

BRAGANTIA

Boletim Técnico da Divisão de Experimentação e Pesquisas
INSTITUTO AGRÔNOMICO

Vol. 10

Campinas, Fevereiro de 1950

N.º 2

OBSERVAÇÕES CITOLÓGICAS EM *ALOË* SP. (1)

CÂNDIDA H. T. MENDES

Engenheiro agrônomo, Secção de Citologia, Instituto Agrônômico de Campinas

1-INTRODUÇÃO

As observações citológicas sôbre o gênero *Aloë* têm sido relacionadas com a morfologia dos cromossômios, a ocorrência e a localização dos satélites e a sua correspondência com os nucléolos presentes. Entre os autores que têm contribuído para o conhecimento dessas particularidades, podem ser citados Ferguson (2), Fernandes (3), Rezende (7), Satô (8) e Taylor (10), cujos trabalhos se referem a cêrca de 90 espécies.

Ao que parece, observações detalhadas sôbre a microsporogênese em espécies de *Aloë* ainda não foram realizadas.

Neste trabalho são apresentadas as observações feitas sôbre a microsporogênese e a gametogênese de uma planta do gênero *Aloë* existente no Instituto Agrônômico de Campinas (est. 1), e sôbre a morfologia dos seus cromossômios em mitose e em meiose.

Tornou-se necessário um estudo botânico da planta em questão (2).

O número de espécies válidas é muito elevado. Assim é que o Índice Kewenses, até 1940, considera o gênero *Aloë* formado de 427 espécies, o que dá bem idéia da dificuldade dos estudos do gênero.

A única monografia do gênero é a de Berger (1), que descreve apenas 178 espécies. Com base nesta monografia, foi observado que alguns dos caraterísticos da planta em estudo são próprios de *Aloë macracantha* Baker e outros de *A. saponaria* Haw. Possivelmente, trata-se de um híbrido entre essas duas espécies.

2-MICROSPOROGÊNESE E GAMETOGÊNESE

2.1-MATERIAL E MÉTODO

O estudo da microsporogênese foi feito em material colorido pelo processo comum do carmim acético. Dos botões colhidos foram retiradas as pétalas para uma melhor penetração do fixador nas anteras. O fixador usado foi o líquido de Carnoy (três partes de álcool absoluto e uma de ácido acético glacial).

Para o estudo da gametogênese foram feitas sementeações de pólen em meio artificial—uma solução de ágar a 0,5% e 10% de sacarose.

(1) Trabalho apresentado na Primeira Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada em Campinas, em outubro de 1949.

(2) O estudo botânico da planta foi feito pelo engenheiro agrônomo D. M. Dedeca, ao qual agradecemos a colaboração.

2.2-PROCESSO DA MICROSPOROGÊNESE

Os botões cujas anteras apresentam as células-mães de pólen em estado de divisão, variam entre 4,5 e 8,5 mm de comprimento. Dentro dos botões há anteras com filêtes de dois tamanhos — longos e curtos. Nota-se que tanto nas anteras de filête longo como nas de filête curto, o processo da microsporogênese se inicia ao mesmo tempo. Em ambas são encontradas células-mães de pólen no mesmo estado de enovelamento intenso, que caracteriza o início da meiose. Entretanto, durante tôdas as demais fases da meiose, há uma pequena diferença entre elas, sendo que as anteras altas se adiantam com relação às baixas. As seguintes observações puderam ser realizadas :

FASES DA MEIOSE EM ANTERAS DE
FILÊTE LONGO

zigotene
diplotene
diplotene e anáfase I
metáfase I a telófase II
telófase I a telófase II
tétrades de microsporos

