

POLIEMBRIONIA EM MIRTÁCEAS FRUTÍFERAS

J. T. A. GURGEL, *livre-docente, Secção de Genética, Escola Superior de Agricultura "Luís de Queiroz"*, e J. SOUBIHE SOBRINHO, *engenheiro agrônomo, Secção de Citricultura e Frutas Tropicais, Instituto Agronômico de Campinas* (1)

1 - INTRODUÇÃO

De um projeto de melhoramento das mirtáceas frutíferas, para cujo planejamento e execução entraram em colaboração a Secção de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luís de Queiroz" e a Secção de Citricultura e Frutas Tropicais do Instituto Agronômico de Campinas, constava um estudo detalhado da poliembrionia, dada a importância que representava para os trabalhos de melhoramento.

As razões para êsse estudo são as seguintes: a) havendo representantes com mais de um embrião por semente, é necessário conhecer a sua origem, isto é, se os embriões são de origem sexual ou apomítica; b) no processo de melhoramento, deve-se tomar em consideração que os indivíduos provenientes de uma semente poliembrionica poderão ter heranças genéticas diferentes; c) se os embriões forem de origem apomítica, e houver possibilidade de os distinguir dos sexuais, êsse fato poderá ser utilizado no estabelecimento de clones.

Tendo em vista os problemas acima enumerados, iniciaram-se pesquisas nos representantes de maior importância econômica da grande família *Myrtaceae*.

No decorrer dos trabalhos, surgiram outros problemas, tais como: se o número de embriões por sementes, encontrado em várias espécies, obedecia a uma distribuição matemática, e a possibilidade de comparação do grau de poliembrionia de ano para ano.

O presente trabalho contém informações que esclarecem vários dos itens acima enumerados.

Quanto à classificação botânica, seguiu-se a de Bailey (1) e Hoehne (8).

2 - ESPÉCIES MONOEMBRIÔNICAS

De tôdas as espécies estudadas, algumas, como goiaba (*Psidium guajava* L.), araçá (*Psidium araçá* Radde), pitanga (*Eugenia uniflora* L.);

(1) Os autores agradecem ao Prof. F. G. Brieger e ao Eng.º Agr.º S. Moreira, as sugestões dadas durante o desenvolvimento do trabalho, bem como a leitura do texto; ao Eng.º Agr.º Carlos A. Krug, diretor do Instituto Agronômico de Campinas, as facilidades proporcionadas para a realização do plano de colaboração; ao Prof. Filipe Westin Cabral de Vasconcelos, o ensejo da coleta do material do pomar da Escola Superior de Agricultura "Luís de Queiroz"; ao Eng.º Agr.º Dario Freire de Sousa, proprietário da Chácara Morato, em Piracicaba, a Granjas Reunidas Vila Vieira e Bela Vista, em Araraquara, e ao Dr. Jorge Pacheco Chaves, proprietário da Chácara Nazaré, em Piracicaba, o fornecimento do material.

uvaia (*Eugenia uvalha* Camb.), cabeludinha (*Eugenia tomentosa* Camb.), cereja do Rio Grande (*Myrcianthes edulis* Berg) guabiroba (*Myrtus mucronata* Camb.), grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.), pitomba (*Phyllocalix luschnathianus* Berg) e jabuticaba branca (*Gomidesia reticulata* Berg) revelaram ter somente um único embrião.

A contagem dos embriões na semente foi feita em 6.100 sementes, sendo 2.050 pelo processo direto, e 4.050 pelo processo após germinação.

As sementes de algumas daquelas espécies não se prestam bem para a contagem direta, umas, por serem inteiriças, isto é, os cotilédones são colados entre si, como pitanga, pitomba, etc., e outras, por apresentarem a casca da semente muito dura, como goiaba e araçá. Quanto ao primeiro caso, apesar do inconveniente citado, ainda se pôde efetuar a contagem direta.

No caso da goiaba e araçá, efetuou-se somente a contagem após germinação. Para tanto, semeou-se um total de 1.000 sementes, distribuídas durante três anos. Tôdas as espécies acima referidas se mostraram monoembriônicas. A germinação processou-se em 18 e 38 dias, respectivamente, para goiaba e araçá. O arrancamento das plantas foi feito em 80 dias e 110 dias, após a sementeação dessas espécies.

Para pitanga, uvaia, cabeludinha e cereja do Rio Grande, a contagem direta foi efetuada num total de 1.600 sementes, distribuídas durante 2 anos, sendo 400 para cada uma dessas espécies. Foi encontrado um único embrião por semente. Para a contagem após a germinação, foi semeado o total de 1.800 sementes. A contagem na sementeira foi efetuada aos 70, 60, 120 e 100 dias após a germinação, obedecendo à mesma ordem de colocação das espécies acima referidas. Antes de se arrancarem as plantinhas, observou-se que muitas delas apresentavam dois ou três caulículos, o que dava a impressão de se tratar de duas ou três plantinhas distintas. Mas, após o arrancamento, verificou-se que se tratava de ramificações do caule, partindo da região do colo. É muito comum nas *Myrtaceae*, encontrarem-se essas ramificações, tanto nas espécies monoembriônicas como nas poliembriônicas. Na guabiroba, fêz-se a contagem direta em 100 sementes, durante um ano, e encontrou-se um único embrião por semente. Também a contagem após germinação foi feita somente num ano; semearam-se 200 sementes, que germinaram depois de 73 dias. A contagem na sementeira foi efetuada aos 120 dias após a germinação. Tôdas as sementes se revelaram monoembriônicas. Na grumixama, a contagem direta e após germinação foi levada a efeito durante um ano, num total de 300 sementes, sendo 150 para cada um desses processos. A germinação processou-se em 35 dias e o arrancamento das plantinhas deu-se aos 110 dias após a germinação. Encontrou-se um embrião por semente. Para pitomba, foram utilizadas 200 sementes, num ano, sendo metade para o processo direto e metade para após germinação. A germinação realizou-se depois de 28 dias. O arrancamento foi feito 60 dias após a germinação. Essa espécie é monoembriônica. A jabuticaba branca, segundo Hoehne (8), não devia ser agrupada entre as jabuticabeiras, pois essas possuem flores fasciculadas emergentes das axilas

das folhas e mesmo dos ramos e troncos já sem folhas, enquanto aquela possui as flores em panícula. A contagem direta foi efetuada em 100 sementes, durante um ano. Para a contagem na sementeira, semeou-se o total de 200 sementes em dois anos. A germinação deu-se em 30 dias; 120 dias após a germinação fêz-se o arrancamento das plantinhas. Não se encontrou mais do que um embrião por semente.

3 - ESPÉCIES POLIEMBRIÔNICAS

3.1 - MATERIAL E MÉTODO

O material utilizado no presente trabalho foi coletado em vários pomares dos municípios de Piracicaba, Campinas, Araraquara e Posse de Ressaca, e, também, em alguns sítios do litoral, como de Registro e Sete Barras.

Os frutos foram colhidos em diferentes pontos da planta, com tamanho uniforme e com o mesmo grau de maturação. Na repetição das coletas nos anos subsequentes, teve-se o cuidado de colhêr material das mesmas plantas; isso foi fácil, porquanto as plantas tinham sido marcadas durante a primeira coleta. Assim, possuem-se dados de dois e três anos de uma mesma planta, o que permite analisar o seu comportamento quanto ao número de sementes por fruto e o número de embriões por semente.

Colhidos os frutos, extraíram-se as sementes e contou-se o seu número, para cada fruto; em seguida, foram elas postas a secar, à sombra. As sementes de cada planta da mesma espécie e de várias localidades foram divididas em dois grupos distintos: sementes usadas na contagem direta, e sementes usadas na contagem após germinação.

A contagem direta foi feita retirando a casca das sementes; em seguida, os embriões foram dissecados e contados, às vêzes com auxílio de uma lente. Como já se mencionou, nem tôdas as espécies se prestam para êsse fim, pois algumas apresentam a casca das sementes muito dura, como goiaba e araçá; em outras, a semente é inteiriça, isto é, os cotilédones são colados entre si, como pitanga, grumixama, etc. Observou-se que muitos embriões de quase a totalidade das espécies utilizadas apresentavam três cotilédones. A determinação dos embriões de jambo (*Syzygium jambos* Alston) e jambolão (*Syzygium cumini* Skeels) requer muito cuidado, uma vez que os mesmos são ligados entre si. Assim, para dissecá-los, é necessário que o operador esteja familiarizado com essas duas espécies; caso contrário, os resultados deixam muito a desejar.

Durante a contagem direta, fêz-se a medição dos cotilédones, os quais, de acôrdo com seus comprimentos, foram classificados em quatro grupos, a saber: cotilédones grandes, médios, pequenos e muito pequenos. Os resultados obtidos serão discutidos em um dos capítulos dêste trabalho.

