litigiosa Cam.
- 3 — Núcleo em diaquinese — *O. aranifera* ssp. litigiosa Cam.
- 4 — Núcleo em anáfase II — *O. aranifera* ssp. litigiosa Cam.
- 5 — Núcleo em telófase II — *O. aranifera* ssp. litigiosa Cam.
- 6 — Célula em citocinese — *O. aranifera* ssp. *Scolopax* (Cav.)
- 7 — Citomixia em prófase II — *O. arachnites* ssp. *Scolopax* (Cav.)
- 8 — Núcleo em metáfase I, notam-se cromossomos afastados — *O. arachnites* ssp. *Scolopax* (Cav.)
- 9 — Núcleo em metáfase I e anáfase I — *O. arachnites* ssp. *Scolopax* (Cav.)
- 10 — Núcleo em anáfase final (mitose) com cromossomos retardatários — *O. lutea* Cav.
- 11 — Microsporo com 2 núcleos — *O. arachnites* ssp. *Scolopax* (Cav.)
- 12 — Citomixia — *O. lutea* Cav.
- 13 — Citomixia — *O. lutea* Cav.



## ESTAMPA I

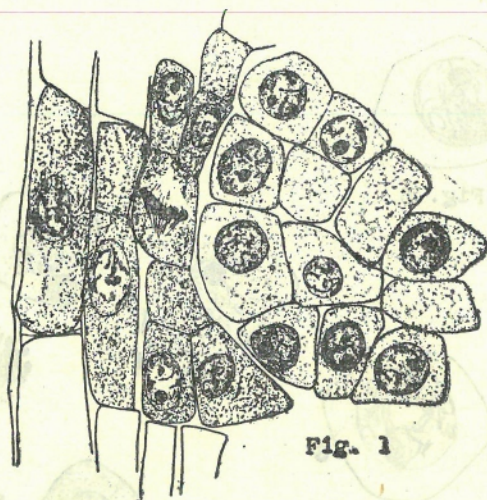


Fig. 1

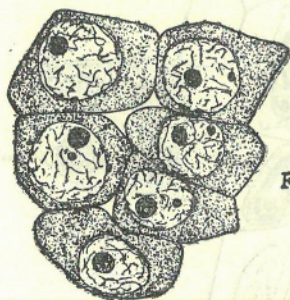
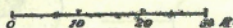


Fig. 2

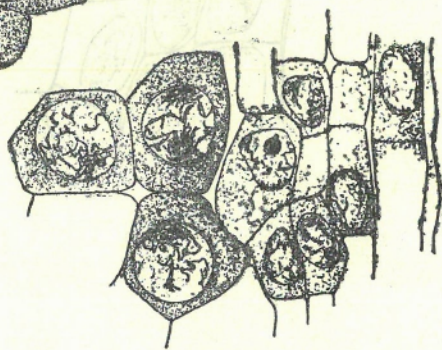
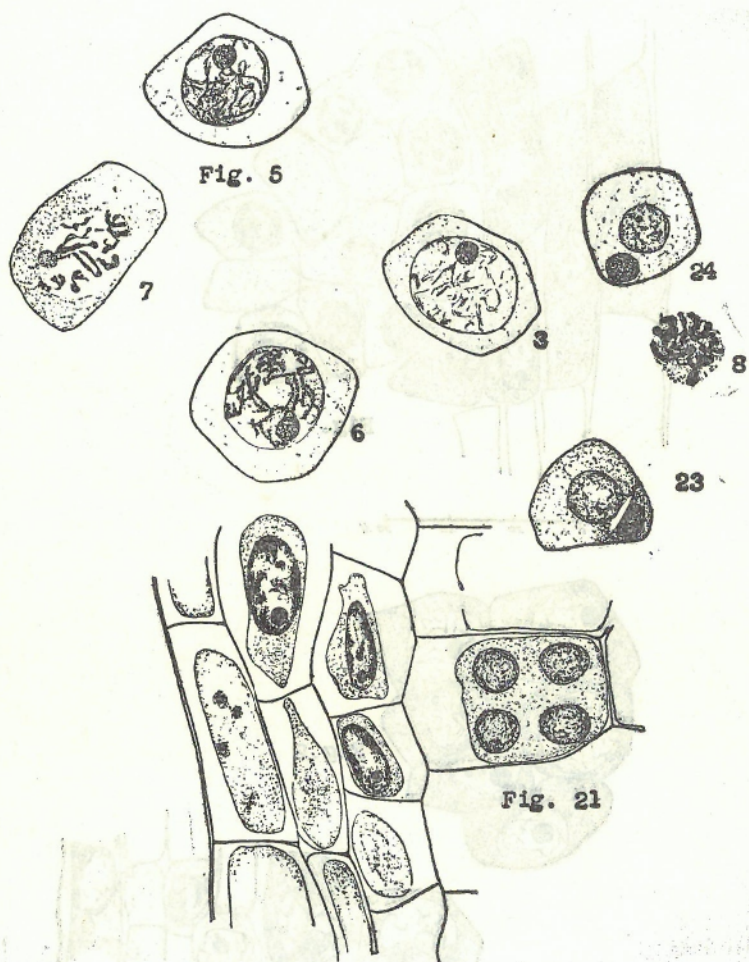