FASES CORRESPONDENTES DA MEIOSE
EM ANTERAS DE FILÊTE CURTO

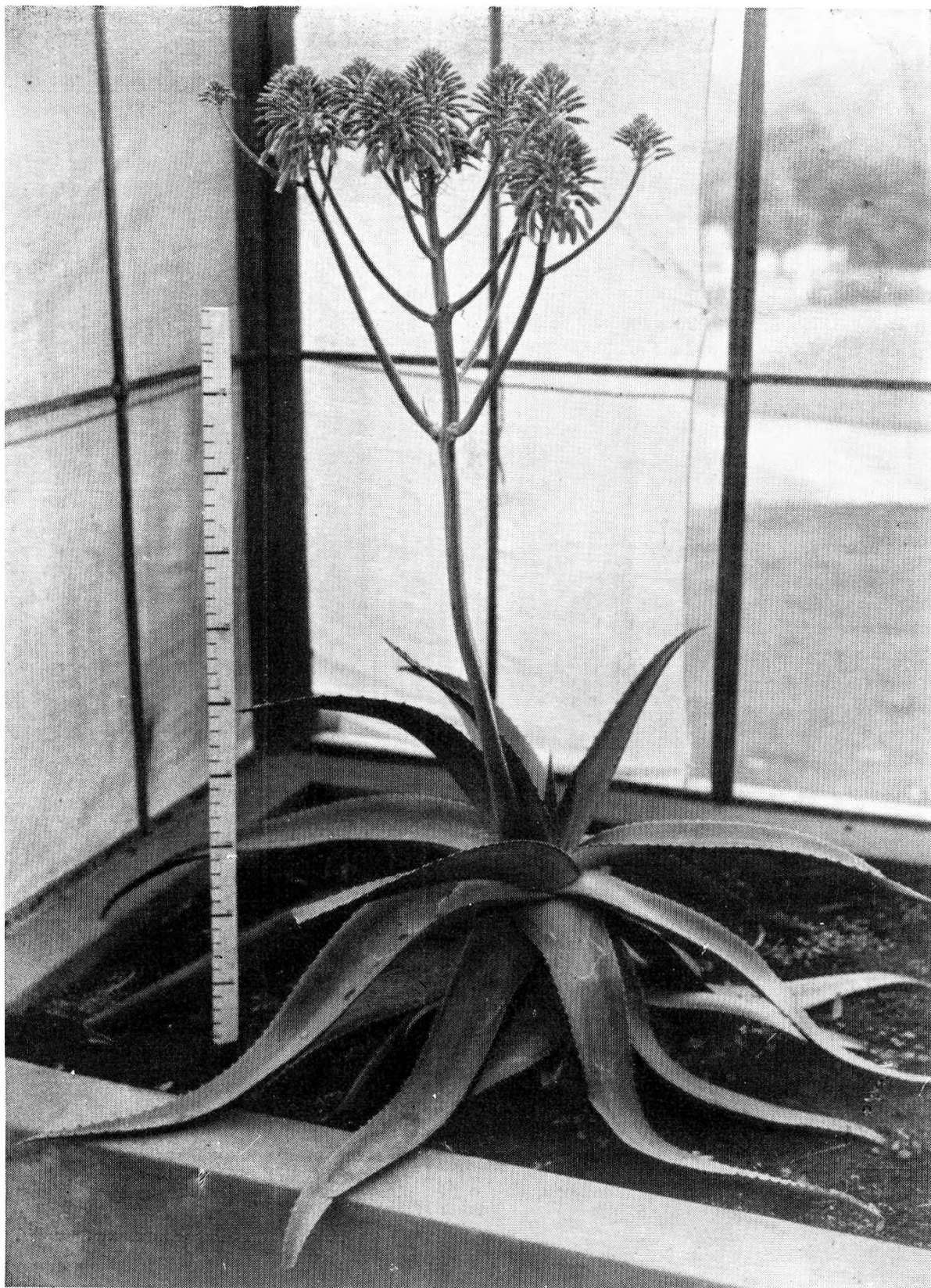
leptotene
início de prófase
início de prófase a diplotene
plena prófase (diplotene)
anáfase I a anáfase II
tétrades de microsporos

Depois que as células-mães atingem o estado final de microsporos, as possíveis diferenças não foram analisadas.

Nas células-mães em que se vai iniciar o processo da meiose, o núcleo é situado excêntricamente e apresenta os cromossômios intensamente enovelados. Não foi possível observar membrana nuclear.

À medida que a prófase se desenvolve, os filamentos se vão separando uns dos outros, permitindo observar nitidamente a sua duplicidade, desde o estado de leptotene (fig. 1-A). No estado de zigotene (fig. 1-B), o pareamento só pode ser observado em regiões onde as extremidades dos filamentos se destacam do enovelamento. O estado de paquitene parece ser muito rápido pois não foi possível encontrar células neste estado. No estado de diplotene (fig. 1-C), que se segue, os cromossômios são bastante espessos e curtos, podendo-se notar as regiões em que há quiasmas. Há células que, neste estado, já permitem a contagem de quatro cromossômios longos e três curtos. Em diaquinese (fig. 1-D) é acentuado o encurtamento dos pares de cromossômios, que se apresentam perfeitamente individualizados. Ao longo do corpo dos cromossômios, notam-se expansões que terminam por fios tênues, como se fôsem restos de anastomoses. Em metáfase I (fig. 1-E), os sete cromossômios atingem um máximo de encurtamento e se colorem muito intensamente. Apresentam-se êles como sete corpos espessos e compactos no centro da célula. Em vistas laterais de células neste estado (fig. 1-F), pode-se determinar o número e a posição dos quiasmas em cada cromossômio.

Conforme o número e a localização dos quiasmas, os cromossômios longos tomam formas características, formas essas que permitem estudar o número de quiasmas de cada um dêles (fig. 1-I). Êsses pares de cromossômios, identificados por letras, apresentam os seguintes característicos: a)



Exemplar de *Aloë* sp estudado no presente trabalho.