As sementes de plantas de cada espécie foram semeadas separadamente, em caixões, contendo partes iguais de terra, areia e estêrco. O arrancamento das sementes foi feito com todo o cuidado, para que os

embriões germinados não se desligassem da casca da semente, evitando, assim, dúvidas quanto à origem dos mesmos; em seguida, foram êles dissecados e contados. Observou-se que a maioria dos embriões pequenos apresentavam os caulículos e as radículas pouco desenvolvidas, enquanto que os muito pequenos produziram somente radículas ou somente caulículos.

Em tôdas as espécies e formas de *Myrtaceae* discutidas neste trabalho, a poliembrionia foi expressa de dois modos: **número médio** de embriões contados pelo número de sementes consideradas; **percentagem de poliembrionia**, que se obtém calculando-se, em por cento, a frequência das sementes com dois ou mais embriões, no total das sementes contadas. Desta forma, se houver só sementes monoembriônicas, a média dos embriões será um e a percentagem poliembriônica será zero; se houver sementes com dois ou mais embriões, a média dos embriões será maior do que um e a percentagem poderá atingir valores até próximos de cem. Somente em casos muito excepcionais se encontraram espécies ou formas com cem por cento de poliembrionia.

Para facilitar a classificação do grau de poliembrionia das *Myrtaceae* frutíferas, estabeleceram-se três classes: *alta*, *média* e *baixa*. Chamou-se de alta, quando a percentagem de poliembrionia foi superior a 70%; média, quando esta percentagem estêve compreendida entre 70 e 40%, e, baixa, quando a percentagem de poliembrionia foi inferior a 40%.

3.2 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DA POLIEMBRIONIA PELA SÉRIE DE POISSON

Na aplicação da série de Poisson, à poliembrionia, tem-se que fazer um pequeno artifício, aliás justificado. Como é sabido, na distribuição de Poisson, a primeira classe tem o valor zero, o que não acontece nas sementes poliembriônicas em estudo, pois não se verificou ocorrência de sementes sem embrião; de outro lado, porém, lembrando de que, na poliembrionia, se está interessado no número de embriões adicionais a um, tem-se preenchido todos os requisitos teóricos desta série. Portanto, a primeira classe será constituída das sementes com zero embriões adicionais; a segunda, com um embrião adicional, e, assim por diante. Dêste modo, precisa-se lembrar de que a verdadeira média de poliembrionia será sempre a média da série de Poisson acrescida de uma unidade.

Os demais requisitos são satisfeitos, para se aplicar a série de Poisson na poliembrionia. Assim, a distribuição de embriões adicionais é descontínua e as frequências, por classe, são números inteiros e positivos. Nesta série, a frequência dos acontecimentos esperados deve ser muito pequena em relação ao número total de acontecimentos possíveis, tornando-se a frequência observada, em vista disso, praticamente independente do número total de observações. Também isto se verifica no caso da poliembrionia das mirtáceas; assim, em cortes feitos em ovários jovens de jambo, constatou-se a existência de mais de 40 sacos embrionários, numa única loja. Portanto, o número de casos possível é muito elevado e o número observado é muito pequeno, ficando praticamente independente do total.

O cálculo da frequência esperada para grande parte das espécies estudadas foi feito usando-se os logaritmos decimais, cuja marcha, aliás bastante trabalhosa, é dada em detalhe por vários autores, entre os quais Gurgel (6) e Snedecor (12). Atualmente se está utilizando uma tábua publicada por Molina (10), que traz, já calculados, os valores das frequências esperadas. Esta tábua está dividida em duas partes: a primeira dá os valores individuais das frequências esperadas e, a segunda, os mesmos valores, porém acumulados. Nas duas tábuas, a soma das frequências é sempre 1, de maneira que, para se ter o valor da frequência esperada, para aquela classe, basta multiplicar cada classe pelo número observado. Além do mais, a tábua que traz a frequência acumulada é muito útil, pois, no geral, para satisfazer a uma condição teórica, ao executar o teste de χ^2 , somos forçados a reunir classes, a fim de se terem as frequências esperadas maior do que cinco. Esta situação, para o caso da análise da distribuição de Poisson, geralmente ocorre para as classes com valores da frequência esperada bastante pequenos.

Como será visto mais adiante, verificou-se uma adaptação perfeita da distribuição da poliembrionia das *Myrtaceae* à série de Poisson. Resolveu-se apresentar apenas o somatório dos χ^2 e o seu grau de liberdade, valores estes que se encontram nas duas últimas colunas dos quadros 1 a 3. Os limites utilizados para a análise dos testes de δ e χ^2 foram baseados em Brieger (2).

3.3 - CONTAGEM DIRETA DOS EMBRIÕES NA SEMENTE

3.3.1 - ESPÉCIE DE ALTA POLIEMBRIONIA

Jambo — Foram examinadas quatro plantas de diferentes origens, isto é, duas de Piracicaba (Escola e Nazaré), uma de Araraquara (Vieira) e uma de Campinas (Instituto Agrônômico) (quadro 1). Todas as plantas foram analisadas durante dois anos, isto é, 1949 e 1950. No geral, o jambo Escola apresentou, durante os dois anos considerados, maior percentagem de poliembrionia (ao redor de 96%), enquanto que o jambo Instituto Agrônômico deu valores mais baixos. Convém notar que, no ano de 1949, para a quase totalidade das diferentes plantas, se observaram valores de poliembrionia mais baixos do que para 1950.

Os valores maiores e menores da média de poliembrionia encontrados, respectivamente de 1,11 e 2,04, ocorreram para a mesma planta, jambo Vieira, nos anos de 1949 e 1950; também, nessa mesma forma, apareceu uma semente com onze embriões, que é o maior número de embriões constatado, não somente para jambo, mas para todas as mirtáceas aqui estudadas.

Jambolão — Dispôs-se apenas de duas plantas de origens diferentes, ambas da Escola S. A. "Luís de Queiroz"; obtiveram-se resultados de três anos, de 1949 a 1951. A percentagem de poliembrionia está compreendida entre 76,06 a 90,00, respectivamente, para as plantas Escola-2, 1949, e Escola-1, 1951. A média de poliembrionia foi de 2,69.

Quadro 1.—Contagem direta dos embriões nas sementes, em plantas de jambo e jambolão, mirtáceas de alta poliembrião, de várias procedências, e comparação dos dados com a série de Poisson

Espécie	Ano	Número		Número de sementes com as seguintes contagens de embriões											Embrões por planta		Teste de $\hat{\sigma}$ $\sigma \text{ dif.} = \pm 0,18$	Série de Poisson			
		Semei-tes	Em-briões	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	4	Polem-briônia		σ	$\sum x^2$	Graus de liberdade	
Jambo Es- cola-----	{ 1949 1950	197 194	871 870	6	20	43	44	36	22	10	8	6	2	--	4,42	96,86	$\pm 1,88$	5,89	8		
				7	25	33	35	41	26	12	8	5	2	--	4,48	96,45	$\pm 1,94$			4,53	8
Jambo Na- zaré-----	{ 1949 1950	179 160	612 636	20	42	42	34	19	11	6	3	1	1	--	3,41	88,83	$\pm 1,77$	2,94	6		
				11	25	36	34	23	14	8	6	2	1	--	3,97	93,13	$\pm 1,89$			5,05	7
Jambo Viei- ra-----	{ 1949 1950	146 139	346 612	44	45	33	16	6	2	--	--	--	--	2,36	69,87	$\pm 1,11$	2,04	4			
				6	18	25	32	24	13	10	4	4	2	1	4,40	95,69			$\pm 2,04$	3,46	7
Jambo Inst. Agrônômico	{ 1949 1950	180 179	398 511	60	62	32	16	7	2	1	--	--	--	2,21	66,67	$\pm 1,22$	4,48	4			
				29	53	47	28	13	6	2	1	--	--	--	2,85	83,80			$\pm 1,41$	2,55	5
Jambolão Es- cola-1-----	{ 1949 1950 1951	151 196 180	513 820 682	19	36	35	20	23	9	5	3	1	--	3,39	87,40	$\pm 1,77$	10,49	6			
				12	29	36	37	37	20	16	5	3	1	--	4,18	93,88			$\pm 1,90$	5,38	7
				9	36	43	36	26	17	9	3	1	--	--	3,78	95,00			$\pm 1,69$	2,26	6
Jambolão Es- cola-2-----	{ 1949 1950 1951	167 202 181	450 583 629	40	48	33	27	12	3	3	1	--	2,69	76,06	$\pm 1,49$	7,19	4				
				35	52	56	33	17	5	3	1	--	2,88	82,68	$\pm 1,42$			2,86	5		
				19	34	45	38	27	11	3	3	1	--	3,47	89,51			$\pm 1,52$	1,85	6	

(Escola-2, 1949) e 4,18 (Escola-1, 1950). De modo geral, tanto na percentagem como na média de poliembrionia, a árvore Escola-1 deu valores mais altos do que Escola-2. As duas espécies acima discutidas, de jamba e jambolão, são classificadas como mirtáceas de alta poliembrionia, com valor médio de poliembrionia de 85%.