Fig. 4

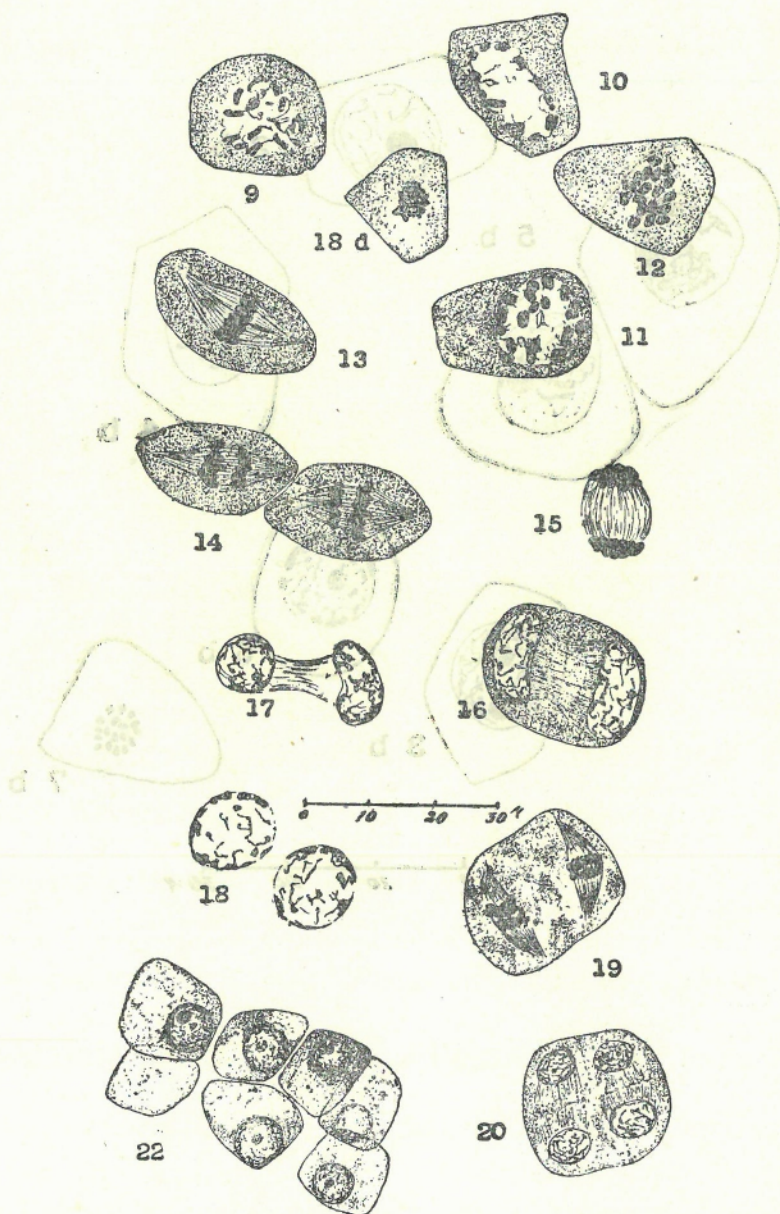


## ESTAMPA II



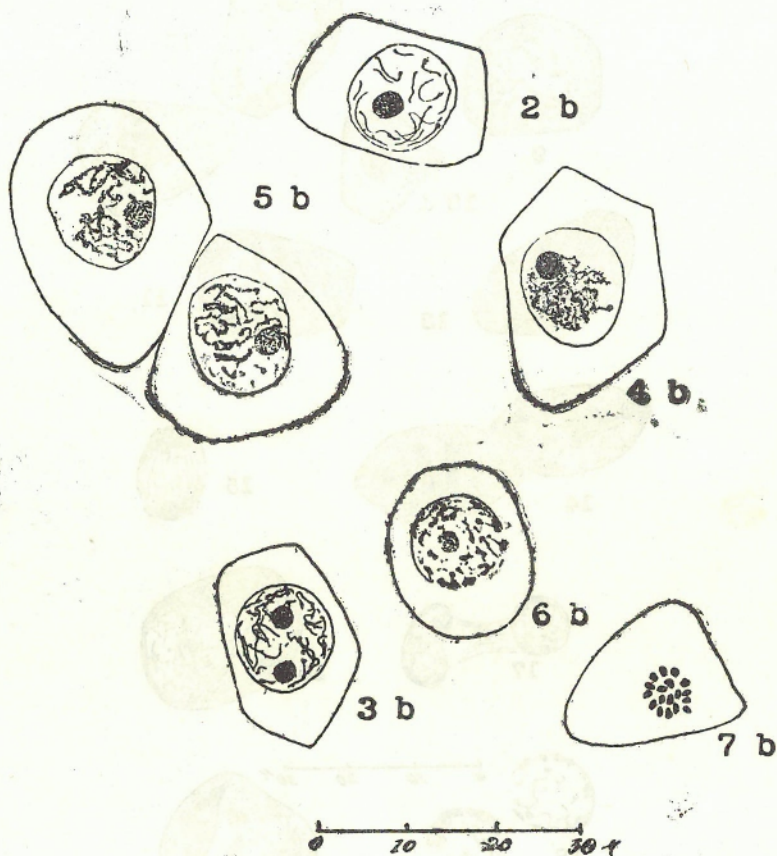


## ESTAMPA III

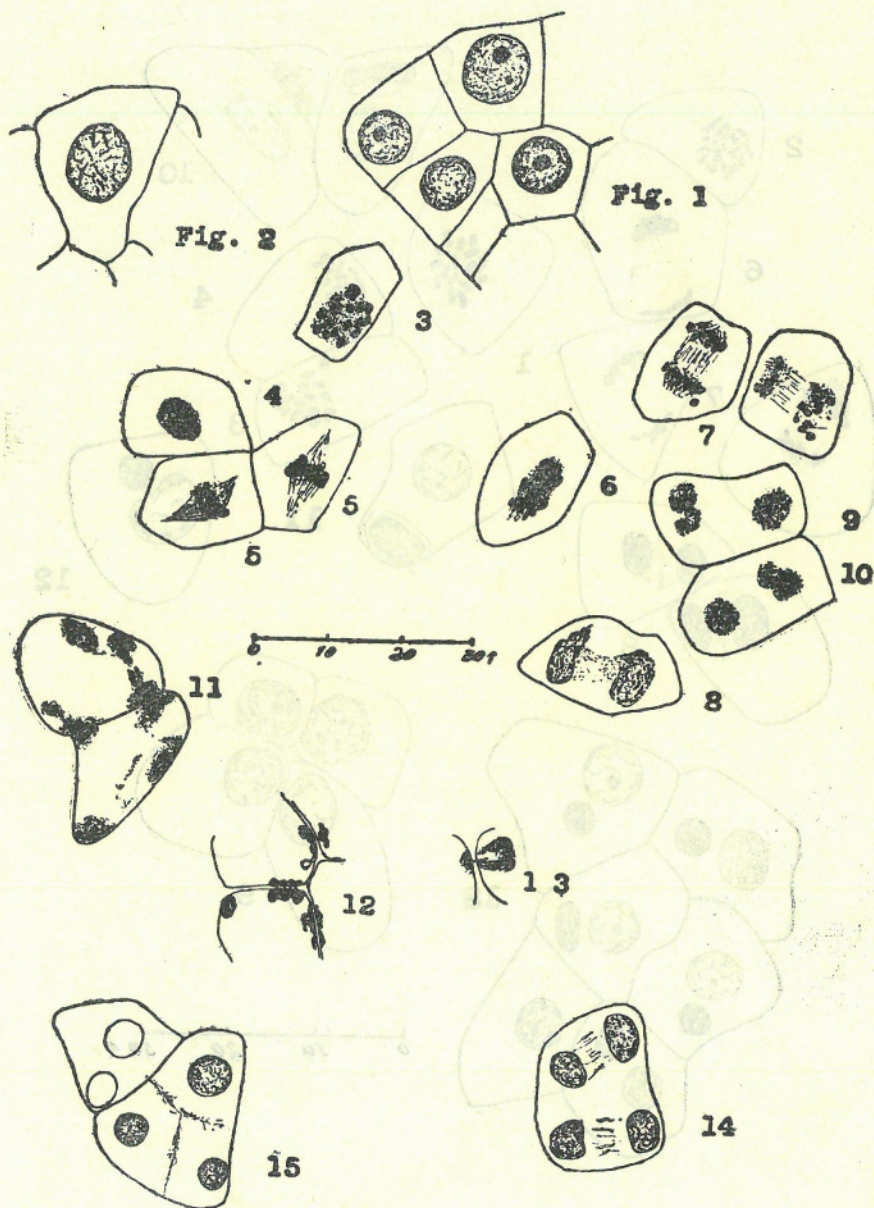




## ESTAMPA IV

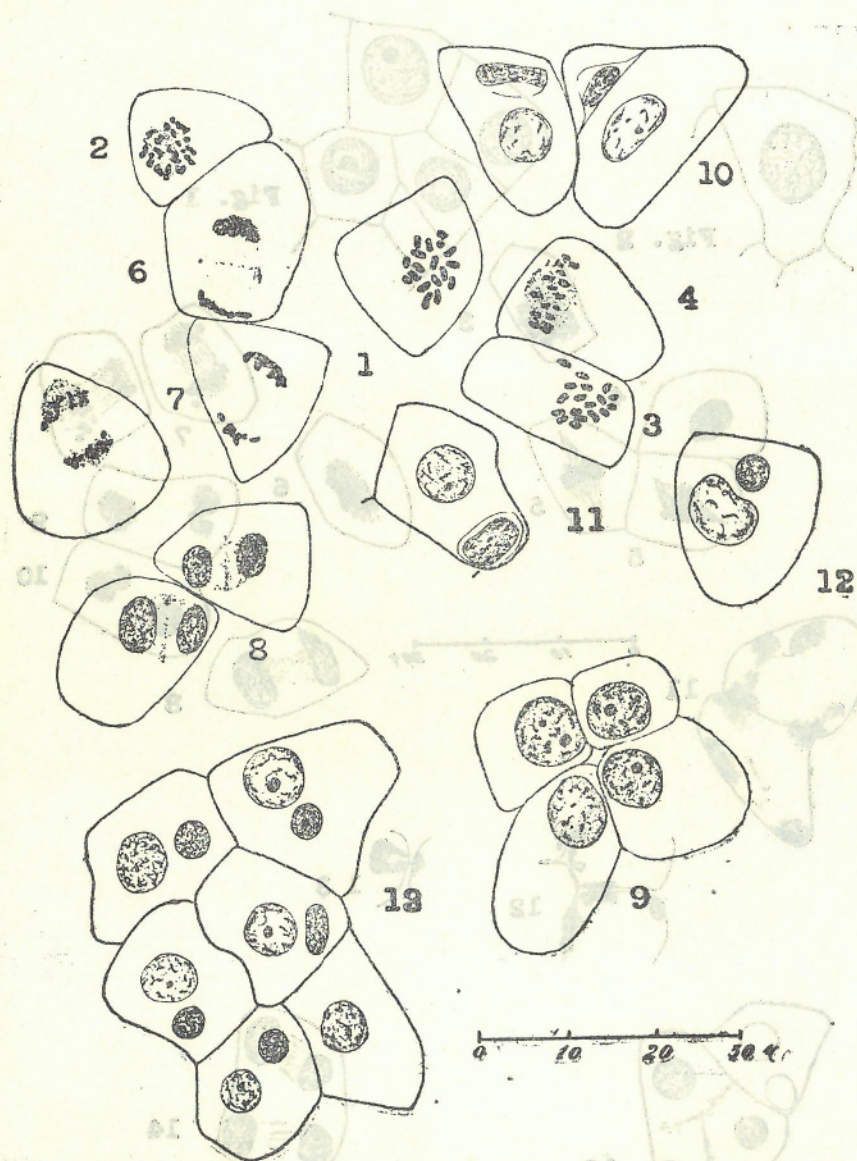