FIGURA 1.—Fases da microsporogênese em célula-mãe de pólen, em *Aloë* sp. A — Leptotene (x800). B — Zigotene (x590). C — Diplotene (x590). D — Diaquinese. E — Metáfase I, vista polar (x800). F — Metáfase I, vista lateral (x590). G — Anáfase I (x800). H — Metáfase II (x800). I — Quiasmas nos cromossômos em metáfase I; a — cromossômio com três quiasmas; b e c — cromossômios com dois quiasmas; d — cromossômio com um quiasma. J — Telófase II (x800).

um par de cromossômios — *a*, apresenta três quiasmas; b) um par de cromossômios — *b*, com dois quiasmas submedianos e que, pela posição destes, é frequentemente encontrado sob os aspectos b_1 , b_2 , b_3 ; c) um par de cromossômios — *c*, que também apresenta dois quiasmas, sendo um submediano e um subterminal; este cromossômio se apresenta sob os dois aspectos c_1 e c_2 ; d) um par de cromossômios — *d*, com um quiasma subterminal e que, por essa razão, se apresenta sempre em estado de separação mais adiantado em relação aos pares *a*, *b* e *c*.

A separação anafásica é normal; mas, quando os cromossômios atingem os pólos (fig. 1-*G*), não é possível distinguir os cromossômios curtos, sendo visível apenas uma parte dos cromossômios longos.

A segunda divisão também é normal; os cromossômios passam rapidamente pela metáfase II (fig. 1-*H*) e se separam em quatro grupos (fig. 1-*J*) com sete cromossômios cada um, que vão constituir os núcleos dos microsporos. Estes se separam simultaneamente, constituindo os grãos de pólen, nos quais o núcleo, excêntrico, é relativamente grande e dotado de uma membrana bem visível.

2.3-PROCESSO DA GAMETOGÊNESE

O núcleo do grão de pólen sofre uma mitose somática, cuja prófase se caracteriza por um enovelamento intenso dos cromossômios. Estes apresentam uma diferenciação em regiões heterocromáticas e eucromáticas, e uma duplicidade bem visível (fig. 2-*A*). Notam-se, às vezes, dois nucléolos e, outras vezes, apenas um.

As placas metafásicas mostram, com muita nitidez, os sete cromossômios haplóides, sendo quatro longos e três curtos (fig. 2-*B*). Observa-se, neste estado, com relativa facilidade, um satélite distal num cromossômio longo e um satélite proximal num cromossômio curto. Quando ainda em metáfase, os cromossômios do grão de pólen se separam longitudinalmente nas suas metades, que se afastam numa anáfase e telófase normais (fig. 2-*C* e *D*), dando os núcleos reprodutivo e vegetativo.

Estes dois núcleos se diferenciam logo em seguida; o núcleo reprodutivo é pequeno, colore-se intensamente, e tem, no início, a forma esférica (fig. 2-*E*); toma, a seguir, a forma lenticular, conservando a mesma intensa afinidade pelo corante. O núcleo vegetativo é bem maior do que o reprodutivo e se colore muito mal, sendo, por isso, mais difícil de ser visto através da exina dos grãos de pólen. Quando, entretanto, esta exina se rompe e liberta o citoplasma, é possível observar que o núcleo vegetativo apresenta um ou dois nucléolos, e que sua forma aos poucos se vai alterando, da forma circular para uma forma irregular (fig. 2-*E*).

Um fato interessante foi notado: logo depois que o núcleo reprodutivo toma a forma lenticular, os dois núcleos se apresentam sempre juntos. Em todos os grãos de pólen se observa esta associação, até o momento em que se inicia a germinação. Esta associação dos núcleos reprodutivo e vegetativo foi observada em três outras plantas do gênero *Aloë*, de espécies não determinadas, mas diferentes da planta em estudo.