Como se pode notar na última coluna do quadro 1, a adaptação da distribuição do número de embriões por semente à série de Poisson foi perfeita, mostrada pelos valores de χ^2 não significativos.

3.3.2 - ESPÉCIES DE MÉDIA E BAIXA POLIEMBRIONIA

Punhema (*Myrciaria* sp.) — Dispôs-se, para este tipo, de duas plantas de origem diferente, Morato e Escola, sendo a primeira examinada durante três anos, de 1949 a 1951, e, a segunda, apenas em dois anos, de 1949 a 1950 (quadro 2). A punhema Escola deu, nos dois anos em que foi estudada, valores de poliembrionia mais altos do que a Morato, chegando três sementes a dar até cinco embriões. No ano de 1949, a punhema Escola teve uma percentagem de poliembrionia duas vezes maior do que o valor obtido para a punhema Morato em 1950. No geral, a poliembrionia esteve compreendida entre 33,69% para a Morato em 1950 e 67,05 para a Escola em 1949. Outro fato digno de nota é que ambas as punhemas apresentaram decréscimo do valor da poliembrionia dos anos de 1949 a 1950.

A média de embriões, por semente, acompanha o valor obtido para a percentagem de poliembrionia, sendo o valor mínimo de 1,38 para a punhema Morato em 1950, e o valor máximo para a punhema Escola em 1949. Pode-se classificar as punhemas como apresentando grau médio de poliembrionia, ao redor de 50%.

Sabará (*Myrciaria cauliflora* L.) — Obtiveram-se duas plantas diferentes, porém oriundas da Escola S. A. "Luís de Queiroz", tendo sido ambas estudadas durante três anos, de 1948 a 1950. Uma das provas de que essas plantas são diferentes é dada pela diferença da percentagem de poliembrionia, entre elas, nos anos de 1948 e 1949, chegando a planta Escola-1 a ter quase o dobro da Escola-2. A maior variação da percentagem da poliembrionia foi encontrada dentro da planta Escola-1, nos anos de 1949 e 1950, variando de 62,17% a 33,50%. A média de embriões, por semente, acompanha os mesmos valores percentuais acima referidos, indo de 1,35 a 1,85%.

Embora a sabará tenha apresentado valores de até 62% de poliembrionia, ela pode ser classificada como tendo baixa poliembrionia, com valor médio ao redor de 40%.

Jabuticabas diversas (*Myrciaria trunciflora* L.) — Para o caso das jabuticabas foram feitas observações em variedades diferentes, como pintada, coroadada, bronzeada e rajada, sendo a primeira proveniente da Escola S. A. "Luís de Queiroz" e, as demais, da chácara Vieira, de Araraquara. Vê-se que, quanto à percentagem de poliembrionia, se podem separar dois grupos bem nítidos, o primeiro com valor médio ao redor

QUADRO 2. — Contagem direta dos embriões nas sementes, de diferentes espécies de mirtáceas de média e baixa poliembriãoia, de várias procedências, e comparação dos dados com a distribuição de Poisson

Espécie	Ano	Número		Número de sementes com as seguintes contagens de embriões						Embriões por planta			Teste de \hat{c}	Série de Poisson	
		Semen- tes	Em- briões	1	2	3	4	5	\bar{x}	Poliem- briãoia	σ	χ^2		Graus de liberdade	
Punhema Morato	{ 1948 1949 1950	180	308	82	75	16	7	---	1,71	54,45	± 0,79	4,68	3		
		203	316	110	75	16	2	---	1,55	45,82	± 0,69	2,90	3		
		190	263	126	36	7	1	---	1,38	33,69	± 0,58	1,68	2		
Punhema Escola	{ 1949 1950	176	357	58	70	35	11	2	0,02	67,05	± 0,94	1,69	4		
		163	263	90	50	20	2	1	1,61	44,79	± 0,79	1,29	3		
Sabará Escola-1	{ 1948 1949 1950	103	184	40	45	15	2	---	1,79	60,20	± 0,76	4,06	3		
		185	344	70	77	32	6	---	1,85	62,17	± 0,81	4,55	3		
		200	276	133	60	5	2	---	1,38	33,50	± 0,59	2,95	2		
Sabará Escola-2	{ 1948 1949 1950	199	292	121	64	13	1	---	1,47	39,20	± 0,64	0,89	2		
		192	266	126	58	8	---	---	1,39	34,38	± 0,57	2,22	2		
Jaboticaba Pintada Escola	{ 1949 1950	170	245	111	45	12	2	---	1,44	34,71	± 0,68	0,46	2		
		151	217	96	53	5	---	---	1,40	37,67	± 0,56	6,00	2		
Jaboticaba Coroada Escola	{ 1949 1950	150	208	101	41	7	1	---	1,38	32,67	± 0,61	0,14	2		
		174	276	91	67	13	3	---	1,58	47,71	± 0,71	3,13	3		
Jabotic. Bronzeada Vieira	{ 1949 1950	150	220	90	51	8	1	---	1,46	40,00	± 0,63	2,14	2		
		193	218	170	21	2	---	---	1,13	11,92	± 0,36	0,01	1		
Jabotic. Rajada Vieira	{ 1949 1950	183	217	151	30	2	---	---	1,18	17,49	± 0,41	0,12	1		
		180	298	87	71	19	3	---	1,65	51,67	± 0,73	2,98	3		
Caubucá Monte Alegre	{ 1949 1950	181	245	125	49	6	1	---	1,35	30,94	± 0,57	0,86	2		
		84	133	48	25	9	2	---	1,58	42,86	± 0,78	0,47	2		

de 40%, que inclui a pintada Escola, coroada e rajada Vieira e, o segundo, com valor médio de 15%, contando uma única variedade, a bronzeada Vieira. A rajada Vieira ainda apresentou grande variação entre os anos de 1949 e 1950. As médias do número de embriões, por semente, acompanham os valores da percentagem de poliembrionia, já descritos, variando desde 1,13 a 1,65, em 1949.

Consoante já se demonstrou, as jabuticabas se situam no grupo das mirtáceas de baixa poliembrionia. A idêntica conclusão chegou Traub (14), verificando, na Flórida, U. S. A., a poliembrionia de jabuticabas importadas do Brasil, nas quais encontrou de um a seis embriões de uma única semente, com média de 2.

Cambucá (*Eugenia edulis* Vell.) — Para essa espécie dispôs-se de apenas uma origem, denominada Monte Alegre, e também para um único ano. O valor da percentagem de poliembrionia foi de 42,86% e, a média, de 1,58 por semente. Com isto, pode-se dizer que também o cambucá se coloca entre as mirtáceas de baixa poliembrionia. Notou-se também que houve uma perfeita concordância entre as frequências observadas da distribuição do número de embriões por semente e as frequências esperadas, calculadas na base da série de Poisson. Como se vê no quadro 2, última coluna, todos os somatórios de χ^2 são insignificantes.

3.4 - CONTAGEM DOS EMBRIÕES APÓS GERMINAÇÃO

3.4.1 - ESPÉCIES DE ALTA E BAIXA POLIEMBRIONIA

À semelhança do que já foi constatado em *Citrus*, por Moreira, Gurgel e Arruda (11), e por vários outros autores, dentre os quais Frost (4) e Tôrres (13), obtêm-se sempre valores mais baixos da poliembrionia, quando a determinação é feita após germinação, do que quando ela é feita na contagem direta. Isto é facilmente compreensível, pois, na poliembrionia, há variação de tamanho entre os embriões, e aqueles que são muito pequenos não conseguem germinar, seja pela concorrência dos maiores, seja porque ainda não terminaram o seu desenvolvimento. Além disso, em muitos casos, como aliás acontece com os *Citrus*, os embriões pequenos ou muito pequenos se situam por dentro dos embriões maiores, o que mecânicamente dificulta a sua germinação. Essa diferença no valor da poliembrionia, notada para os *Citrus*, ocorre também nas mirtáceas, conforme se verifica pela comparação dos quadros 1 e 2 com o quadro 3. Todavia, houve uma única exceção, para a punhema Escola, na qual a determinação da poliembrionia, após germinação, acusou valores mais altos do que para o processo direto (quadro 3). Isto pode ser facilmente explicado porque, nesta espécie, muitas vezes, os embriões estão colados uns com os outros e a determinação direta da poliembrionia pode levar a resultados falsos.