## ESTAMPA V

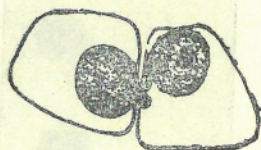
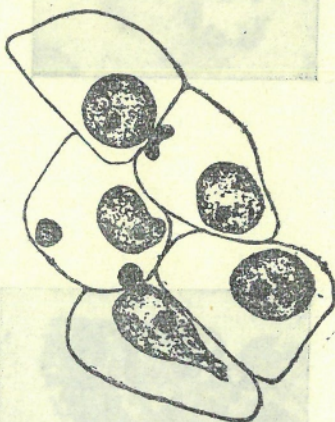
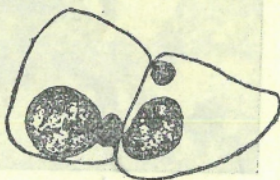
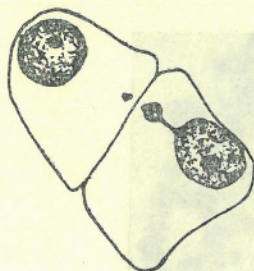
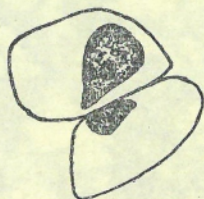
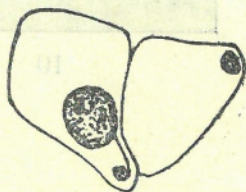
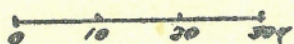
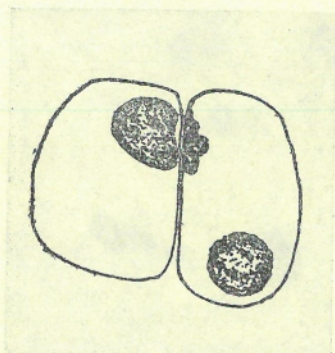




## ESTAMPA VI



## ESTAMPA VII





## MICROFOTOGRAFIAS



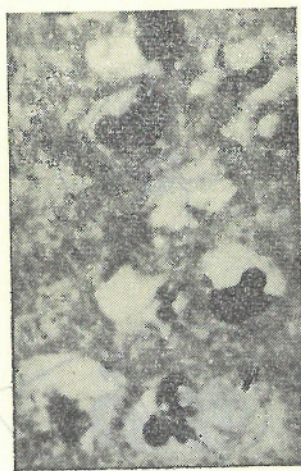
10



12



3



1

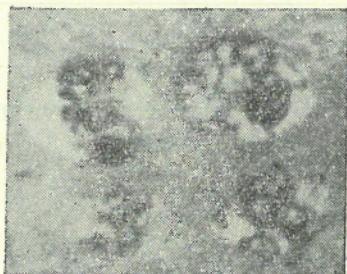




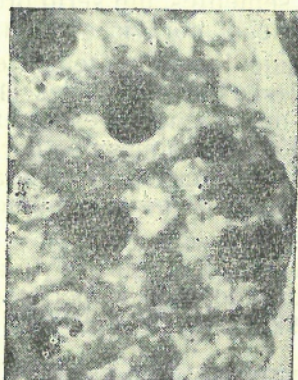
## MICROFOTOGRAFIAS



7



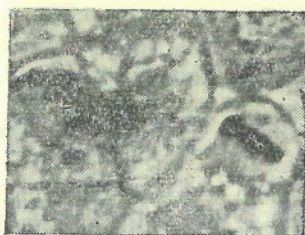
2



11



9



13



4



5