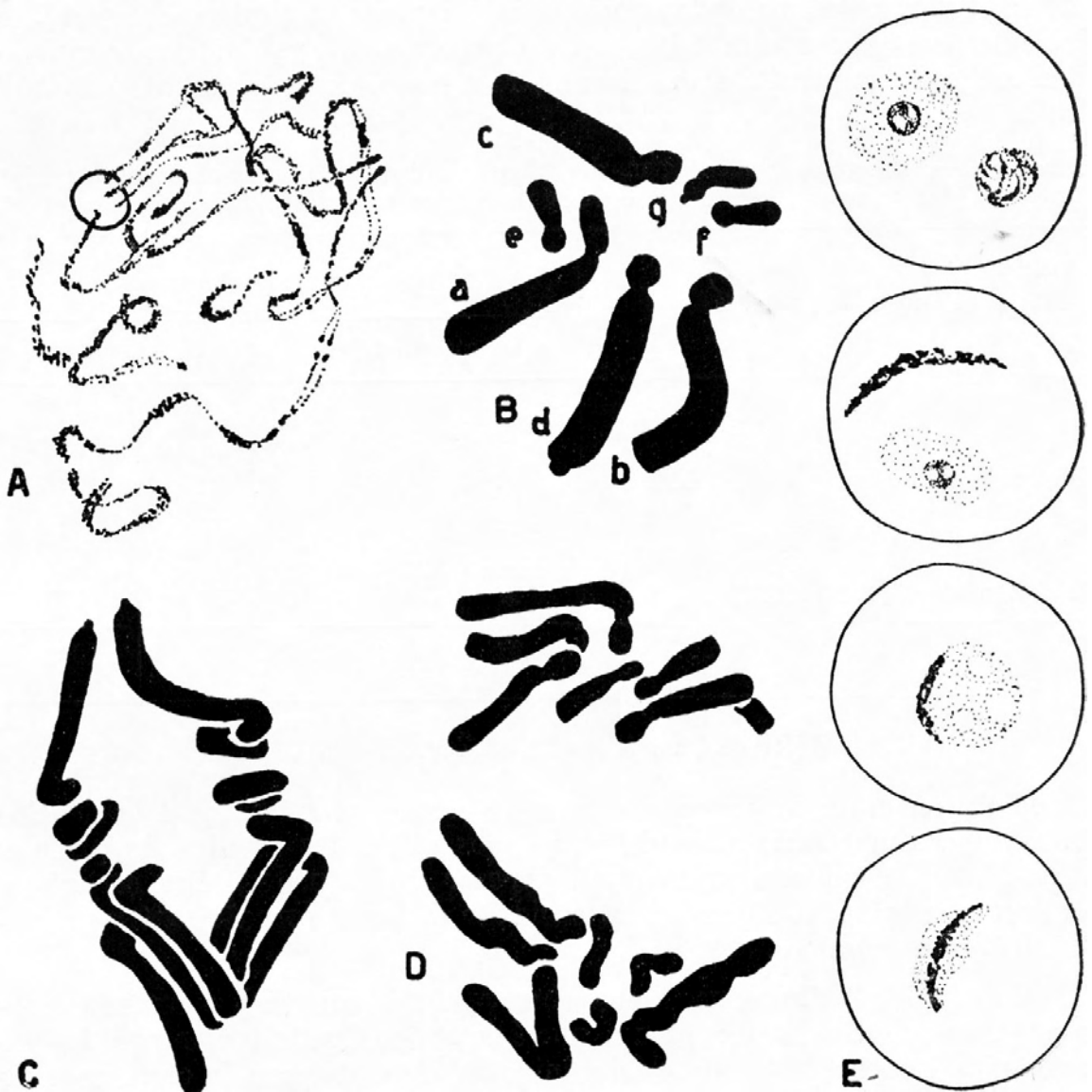


FIGURA 2.-Mitose em grão de pólen de *Aloë* sp. A — Prófase (x1182). B — Metáfase (x1609), a, b e c — cromossômios longos sem satélites; d — cromossômio longo com satélite; e, f e g — cromossômios curtos. C — Anáfase (x1609). D — Telófase (x1609). E — Núcleos do grão de pólen, em diferentes fases de associação.

A divisão do núcleo reprodutivo se dá dentro do tubo polínico; nas condições em que foram feitas as atuais observações, ela começa a ser notada mais ou menos 10 horas após a semeadura.

A germinação do pólen é normal e se inicia logo, tendo sido observada a formação de tubos polínicos 20 minutos após ter sido semeado. Os tubos polínicos são normais e longos, e para eles passam os dois núcleos. O núcleo vegetativo passa em primeiro lugar, ficando o reprodutivo no grão de pólen. Há casos em que passam os dois juntos. Durante o processo de crescimento do tubo polínico, os núcleos também caminham dentro dele. Pode-se encontrar, em lâminas examinadas quatro e sete horas após terem sido semeadas, tubos polínicos onde o núcleo vegetativo está à frente do núcleo repro-

duto, tubos polínicos onde ocorre o caso inverso e, ainda, tubos onde os dois núcleos se encontram lado a lado. Cumpre notar, porém, que o primeiro caso foi mais frequente, como demonstram os números constantes do quadro 1.

QUADRO 1.—Número e percentagem de tubos polínicos em que se observou a posição relativa dos núcleos reprodutivo e vegetativo, quatro e sete horas após a sementeação

Posição dos núcleos	Tubos polínicos observados			
	após quatro horas		após sete horas	
	<i>número</i>	<i>%</i>	<i>número</i>	<i>%</i>
Núcleos reprodutivos à frente	24	24,5	21	24,7
Núcleos vegetativos à frente	47	47,9	36	42,3
Os dois núcleos juntos.....	27	27,6	28	33,0
Total	98	100,0	85	100,0

2.4-OBSERVAÇÃO DOS NUCLÉOLOS EM MEIOSE

É de bastante interêsse o estudo referente ao número de nucléolos em meiose. Em células-mães de pólen, nos diferentes estados da prófase, os nucléolos se colorem muito mal. Apesar disso, podem êles ser vistos em certas células, conforme a intensidade de sua coloração, entre os filamentos cromossômicos.

No estado de diplotene, a sua observação é mais fácil e foram encontrados os seguintes casos: a) um nucléolo único ligado a um par de cromossômios longos; b) um nucléolo único ligado a um par de cromossômios curtos; c) um nucléolo único, ligado a um membro do par de cromossômios curtos; d) um nucléolo único ligado a um par de cromossômios longos e a um par de cromossômios curtos; e) dois nucléolos pequenos e iguais ligados a uma extremidade livre de cromossômio, do qual só essa parte era visível.