Jambo — Obtiveram-se plantas de semente duas origens, as da Escola e Nazaré, ambas de Piracicaba. Para o primeiro tipo, o valor da poliembrionia foi de 83,26%, valor êste que não difere muito daquele

QUADRO 3.—Contagem dos embriões após a germinação das sementes em espécies de mirtáceas de alta e baixa poliembrionia, de várias procedências, e comparação dos resultados com a distribuição de Poisson

Espécie	Ano	Número		Número de sementes com as seguintes conta- gens de embriões										Embrões por planta			Teste de $\hat{\sigma}$ σ dif. = $\pm 0,18$	Série de Poisson													
		Semen- tes	Em- brões	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	\bar{x}	Poliem- brionia	σ		$\sum x^2$	Graus de liberdade												
Jambolão Escola-1-----	{ 1949 1950 1951	98	308	18	23	22	12	12	9	1	0	1	1	9	12	27	19	32	27	31	42	61	32	46	25	17	3,14	81,62	$\pm 1,72$	10,48	5
		241	1.011	16	31	42	61	32	27	19	9	4	4	9	32	27	19	32	27	31	42	61	32	46	25	4,20	93,37	$\pm 1,99$	11,07	7	
		241	1.042	9	33	43	53	46	25	17	9	5	1	1	9	25	17	9	46	25	33	43	53	46	25	4,32	96,27	$\pm 1,66$	2,40	8	
Jambolão Escola-2-----	{ 1949 1950	92	217	29	29	16	13	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2,36	68,48	$\pm 1,36$	4,01	4	
		237	591	50	87	49	36	8	6	1	1	1	1	6	8	6	1	1	6	8	49	36	8	6	1	2,52	78,49	$\pm 1,31$	6,55	5	
Jambo Escola...	1949	209	636	35	57	47	32	21	9	1	1	1	9	21	9	1	1	9	21	57	47	32	21	9	1	3,04	83,26	$\pm 1,63$	7,80	5	
Jambo Nazaré ..	1949	160	319	65	54	27	7	5	2	2	2	2	5	2	2	2	2	5	2	65	54	27	7	5	1,98	59,38	$\pm 1,11$	1,15	3		
Punhema Morato	1948	146	219	87	46	12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	87	46	12	1	1	1,50	40,42	$\pm 0,68$	0,10	2		
Punhema Escola.	1949	100	221	28	37	23	10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	28	37	23	10	2	2,21	72,00	$\pm 1,03$	0,95	4		
Sabará Escola-1-	1948	121	189	65	46	8	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	65	46	8	2	2	1,56	46,29	$\pm 0,69$	2,38	2		
Sabará Escola-2-	1948	293	450	165	102	23	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	165	102	23	3	3	1,53	43,69	$\pm 0,69$	2,31	3		

obtido no processo direto. Contudo, para o jambo Nazaré, a diferença entre os dois processos é bastante apreciável, chegando a quase 30%. Como se têm observações de um ano apenas, não se pode afirmar se se trata ou não de uma variação acidental ou se, de fato, para esta última planta, há pequena germinação dos embriões adicionais.

A idêntica conclusão, pode-se chegar se forem examinadas as médias dos números de embriões por semente, onde ocorrem valores de 3,04 para o jambo Escola e 1,98 para o Nazaré. Esta situação é reflexo do número de embriões em cada tipo, sendo que no primeiro caso se têm sementes germinadas até com nove embriões e, no segundo, sementes com apenas seis embriões germinados. Considerando-se os dois valores diferentes obtidos para a poliembrionia nos dois jambos estudados, pode-se dizer que, mesmo após a germinação, ainda o jambo mostra grau elevado de poliembrionia.

Jambolão — Para esta espécie dispôs-se das mesmas duas origens já estudadas pelo processo direto e durante os mesmos anos. A determinação da poliembrionia, após germinação, foi feita num elevado número de sementes, principalmente para o jambolão Escola-1, com cerca de 2.300 sementes. A planta Escola-1 deu valores de poliembrionia bem altos, variando de 81,62% a 96,27%, e sementes com nove a dez embriões; as médias de embriões, por semente, variaram, para os mesmos anos, de 3,14 a 4,32.

O jambolão Escola-2 deu, nos dois anos em que foi analisado, valores mais baixos de poliembrionia do que a planta Escola-1, de 68,48% a 78,49% e sementes com até sete embriões. As médias de embriões por semente foram de 2,36 a 2,52, respectivamente, para os anos de 1949 e 1950. Mesmo com as variações de poliembrionia, encontradas, ainda se pode dizer que o jambolão se inclui nas espécies de alta poliembrionia.

Punhema — Conforme se disse anteriormente, numa das plantas aqui examinadas, o valor de poliembrionia após germinação foi maior do que o obtido pelo processo direto. Os valores de poliembrionia para as plantas Morato e Escola foram, respectivamente, de 40,42% e 72,00%.

Sabará — Para esta espécie conseguiram-se dados das duas plantas, Escola-1 e 2, porém somente num ano, de 1948. Os valores da poliembrionia, para as duas plantas, de origem diferentes, foram bastante semelhantes ao redor de 45%. O número máximo de embriões contados foi de quatro por semente, aliás o mesmo que se encontrou pelo processo direto. Como a sabará apresentou grande variação para a poliembrionia, determinada diretamente na semente, torna-se difícil comparar este processo com o da germinação. Contudo, se se admitir que no processo direto a média de poliembrionia foi de 40%, verificar-se-á que os dois processos deram resultados semelhantes, pois no processo de germinação a média foi de 45%. Assim, mais uma vez, se confirma que a sabará pode ser tida como de baixa poliembrionia.

Embora já se tivesse constatado que a distribuição do número de embriões adicionais segue a série de Poisson, quando a determinação é feita pelo processo de contagem direta de embriões na semente, repetiu-se

a mesma análise também para a contagem feita após germinação da semente. Como mostram os valores de χ^2 , última coluna do quadro 3, a adaptação foi perfeita.

4 - ANÁLISE DA VARIABILIDADE DA POLIEMBRIONIA PELO TESTE DE DELTA

Da contagem da poliembrionia pelo processo direto, ou após germinação em algumas plantas e em diferentes anos, podem-se tirar algumas conclusões. Contudo, antes de se discutir o assunto, seria bom frisar de que maneira será possível fazer essa análise. Até o presente momento, todos os autores que estudaram o assunto, como Frost (4, 5), Torres (13), e Moreira, Gurgel e Arruda (11), fizeram apreciações sobre a variação da poliembrionia, quer em plantas diferentes da mesma espécie ou variedade, quer em anos diferentes, apenas de um modo qualitativo, baseando-se mais em considerações de ordem prática. No presente trabalho, desenvolveu-se uma aplicação do teste de delta, para avaliar, mais seguramente, as diferenças que apareceram. Às vezes, pequenas diferenças entre as médias comparadas foram significantes e, outras vezes, diferenças pouco maiores que as precedentes foram insignificantes. Isto facilmente se explica, pois, quando se aplica o teste estatístico, leva-se em conta a variação dentro de cada distribuição, que pode alterar a primeira impressão.

Como complemento ao teste de delta, foi ainda possível, em alguns casos, como na comparação da variação da poliembrionia de uma mesma planta em diferentes anos, fazer um confronto entre este teste e o teste de χ^2 , derivado da série de Poisson. Neste último teste, fêz-se, ainda, uma ligeira modificação no cálculo da frequência esperada.

4.1 - VARIAÇÃO ENTRE COLHEITAS DE UMA MESMA PLANTA EM DIFERENTES ANOS

4.1.1 - TESTE DA DIFERENÇA DE DUAS MÉDIAS

Este teste é válido para tôdas as mirtáceas frutíferas. Tendo determinado a poliembrionia em diversas plantas durante dois e três anos, tanto pelo processo direto (quadros 1 e 2), como pelo processo após germinação (quadro 3), foi possível verificar se houve ou não diferenças entre o grau de poliembrionia entre anos.

O teste utilizado foi o de delta para observar se as diferenças das médias de poliembrionia da mesma planta entre diferentes anos foram significantes.

Para o cálculo do desvio padrão da diferença de duas médias, em vez de se utilizar o desvio padrão de cada média, seguiu-se a sugestão de Fisher (3), calculando o erro médio balanceado da diferença de médias. Como se pode ver na coluna do desvio padrão da distribuição, nos quadros 1 a 3, existem dois grupos bem diferentes entre si, mas bastante homogêneos dentro deles; trata-se do grupo das espécies de alta poliembrionia

e do grupo de média e baixa poliembrionia. Para nível de significância, escolheram-se 5% de probabilidade, pois se têm comparações apenas entre duas ou três médias. Assim, todos os deltas menores do que 1,96 são insignificantes e todos os deltas maiores do que esse valor são significantes (quadros 1 a 3).