Esta variação, provavelmente, deve ser devida à fusão dos nucléolos nas células em meiose, o que torna difícil a determinação do seu número.

3-OBSERVAÇÕES REALIZADAS EM TECIDO SOMÁTICO

3.1-MATERIAL E MÉTODO

A verificação do número somático de cromossômios foi feita em mitose de tecido de anteras e de raízes. A morfologia dos cromossômios foi melhor estudada nos grãos de pólen, que apresentam ótimas placas metafásicas.

O processo de coloração foi o do carmim acético comum, usando-se, para fixador, a mistura de álcool absoluto e ácido acético glacial, na pro-

porção de 3:1, ou conforme orientação de Whitaker (12), na proporção de 2:1. Outros processos, como o de Warmke (11), e o da hematoxilina para raízes, não deram bons resultados.

Para a verificação do número de nucléolos em células somáticas, as raízes foram colhidas e postas imediatamente em uma solução contendo:

Ácido acético	2,5 cm ³
CrO ₃	2,5 cm ³
Ni(OH) ₂	leve excesso
Água destilada	100 cm ³

Este fixador, usado por Zirkle (13) para raízes de milho, é por êle aconselhado como um dos melhores fixadores para nucléolos em tecido somático.

Depois de fixadas durante 12 horas, pelo menos, as raízes foram submetidas à coloração com carmim acético, pelo processo de esmagamento, e com a hematoxilina, pelo processo de cortes em parafina. Em ambos os casos foram obtidas ótimas lâminas.

A figura 3, A e B, representa placas metafásicas em tecido somático de raízes, mostrando os satélites dos cromossômios longos. O complemento cromossômico não está completo em nenhuma delas. A figura 3, C, representa o complemento cromossômico em células somáticas de antera.

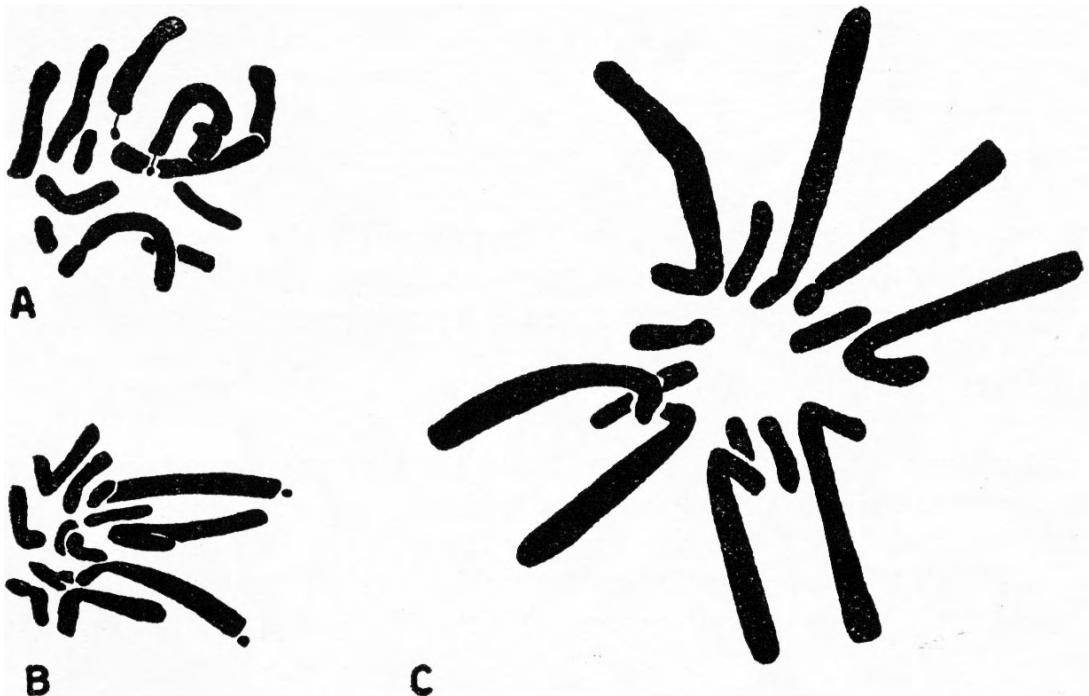


FIGURA 3.-Complemento diplóide de cromossômios em *Aloeë* sp. A e B — Metáfase em ponta de raiz (x1609). C — Metáfase em célula somática de antera (x1609).

3.2-NÚMERO E MORFOLOGIA DOS CROMOSSÔMIOS. SATÉLITES

Foi observado o número de 14 cromossômios em células somáticas de raízes e de anteras (fig. 3-A, B e C). Em metáfase somática de grãos de pólen, observou-se, como ficou dito atrás, o número haplóide de 7 cromossômios.

Todos os cromossômios são do tipo assimétrico, isto é, têm os braços de comprimentos desiguais.

Os quatro cromossômios longos diferem pouco no comprimento total, mas se distinguem pela localização da constrição primária; dessas localizações diferentes resultam os seguintes tipos de cromossômios: a) um cromossômio com o braço curto mais ou menos igual a um terço do comprimento do braço longo, cromossômio *a* (fig. 2-B); b) dois cromossômios em que o braço curto é menor do que no cromossômio anterior; são difíceis de distinguir um do outro, cromossômios *b* e *c* (fig. 2-B); c) um cromossômio cujo braço curto é muito pequeno, em consequência de ser a constrição quase terminal, cromossômio *d* (fig. 2-B); neste cromossômio foi verificada a existência de um pequeno satélite no braço longo.

Os cromossômios curtos têm também a constrição primária em posição subterminal. Não foi possível diferenciá-los, como no caso dos cromossômios longos. Um deles traz um pequeno satélite no braço curto (fig. 2-B).

O estudo dos satélites foi feito tanto em células somáticas de raízes como em metáfases e anáfases de grãos de pólen.

Quanto aos cromossômios longos, foi possível observar, em metáfases de raízes, que dois deles trazem satélites (fig. 3-A e B). Fazendo-se uma contagem em grãos de pólen, onde os cromossômios longos eram bem distintos, foi possível comprovar este fato. De 140 grãos nestas condições, 124 permitiram ver o satélite; o número de grãos de pólen onde não foi possível ver o satélite do cromossômio longo é muito pequeno e pode mesmo ser desprezado, quando se levam em conta o pequeno tamanho do satélite e também certas posições do cromossômio, que não permitem a sua visibilidade. O satélite do cromossômio curto só foi visível em grãos de pólen, e uma contagem semelhante revelou que, em cerca de 50% dos grãos de pólen, um cromossômio curto traz satélite e, noutros tantos, este é ausente. De 99 grãos examinados, apenas 59 mostraram o cromossômio curto com satélite.

3.3-OBSERVAÇÃO DO NÚMERO DE NUCLÉOLOS EM TECIDO SOMÁTICO

Em células somáticas de raízes, tanto em lâminas coloridas pelo carmin acético, como em cortes coloridos pela hematoxilina, verificou-se que de 265 núcleos profásicos examinados, 55 (20,8%) apresentavam um só nucléolo, 130 (49,1%) apresentavam 2 nucléolos e 80 (30,2%) apresentavam três nucléolos. Não se encontrou nenhuma célula com quatro ou mais nucléolos.

Na verdade, foi examinado um número muito mais elevado de núcleos, e nenhum foi encontrado que apresentasse *mais de três* nucléolos.

3.4-RELAÇÃO ENTRE O NÚMERO DE SATÉLITES E O DE NUCLÉOLOS

Pelo que foi descrito em capítulos anteriores, sabe-se que a planta em estudo apresenta células somáticas com um, dois e três nucléolos. As células meióticas não permitiram conclusões, pelo fato de ser muito comum a fusão dos nucléolos.

Também em células somáticas foi observado que há três cromossômios com satélite.

A observação do número de satélites, mais fácil do que a do número de nucléolos, vem confirmar para esta os dados encontrados, pois se sabe que o número e a localização dos nucléolos num complemento cromossômico dependem do número e localização do satélite nos cromossômios (Sharp, 9).

4-DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

As observações sobre a planta do gênero *Aloë*, estudada neste trabalho, permitiram obter várias conclusões de interesse.

O número haplóide de cromossômios é 7, sendo quatro cromossômios longos e três curtos.

A microsporogênese é perfeitamente normal, dando no fim quatro microsporos que se libertam da tétrade e se vão constituir em grãos de pólen. Os cromossômios meióticos apresentam, desde o início da prófase, uma duplicidade muito nítida; entretanto, o enovelamento é muito intenso e não permite que se observe o filamento ao longo de todo o seu comprimento. O estudo de quiasmas só pode ser feito para os cromossômios longos e em vistas laterais de metáfase I. Há um cromossômio com 3 quiasmas, dois com 2 quiasmas e um cromossômio com 1 quiasma.

A separação dos quatro microsporos formados é simultânea.

Os grãos de pólen são arredondados. O seu núcleo se divide, dando o núcleo vegetativo e o reprodutivo.

Conforme as observações feitas, os dois núcleos do grão de pólen se encontram num mesmo citoplasma. Entretanto, segundo Maheshwari (5), da divisão do núcleo do grão de pólen resultam sempre duas células, pois o núcleo reprodutivo possui um citoplasma à sua volta. O fato de não se observar este citoplasma, no material em estudo, deve ser, segundo o que diz o mesmo autor, resultado de técnica imprópria. Também não foi possível observar, como ele afirma, que a célula reprodutiva (neste caso, o núcleo reprodutivo) se localiza no lado interno dos grãos de pólen (considerando o conjunto de microsporos recém-formados), pois, quando se dá a divisão, os microsporos já são grãos de pólen independentes, que se soltam durante o preparo das lâminas.