4.1.2 - ESPÉCIES DE ALTA POLIEMBRIONIA

Jambo — A única diferença insignificante achada para o jambo (quadro 1) foi para o tipo Escola, nos anos 1949 e 1950. Para os demais tipos, como Nazaré, Vieira e Instituto Agronômico, as diferenças das médias de poliembrionia entre os anos de 1949 e 1950 foram tôdas significantes, e o curioso ainda é que as médias do ano de 1949 foram sempre inferiores às do ano de 1950.

Jambolão — Na apreciação da variação da poliembrionia entre anos e dentro do mesmo tipo, para o jambolão, têm-se três anos para serem comparados. Para o jambolão Escola-1, as diferenças entre as médias de poliembrionia nos três anos foram diferentes entre si (quadro 3) e, para o jambolão Escola-2, as comparações entre a poliembrionia de 1949 e 1950 foram insignificantes e, entre 1949 contra 1951, e 1950 contra 1951, foram significantes. Em outras palavras, o grau de poliembrionia desta planta, Escola-2, foi o mesmo nos anos de 1949 e 1950; em 1951, houve, nessa poliembrionia, um acréscimo estatisticamente maior do que nos dois anos precedentes.

4.1.3 - ESPÉCIES DE MÉDIA E BAIXA POLIEMBRIONIA

Punhemas — Para o tipo de punhema Morato (quadro 2), as médias da poliembrionia entre os três anos considerados foram tôdas significantes, com valores de delta maiores do que o nível de 5%. Encontrou-se uma situação antagônica àquela para o jambo e jambolão, pois, enquanto nessas duas últimas espécies, o grau de poliembrionia cresceu de 1949 para 1950 ou 1951, na punhema Morato e também para outras punhemas, sabarás e jabuticabas, o grau de poliembrionia decresceu para os mesmos anos. Na punhema Escola, a diferença de poliembrionia nos anos de 1949 e 1950 foi altamente significativa, dando êste último ano resultados mais altos.

Sabarás — Na planta Escola-1, a diferença entre a poliembrionia nos anos de 1948 e 1949 foi insignificante, com delta de + 1,11 e, significativa, para os anos de 1949 e 1950, bem como entre 1948 e 1950. A planta Escola-2 mostrou-se muito uniforme quanto ao grau de poliembrionia, sendo a diferença entre os três anos de 1948, 1949 e 1950 estatisticamente insignificante, com deltas menores do que o nível de 5% de probabilidade.

Jabuticabas — Neste grupo têm-se observações para somente dois anos, de 1949 e 1950. Nos tipos pintada Escola, coroadada Vieira e bronzeada Vieira, a diferença do grau de poliembrionia entre os anos consi-

derados foi estatisticamente insignificante, pois os deltas foram menores do que 1,96 (5%). Sòmente o tipo rajada Vieira deu uma diferença de poliembrionia estatisticamente significativa entre os anos de 1949 e 1950, com valor delta de + 4,17, bem maior do que o nível de 5%.

4.1.4 - ESPÉCIES DE ALTA POLIEMBRIONIA

A comparação para o processo de contagem de embriões após a germinação de sementes (quadro 3) só pôde ser feita para o jambolão, pois foi a única espécie em que se determinou a poliembrionia em diferentes anos. Assim, para o jambolão Escola-1, têm-se três anos, de 1949 a 1951. Vê-se que a diferença do grau de poliembrionia entre os anos de 1949 e 1950 foi estatisticamente significativa, com delta de — 5,89, sendo bem maior do que o nível de 5%. A diferença entre os anos de 1950 e 1951 foi insignificante. Os testes mostram que a poliembrionia foi bem maior em 1950 e 1951 do que em 1949, e que, nos anos de 1950 e 1951, ela foi da mesma ordem. Para o jambolão Escola-2 têm-se apenas dois anos, e o delta indicou que a poliembrionia não variou apreciavelmente nesse período, pois o valor de — 0,89 é estatisticamente insignificante.

4.2 - VARIAÇÃO ENTRE OS PROCESSOS DIRETO E APÓS GERMINAÇÃO NO MESMO ANO

Tendo sido feita a determinação da poliembrionia pelos dois processos, direto e após germinação, para a mesma planta e, às vèzes, até em diferentes anos, foi possível verificar se havia ou não diferenças entre os processos e em diferentes anos.

Para se fazer o teste de diferença de médias, seria possível calcular o desvio padrão da média, de duas maneiras, quer utilizando o erro padrão da média de cada série, quer calculando o desvio padrão balanceado da média. Como se pode ver na coluna do desvio padrão individual das médias (quadros 1 a 3), êles quase não diferem entre si, e a sua substituição por um erro balanceado é plenamente justificada. Assim, para o grupo de mirtáceas de alta poliembrionia, como jambo e jambolão, o desvio padrão balanceado da média foi de $\pm 0,81$ e, para as espécies de média e baixa poliembrionia, foi de $\pm 0,72$.

Os resultados do teste de delta mostram que, para os jambos Escola e Nazaré, as diferenças das médias de poliembrionia entre os dois processos considerados são altamente significantes, bem maiores que o valor de delta de 1,96, para o nível de 5% de probabilidade. No jambolão Escola-1, as diferenças entre as médias de poliembrionia do processo direto e após germinação foram estatisticamente insignificantes nos anos de 1949 a 1950, e significantes, para o ano de 1951. Na planta Escola-2, da qual se dispunha de dados sòmente de dois anos, a diferença de poliembrionia foi insignificante em 1949 e significativa em 1950.

Nas espécies de média e baixa poliembrionia, como punhema Morato, 1948, punhema Escola, 1949, sabará Escola-1, 1948, e Escola-2, 1948, as diferenças entre as médias de poliembrionia, nos processos direto e após germinação, foram estatisticamente significantes, com exceção da última, sabará Escola-2, 1948, que foi insignificante.

Pode-se, por conseguinte, concluir que, para o jambo, sempre se conta com maior poliembrionia no processo direto e, talvez, por concorrência entre êles ou ainda por outras razões no processo da germinação, muitos embriões não chegam a se desenvolver. Para as demais espécies estudadas, como jambolão, punhema e sabará, a diferença entre os dois processos depende do ano, havendo ocasiões em que um ou outro processo dá maior número de embriões e, outras vêzes, êles se equívalem. Não se poderia deixar de mencionar o fato de punhema Escola ter dado, no ano de 1949, maior germinação de embriões na sementeira, do que no processo direto, diferença essa estatisticamente significante, quando, via de regra, se esperava o contrário.

5 - ASPECTOS QUALITATIVOS DA POLIEMBRIONIA

5.1 - ORIGEM DA POLIEMBRIONIA

Na literatura se encontra reduzida referência à origem da poliembrionia nas *Myrtaceae*, excetuando-se os trabalhos de Tiwary e Pijl. Êsses resumos, infelizmente, não foi possível ter à mão; tornaram-se conhecidos apenas através de outros autores, como Gustafsson (7) e Maheshawari (9).

Pijl, ao se referir ao jambo, informa que o saco embrionário é normal, contendo apenas cinco núcleos, faltando por completo as antípodas. Os embriões adventícios originam-se de células do nucelo nas proximidades da periferia do saco embrionário. Relata, ainda, que, provavelmente, em muitos casos o embrião sexual morre e, para o desenvolvimento dos embriões adventícios, é absolutamente indispensável a formação do endosperma, tecido êste em que obtém a sua alimentação.

Tendo iniciado pesquisas histológicas em jambo, com objetivo de elucidar êsses pontos, verificou-se até agora que, no saco embrionário, não se encontram as antípodas. Notou-se, ainda, que, em muitos casos, o embrião sexual morre logo após a fertilização.

Quanto à origem dos embriões adventícios, a situação é bem diferente daquela descrita por Pijl, na mesma espécie. No material em estudo, verificou-se que êsses embriões adventícios nascem da parede interna do integumento, como se fôsem pequenas emergências crescendo por dentro do nucelo e do saco embrionário. Pode-se ainda observar um caso em que dois embriões opostos, e, com os cotilédones começando a se tocar, se mostravam tal como seriam dispostos, futuramente, na semente.

Durante o estudo da embriogênese no jambolão constataram-se casos em que há um crescimento exagerado do nucelo invadindo o espaço do

saco embrionário e, muitas vezes, saindo fora, através da micrópila. Provavelmente, nesses casos, o embrião sexual nem chega a se formar, de modo que todos os embriões encontrados devem ser de origem adventícia. Essas observações são, contudo, preliminares.

A figura 1 ilustra vários embriões obtidos de jambo e sabará, espécies com alto e baixo número de embriões.

5.2 - COMPRIMENTO DOS COTILÉDONES

Durante a contagem direta de embriões nas sementes, verificou-se que os cotilédones são variáveis em tamanho, podendo ser iguais ou diferentes.

Nas espécies monoembriônicas, como cabeludinha, uvaia, pitanga, cereja do Rio Grande e jabuticaba branca, os cotilédones são bem desenvolvidos, e têm os comprimentos praticamente iguais. Os comprimentos médios dos cotilédones grandes, médios e pequenos são os seguintes: cabeludinha, 1,5 — 1,1 — 0,8 cm; uvaia 1,6 — 1,3 — 0,9 cm; pitanga, 0,8 — 0,6 cm; cereja do Rio Grande, 1,0 — 0,8 cm; jabuticaba branca, 1,5 — 1,2 cm. Nas três últimas espécies, encontraram-se somente dois grupos de cotilédones, o grande e o médio, ao passo que, nas duas primeiras espécies, além daqueles tamanhos, se encontrou mais o pequeno. Mesmo assim, os cotilédones chamados pequenos são relativamente grandes, se forem comparados com as espécies poliembrionicas, com exceção do jambo e do cambucá.

Nas espécies de baixa poliembrionia, os embriões grandes têm os cotilédones praticamente iguais, ao passo que os embriões médios, pequenos e muito pequenos podem ter os cotilédones iguais ou diferentes. Na figura 1-B, *a*, *c*, apresentam-se seis sementes de sabará; três delas, *B*, *a*, monoembriônicas; e os embriões dissecados, *B*, *b*. Nota-se que os cotilédones são de tamanhos iguais, ou melhor, os cotilédones de cada semente têm o mesmo comprimento. As outras três sementes, *B*, *c*, são de baixa poliembrionia; *B*, *d*, correspondem aos embriões dissecados. Nota-se que os embriões grandes têm os cotilédones iguais, enquanto que, nos médios e nos pequenos, os cotilédones são iguais ou diferentes.

Nas punhemas e nas jabuticabas (diversas variedades), o tamanho dos cotilédones varia desde grande até muito pequeno. Para a primeira e segunda espécie, tem-se, respectivamente, 1,1 — 0,9 — 0,5 — 0,3 cm e 1,1 — 0,8 — 0,5 — 0,2 cm, cujas diferenças de classes são de 0,2 e 0,3 cm. Na sabará, os tamanhos dos cotilédones são de 0,7 — 0,5 — 0,3 cm.

Nas sementes com poliembrionia média e alta, os embriões grandes, médios e pequenos podem ter os cotilédones iguais ou diferentes. Na figura 1-A, *a* é mostrada uma semente de jambo sem a casca, com seis embriões justapostos e os embriões dissecados *A*, *b* a *g*. Podem-se notar, tanto nos embriões grandes como nos médios e pequenos, os tamanhos diferentes dos cotilédones. Os cotilédones têm os seguintes comprimentos:

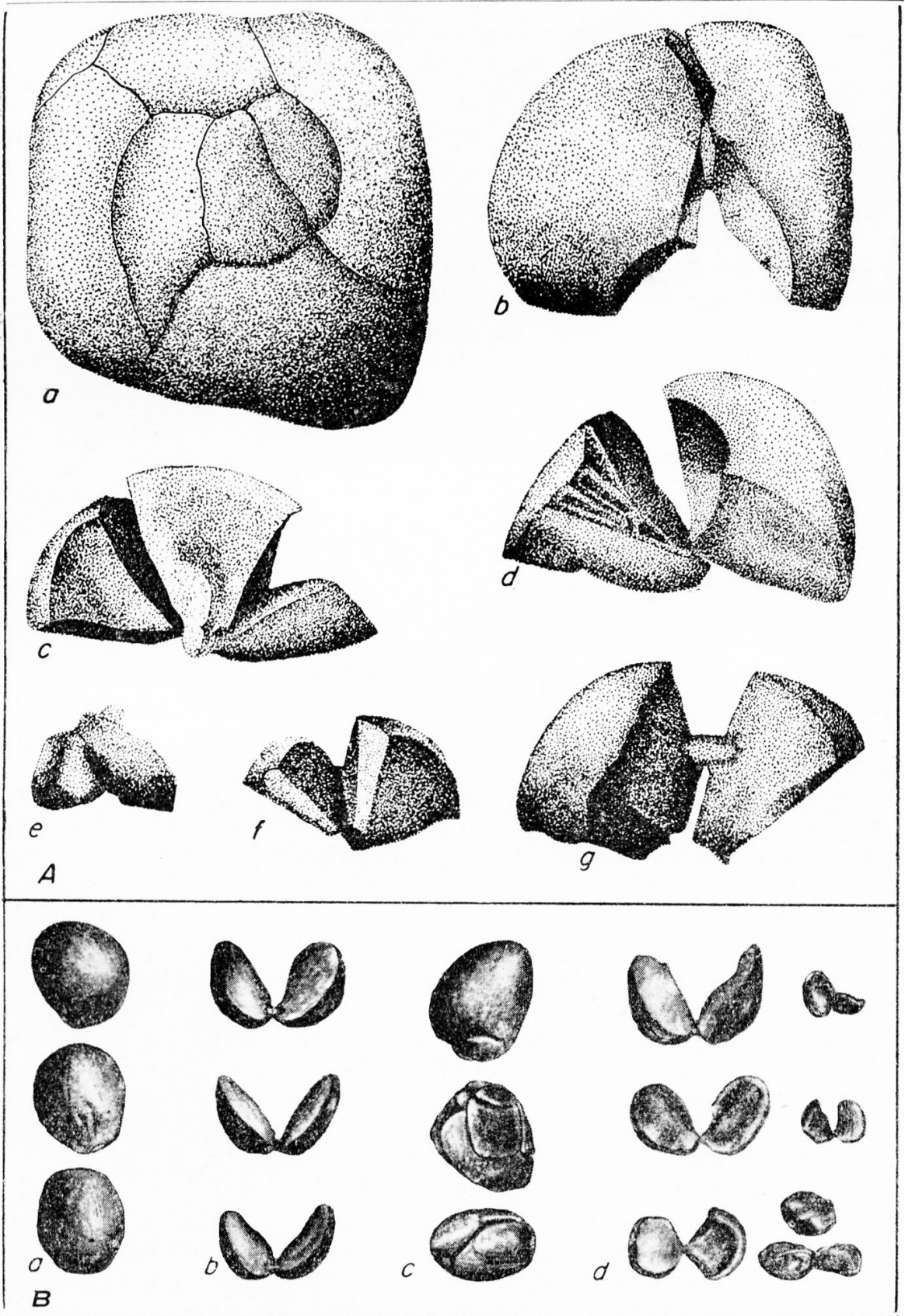


FIGURA 1.— Sementes sem a casca mostrando os embriões. *A* — Sementes de Jambo: *a* — com os embriões justapostos; *b* a *g* — embriões separados; *c* — embriões com três cotilédones. *B* — Sementes de Sabará: *a*) — sementes monoembriônicas; *b* — as mesmas mostrando os embriões com cotilédones iguais; *c* — sementes poliembriônicas; *d* — embriões dessas sementes com cotilédones iguais e de diferentes

1,6 — 1,3 — 0,9 — 0,5 cm. O embrião muito pequeno do jambo é relativamente grande, quando confrontado com o mesmo grupo, nas outras espécies de *Myrtaceae*.

O jambolão é outra espécie poliembriônica que apresenta quatro grupos de cotilédones: grandes, com 0,9 cm, médios, com 0,7 cm, pequenos, com 0,4 cm e, muito pequenos, com 0,2 cm de comprimento.

Na figura 2-A são apresentadas três plantinhas oriundas de uma semente de punhema Escola; aí é bem nítida a diferença de tamanho dos cotilédones.

Pode-se dizer, portanto, que, na semente de qualquer espécie de mirtácea com um único embrião, os cotilédones são iguais, ao passo que, nas espécies de mais de um embrião, os embriões grandes, médios, pequenos e muito pequenos podem ter os cotilédones iguais ou diferentes.

Nas espécies estudadas encontraram-se outras particularidades, como embriões com três cotilédones (fig. 1-A, c). Ainda no jambo, foram encontrados frequentemente embriões com 4 cotilédones.