O fato mais importante a ser notado é a constante associação do núcleo reprodutivo e do vegetativo, que se inicia logo que o núcleo reprodutivo adquire a forma lenticular, e termina quando os grãos de pólen iniciam a germinação. Num trabalho sobre os núcleos dos grãos de pólen de Angiospermas, cujo material utilizado foi o gênero *Haworthia*, Pinto-Lopes (6) apresenta uma figura que representa, aproximadamente, a situação encontrada em *Aloë*; tem-se a impressão, entretanto, de que um núcleo está sobre o outro e não a ele associado. O autor não faz mesmo referência a qualquer tipo de associação.

Quando semeados em meio artificial, os grãos de pólen germinam rápida e perfeitamente.

No tubo polínico penetram os dois núcleos : — de preferência, primeiro o núcleo vegetativo, seguido pelo reprodutivo ; há também a penetração dos dois ao mesmo tempo. Na maioria dos casos, o núcleo vegetativo se mantém à frente do reprodutivo no tubo polínico.

A formação dos gâmetas se dá dentro do tubo polínico, mais ou menos 10 horas após a sementeação (nas condições da experiência). Os dois gâmetas são muito semelhantes entre si.

O número diplóide de cromossômios da planta em estudo é 14. Era esperado encontrar êsse número, pois se sabe que o gênero *Aloë* pertence ao primeiro grupo na classificação de Jorgensen, do qual fazem parte os gêneros em que tôdas as espécies possuem o mesmo número de cromossômios (3).

Estudando a morfologia dos cromossômios somáticos, pode-se dar ao complemento desta planta uma fórmula definida. Adotando-se a nomenclatura usada por Fernandes (3), a fórmula do complemento haplóide seria

$$3Lp + 1L + 3p$$

onde L significa *longus* e p significa *parvus*. Os cromossômios Lp são os que têm um braço longo e um curto bem distintos (os cromossômios a, b e c, fig. 2-B). O cromossômio designado por L tem o braço curto bastante reduzido, devido à localização quase terminal da constrição primária (cromossômio d, fig. 2-B), e os cromossômios designados por p são os curtos, com braços pouco perceptíveis.

Pode-se adotar, também, a nomenclatura de Satô (8) para os cromossômios de *Aloinæ*, que é mais simples e conveniente para mostrar quais os cromossômios que trazem satélites. Os cromossômios foram, por êsse autor, designados por L (long) e S (small), e descritos da seguinte maneira :

L₁ — dos quatro cromossômios longos, êste é o que tem o braço proximal maior ; no braço distal há, geralmente, um satélite, exceto em algumas espécies de *Aloë*.

L₂ e L₃ — são cromossômios longos, com o braço proximal mais curto que o do L₁, porém, mais longo do que o do L₄ ; no gênero *Aloë* raramente apresentam satélites.

L₄ — dos cromossômios longos é o que possui o braço proximal mais curto.

S₁, S₂, e S₃ — cromossômios pequenos, com constrição subterminal. Em *Aloë*, o cromossômio S₃ raramente traz um satélite proximal.

A planta em estudo pode, então, ser representada pela seguinte fórmula :

$$2n = 14 (8L + 6S), \text{ sendo } \begin{cases} 8L = 2L_1 + 2L_2 + 2L_3 + 2L_4 \\ 6S = 2S_1 + 2S_2 + 2S_3 \end{cases}$$

O par de cromossômios L₄ possui um satélite distal ; um par de cromossômios curtos, possivelmente S₃, possui um satélite proximal, mas apenas em um dos seus elementos. Portanto, o cromossômio L₄ é homozigoto para o satélite, e o S₃ é heterozigoto.

A contagem de nucléolo em núcleos somáticos confirma a existência de 3 satélites.

Estas observações indicam que a planta é híbrida.

Recorreu-se, então, ao trabalho de Rezende (7), para ver quais das espécies examinadas por êle trazem um tal complemento cromossômico, isto é, homozigoto para o satélite do cromossômio longo e heterozigoto para o satélite do cromossômio curto. Encontra-se apenas "*Al. x Schimperii*" nesta classificação. Em Satô (8) também se encontram três espécies com êste complemento: *A. bortiana*(¹), *A. latifolia* Haw. e *A. stricta*(²). Entretanto, o estudo botânico da planta revelou que ela apresenta uns tantos caraterísticos de *A. macracantha* e outros de *A. saponaria*. Pelos estudos de Rezende (7), sabe-se que *A. saponaria* tem um cromossômio longo e um curto, homozigotos para o satélite. Não foi possível, porém, conseguir uma descrição do complemento cromossômico de *A. macracantha*. Encontra-se em Johansen (4) apenas a informação de que os números encontrados foram $n=7$ e $2n=14$.

Pode-se, então, deduzir, com relativa segurança, que *A. saponaria* é uma das espécies que entram na constituição dêsse híbrido. A outra espécie, muito provavelmente, será *A. macracantha*.

5-RESUMO

No gênero *Aloë*, tôdas as espécies estudadas citolôgicamente até o presente (cêrca de 90) têm $2n=14$ cromossômios.

Em uma forma não classificada, a microsporogênese e a gametogênese foram detalhadamente estudadas.