5.3 - IDENTIFICAÇÃO DOS EMBRIÕES

A grande maioria das espécies estudadas apresenta certa dificuldade na identificação dos embriões, como jambo, jambolão, pitanga, cereja do Rio Grande, uvaia, etc. O jambo foi a espécie que exigiu maior cuidado, porque todos os embriões são ligados entre si. A figura 1 dá uma idéia da reunião dos embriões na semente. Para dissecá-los é preciso destacá-los com muito cuidado, de modo que não se quebrem os cotilédones; isto, porém, não acontece com os *Citrus*, segundo Moreira, Gurgel e Aruda (11), os quais mostraram que, pelo fato de os embriões estarem apenas justapostos, com a maior facilidade podem ser êles separados.

No jambo, encontraram-se embriões com três, quatro e cinco cotilédones. É comum encontrarem-se embriões com três cotilédones nessas espécies. Os embriões com quatro cotilédones deixam o operador na dúvida, sobre se se trata de um ou de dois embriões. O embrião com cinco cotilédones é fácil de ser reconhecido. Ainda se deve acrescentar mais um caso de um embrião com um cotilédone bem desenvolvido e outro muito pequeno, dando, à primeira vista, a impressão de se tratar de embrião com um cotilédone apenas.

Na contagem após germinação, o jambolão também oferece alguma dificuldade na identificação dos embriões, visto ser a semente envolvida por uma casca, o que dá a impressão de ser uma única semente. Se fôr retirada essa casca com cuidado, verifica-se, em pequena proporção, que se trata de uma, duas ou três sementes, separadas entre si por aquela casca. As sementes podem ser monoembriônicas ou poliembriônicas. De sorte que, para se evitarem dúvidas quanto à identificação dos embriões, devem ser elas semeadas sem a casca.

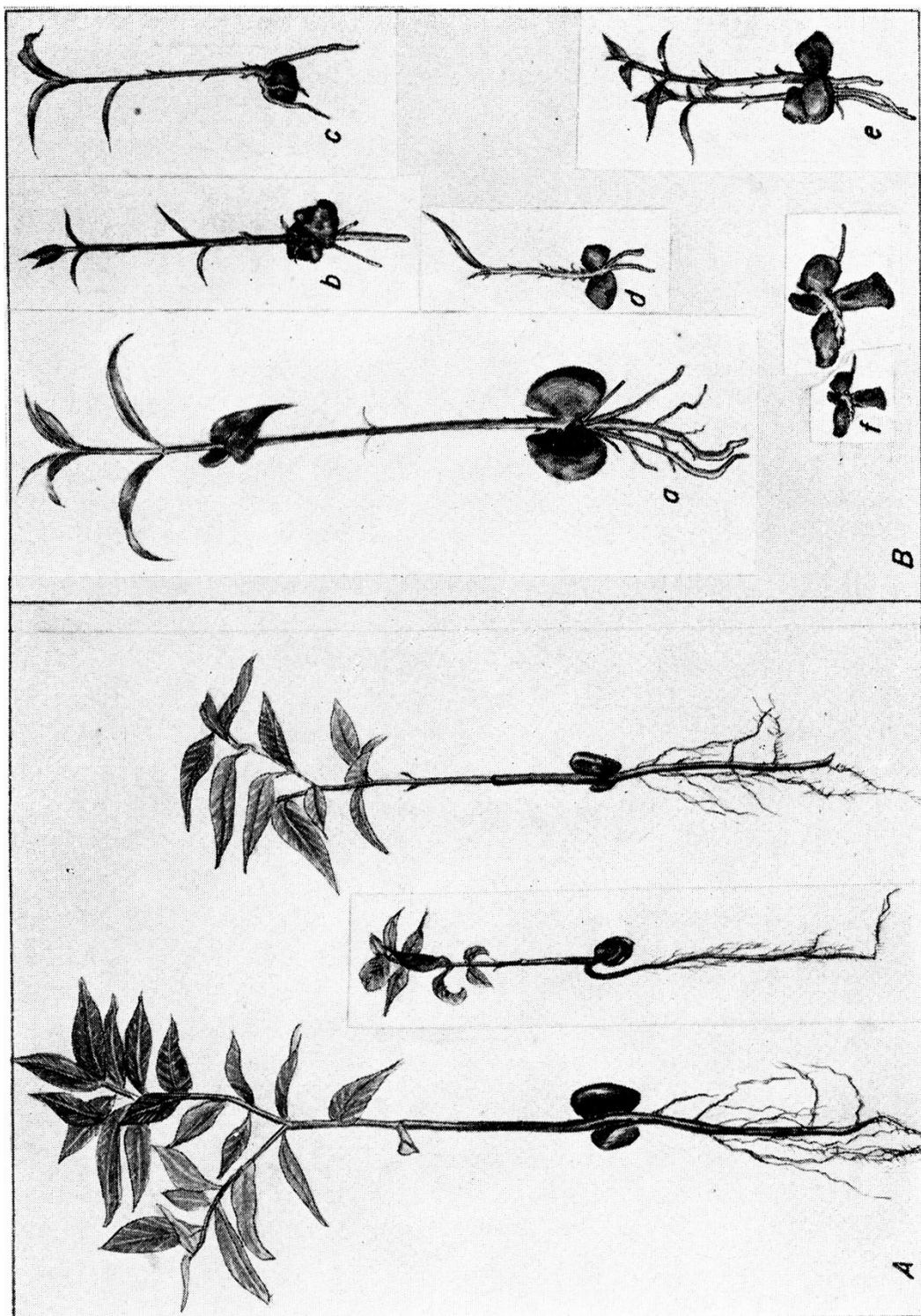


FIGURA 2.—Plantas provenientes de uma única semente. A — Punhema, embriões semeados em areia; B — Jambo, sete embriões semeados em meio nutritivo: a a d — plantas normais; e — planta com haste ramificada, proveniente de embrião com três cotilédones; f — embriões pequenos, pouco desenvolvidos.

5.4 - GERMINAÇÃO DOS EMBRIÕES DISSECADOS

Com a finalidade de estudar a capacidade de germinação dos embriões grandes, médios e pequenos, resolveu-se semear embriões provenientes de uma única semente, em um meio de cultura de ágar contendo os elementos da solução de Knopp.

Para êsse fim, deu-se preferência ao jambo, que é poliembriônico. Dissecaram-se os embriões de uma semente, em número de sete e, em seguida, foram desinfetados com uspulum, a 1,25⁰/₁₀₀, durante dez minutos. Fêz-se a sementeação em vasos Erlenmeyer contendo o meio de cultura.

Todos os embriões germinaram (fig. 2-B). Os dois embriões que só emitiram caulículo e radículas, possivelmente, poderiam continuar seu desenvolvimento se permanecessem no meio de cultura por mais tempo. Se a sementeação tivesse sido efetuada na terra, êsses dois embriões, dado seu pequeno tamanho, seriam talvez sacrificados pela concorrência dos demais. Conclui-se, portanto, que todos os embriões de jambo têm capacidade de germinar, desde que encontrem meio apropriado. A areia também se mostrou ótimo meio para germinação, não só para as sementes inteiras como para os embriões dissecados. Recomenda-se, portanto, seu uso para teste de germinação.

7 - RESUMO E CONCLUSÕES

a) Êste trabalho constitui mais uma contribuição para o plano de colaboração entre a Secção de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luís de Queiroz" e a Secção de Frutas Tropicais do Instituto Agrônomico de Campinas, relativo ao estudo detalhado da poliembriãoia e do melhoramento das mirtáceas frutíferas.

b) Ao estudar a poliembriãoia, verificou-se que a goiaba, araçá, pitanga, uvaia, cabeludinha, cereja do Rio Grande, guabiroba, pitomba e jabuticaba branca são monoembriônicas. A verificação da monoembriãoia foi feita pelo processo direto de contagem dos embriões na semente e também após germinação, sendo para muitas espécies repetida a verificação em dois ou mais anos consecutivos. Constatou-se, também, em quase tôdas as espécies monoembriônicas, uma ramificação do caulículo na região do colo, o que dava a impressão, na sementeira, de que elas eram poliembriônicas. Recomenda-se, por isso, o arrancamento das mudinhas ao se fazer a verificação da poliembriãoia na sementeira.

c) Na determinação da poliembriãoia foram utilizados dois processos: o da contagem direta de embriões na semente e o da contagem de embriões após germinação. Os resultados de ambos os processos foram expressos de dois modos diferentes: média do número total de embriões por semente e percentagem dos embriões excedentes, ou, mais simplesmente, percentagem de poliembriãoia. Os dois processos foram aplicados para seis espécies de quinze procedências diferentes e durante um a três anos. Entre as espécies de alta poliembriãoia (mais de 70%), encon-

tram-se o jambo e o jambolão; nas de média poliembrionia (entre 40% e 70%), a punhema, sabará e jabuticabas coroada e rajada e, nas de baixa poliembrionia (menor do que 40%), jabuticabas pintada e bronzeada e o cambucá. É interessante frisar que os valores da poliembrionia das mirtáceas, obtidos pelos processos diretos, na semente, e após germinação, são praticamente iguais, com duas exceções. Para o jambo, o processo após germinação deu resultados bem inferiores aos determinados diretamente na semente, como, aliás, acontece em *Citrus*, e, para a punhema Escola, planta n.º 2, verificou-se uma situação contrária à do jambo.

d) Foi demonstrado que a poliembrionia, determinada pelos dois processos, segue a distribuição de Poisson. Nos quadros 1 a 3 são dados apenas os somatórios do teste de χ^2 . Na variabilidade da poliembrionia, discutiram-se os seguintes casos, baseando-se as interpretações na aplicação do teste de delta: 1) **Variação** entre colheitas de uma mesma planta em diferentes anos. — Foi mostrado que há variação entre as colheitas da mesma planta, em diferentes anos, muitas vezes estatisticamente significantes. Para os quatro tipos de jambo estudados, o grau de poliembrionia foi sempre maior em 1950 do que em 1949; para o jambolão parece haver justamente o contrário e, para as demais espécies, as variações de ano para ano são ao acaso. Discutiu-se, em detalhe, a comparação dos testes de delta e do χ^2 da distribuição de Poisson, mostrando-se a sua perfeita concordância; 2) **Variação** entre os processos direto e após germinação, no mesmo ano. — Analisando os resultados das contagens para algumas espécies em um ou mais anos pelos dois processos, pôde-se mostrar que, para o jambo, se contam mais embriões no processo direto do que após germinação; para as demais espécies, como jambolão, punhema e sabará, a diferença entre o grau de poliembrionia determinado pelos dois processos depende do ano, havendo ocasiões em que um processo é beneficiado, outras vezes, é o outro, e, finalmente, também há casos em que ambos os processos se equivalem.

e) Os estudos embriológicos efetuados em jambo e jambolão mostraram que os embriões crescem da parede interna do integumento para dentro do saco embrionário. Nota-se, também, em alguns casos, que o tecido nucelar cresce em tôda a extensão, invade o espaço do saco embrionário e aparentemente mata, desta forma, o embrião sexual. Discutiu-se a variação do tamanho dos embriões e cotilédones em várias espécies. Os cotilédones, de acôrdo com o seu comprimento, foram classificados em quatro grupos: grandes, médios, pequenos e muito pequenos. Assim, no cambucá, foram encontrados os maiores cotilédones, até de 2,3 cm de comprimento, e os menores foram encontrados nas jabuticabas, até com 2 mm. Mostrou-se também que, de um modo geral, os embriões grandes e médios têm cotilédones aproximadamente iguais, e que nos pequenos e muito pequenos é comum se encontrar bastante variação no comprimento dos cotilédones. Nas espécies monoembriônicas, com embriões grandes ou médios, pode-se também encontrar diferenças nos cotilédones. Menciona-se a dificuldade em identificar os embriões de algumas espécies poliembrionicas, como jambo, jambolão, e monoembriônicas, como pitanga,

cereja do Rio Grande, uvaia, etc. Essa dificuldade é devida ao fato de serem os embriões, às vezes, ligados entre si, ou, então, como no caso das monoembriônicas, em virtude de serem os cotilédones colados. Foram dados exemplos de casos anormais do número de cotilédones. Assim, em jambo, encontraram-se embriões com três e quatro cotilédones. Neste último exemplo, é preciso precaução, para não confundir este último caso com aquele de dois embriões colados; somente o corte histológico na raiz pode resolver o problema. Finalmente, foi relatado o ótimo desenvolvimento de embriões de jambo dissecados e postos a germinar em meio de cultura. Mostrou-se também que se pode semeá-los na areia, obtendo-se resultados satisfatórios.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

a) The present paper is a joint publication of the Dept. of Genetics, *Escola Superior de Agricultura "Luís de Queiroz"*, *Universidade de São Paulo* and the *Secção de Citricultura e Frutas Tropicais do Instituto Agronômico de Campinas*, and deals with the study of polyembryony in the fruit-plants of the *Myrtaceae*.

b) The following species are monoembryonics: *goiaba*, *araçá*, *pitanga*, *uvaia*, *cabeludinha*, *cereja do Rio Grande*, *guabiroba*, *pitomba* and *jabuticaba branca*. Sometimes a branching of the main stem was found, which gave, at first glance, an impression of polyembryony.

c) The real polyembryony was determined by two processes: a) direct counting of the embryos in the mature seed; b) counting after germination in flats or seed-beds. Generally speaking, the second gave lower results than the first (tables 1 to 3). A comparison of both processes of determination of polyembryony is given. Three grades were distinguished: high polyembryony (1 to 11 embryos per seed or more than 70% of polyembryonic seeds), *jambo* and *jambolão*; medium polyembryony (1 to 5 embryos, between 70 and 40% of polyembryonic seeds) several varieties of *jabuticaba* and *cambucá*; low polyembryony (1 to 4 embryos, less than 40% of polyembryonic seeds) several varieties of *jabuticaba*, *punhema* and *sabará*.

d) It was proved by the chi-square test that the distribution of embryo numbers fits the Poisson's series (tables 1 and 2). The variability of the polyembryony for the following cases is discussed: a) between years, and within plants. In *jambo* and *jambolão* (tables 1 to 3), it was shown by the δ and χ^2 test that the differences of the averages of polyembryony in 1949 and 1950 was statistically significant; in *jambo*, the mean was greater in 1950 than 1949 and in *jambolão* just the contrary was found; b) in *jambo*, the direct process is better than counting after germination; for others, such as *jambolão*, *punhema*, *sabará* and *jabuticaba*, the variability between years is greater than between processes. For one variety of *punhema* (*Escola* plant n.º 2) the polyembryony was higher after germination than when determined by the direct process.

e) The preliminary results on the embryology of *Myrtaceae* are given, and it was shown for *jambo* and *jambolão* that there are probably no sexual embryos and that the super-numerary embryos arise from the internal wall of the integuments. The size of the cotyledons for the species above enumerated in the second item is discussed. The cotyledons were classified in 4 categories: big, medium, small and very small. The biggest cotyledons were found in *cambucá* (nearly 2.3 cm) and the smallest, in *jabuticaba* (about 2 mm). Sometimes it is difficult to identify the embryos, because they are joined. Finally, it is shown that the small embryos germinate very well in Knopp's culture medium; sand-beds give good results for the big and medium embryos.

LITERATURA CITADA

1. **Bailey, L. H.** *Em* Manual of cultivated plants, pág. 730-731, reveside ed., The Macmillan Company. New York. 1949.
2. **Brieger, F. G.** Limites unilaterais e bilaterais na análise estatística. *Bragantia* 6: 479-545. 1946.
3. **Fisher, R. A.** *Em* Statistical methods for research workers, pág. 354, 11.^a ed., Oliver and Boyd, Edinburgh. 1950.
4. **Frost, H. B.** Polyembryony, heterozygosis and chimeras in *Citrus*. *Hilgardia* 1: 365-402. 1926.
5. **Frost, H. B.** *Em* Citrus Industry. Univ. Cal. Press, Berkeley e Los Angeles. U. S. A. 1: 767-913. 1943.
6. **Gurgel, J. T. A.** Análise estatística da distribuição de Poisson. Anais da E. S. A. "Luís de Queiroz" de Piracicaba. 2: 300-319. 1945.
7. **Gustafsson, A.** Apromixis in higher plants. I. The mechanism of apomixis. Lunds Univ. Arsskr. N. F. Avd. II, 42: 1-67. 1946.
8. **Hoehne, F. C.** Frutas indígenas. Publ. do Inst. de Bot. do Est. de S. Paulo, série D, pág. 54-60. 1944.
9. **Maheshwari, P.** *Em* An introduction to the embryology of angiosperms, pág. 453, 1.^a ed., McGraw-Hill Book Company Inc., New York, U. S. A. 1950.
10. **Molina, E. C.** *Em* Poisson's exponential binomial limit, pág. 47, 1.^a ed., D. Van Nostrand Company. New York. 1945.
11. **Moreira, S. e outros.** Poliembryonia em *Citrus*. *Bragantia* 7: 69-106, est. 3-6. 1947.
12. **Snedecor, G. W.** *Em* Statistical methods, pág. 422, 4.^a ed., The Iowa State College Press, Ames. Iowa. U. S. A. 1945.
13. **Torres, J. P.** Polyembryony in citrus and study of hybrid seedlings. *Philip. Jour. Agr.* 7: 37-58. 1936.
14. **Traub, H. P.** Polyembryony in *Myrciaria cauliflora*. *Bot. Gaz.* 101: 233. 1939.