O fato mais interessante constatado é o de se associarem, nos grãos de pólen, os núcleos vegetativo e reprodutivo, sem, contudo, se fundirem. Nos tubos polínicos êles de novo se separam, e o reprodutivo dá formação a dois gâmetas.

O número e a morfologia dos cromossômios foram estudados em raízes e em grãos de pólen: o complemento cromossômico é constituído por quatro pares de cromossômios longos, bem identificados, e três pares de cromossômios curtos. Um dos cromossômios longos possui um satélite distal; um dos cromossômios curtos possui um satélite proximal, porém apenas em um dos elementos.

Um máximo de três nucléolos nos núcleos somáticos de raízes foi constatado, concordando com a existência de três cromossômios com satélites.

O fato de ser esta forma heterozigota, para um dos pares de cromossômios curtos, indica que se deve tratar de um híbrido.

O estudo botânico revelou que ela apresenta alguns caraterísticos de *A. macracantha* e outros de *A. saponaria*. Da espécie *A. macracantha*, sabe-se apenas que tem sete pares de cromossômios. *A. saponaria*, com igual número de cromossômios, é uma das três únicas espécies estudadas que possuem satélites no par de cromossômios curtos.

Pode-se, então, deduzir, com relativa segurança, que *A. saponaria* é uma das espécies que entram na constituição dêsse híbrido. A outra espécie, muito provavelmente, será *A. macracantha*.

(1) Esta espécie deve ser a espécie *A. borziana* Terr., citada em Index Kewensis, suplemento 1, 1896-1910.

(2) Esta espécie não consta das espécies válidas citadas no Index Kewensis.

SUMMARY

In this paper the results are presented of a study of microsporogenesis and gamete formation in an unclassified form of *Aloë*. This form of *Aloë* was found to have $2n = 14$ chromosomes, a condition which is characteristic of all of the species of this genus that have been examined cytologically.

The most interesting observation made in the present study was the constant association, but no fusion, of the vegetative and reproductive nuclei inside the pollen grain. It was also noted that this association disappears when the nuclei enter the pollen tube. The reproductive nucleus in the pollen tube gives rise to two small male gametes.

This paper also includes a description of the morphology of the chromosomes as studied in the root tip cells and in pollen grains. In the form of *Aloë* studied there are 4 pairs of long chromosomes and 3 pairs of short ones. One pair of the long chromosomes was found to be homozygous for a satellite at the distal arm and one pair of short chromosomes was determined to be heterozygous for a satellite at the proximal arm. It was also observed that there was a maximum of three nucleoli in each somatic cell nucleus which agrees with the existence of three satellites.

The cytological observations made indicate that the *Aloë* plant studied is a hybrid. Also a botanical analysis revealed that this form of *Aloë* has some characters of *A. saponaria* (one of the few species with satellites in short chromosomes) and some characters similar to those of *A. macracantha*. On the basis of the present investigations then, it seems highly probable that the form of *Aloë* studied is a hybrid between the two above mentioned species.

LITERATURA CITADA

1. Berger, A. Género *Aloë*. Em A. Engler. Das Pflanzenreich, pág. 159-325. Wilhelm Engelmann, Leipzig, 1908.
2. Ferguson, N. The *Aloinae*: a cytological study with special reference to the form and size of chromosomes. Phil. Trans. Roy. Soc. London **215**: 225-253. 1926.
3. Fernandes, A. Estudos nos cromosomas das *Liliaceas* e *Amarilidaceas*. Bol. Soc. Brot. Coimbra **7** (II série): 3-110. 1931.
4. Johansen, N. A. The chromosomes of *Aloë macracantha*. Journ. Cactus & Suc. Soc. Amer. **1**: 8-9, 1929.
5. Maheshwari, P. The male gametophyte of Angiosperm. Bot. Rev. **15**: 1-75. 1949.
6. Pinto-Lopes, J. On the differentiation of the nuclei in pollen-grains of Angiosperms. Portugaliae Acta Biológica **2** (série A): 237-247. 1948.
7. Rezende, F. Über die Ubiquität der Sat-chromosomen bei den Blütenpflanzen. Planta **26**: 757-807. 1937.
8. Satô, D. Karyotype alteration and phylogeny. I-Analyses of karyotypes in *Aloinae* with special reference to the Sat-chromosome. Cytologia F. J.: 80-95. 1937.
9. Sharp, L. W. Em Fundamentals of Cytology, pg. 86. McGraw-Hill Book Co., New York and London, 1943.
10. Taylor, W. R. Cytological studies on *Gasteria*. II-A comparison of the chromosomes of *Gasteria*, *Aloë* and *Haworthia*. Am. Jour. Bot. **12**: 219-223. 1925.
11. Warmke, H. R. A permanent root-tip smear method. St. Tec. **10**: 101-104. 1935.
12. Whitaker, T. W. An improved technic for the examination of chromosomes in root tip smears. St. Tec. **9**: 107-108. 1934.
13. Zirkle, C. Nucleolus in root tip mitosis in *Zea Mays*. Bot. Gaz. **86**: 402-418. 1928.