



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária — EMBRAPA
Vinculada ao Ministério da Agricultura
Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido — CPATU
Belém, PA



DEUTSCHE
GESELLSCHAFT
FÜR TECHNISCHE
ZUSAMMENARBEIT

**ESTUDOS BIOLÓGICOS DA FLORAÇÃO E DA
FRUTIFICAÇÃO DA CASTANHA-DO-BRASIL
(*Bertholletia excelsa* H.B.K.)**

Belém, PA
1984



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária — EMBRAPA
Vinculada ao Ministério da Agricultura
Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido — CPATU
Belém, PA.

**ESTUDOS BIOLÓGICOS DA FLORAÇÃO E DA FRUTIFICAÇÃO DA
CASTANHA-DO-BRASIL ((*Bertholletia excelsa* H.B.K.)**

Astrid Moritz

Belém, PA.

1984

EMBRAPA-CPATU. Documentos, 29

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à
EMBRAPA-CPATU

Trav. Dr. Enéas Pinheiro s/nº
Caixa Postal, 48
66.000 - Belém, PA.
Telex : (091) 1210

Tiragem : 1.000 exemplares

Comitê de Publicações : José Furlan Júnior — Presidente
Mário Dantas
Alfredo Kingo Oyama Homma
Paulo Choji Kitamura
Nazira Leite Nassar
Emanuel Adilson Souza Serrão
Luiz Octávio Danin de Moura **Carvalho**
Maria de Lourdes Reis Duarte
Emmanuel de Souza Cruz
José Natalino Macedo Silva
Ruth de Fátima Rendeiro Palheta

Moritz, Astrid

Estudos biológicos da floração e frutificação da castanha-do-
brasil. Belém, EMBRAPA-CPATU, 1984.

82 p. ilustr. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 29)..

1. Castanha-do-brasil — Fenologia. I. Título. II. Série.

CDD : 634.575

AGRADECIMENTOS

Aos colaboradores da Sociedade Alemã para Cooperação Técnica (GTZ), que proporcionaram a realização do trabalho prático no Brasil.

Aos colaboradores da EMBRAPA-CPATU, pelo apoio prestado.

Ao Sr. C. H. Müller pela introdução na problemática do trabalho e por sua orientação no decorrer das experiências.

Aos colaboradores do Laboratório de Botânica, especialmente a Sra. Irenice Alves Rodrigues.

Ao Sr. Manoel Silva de Souza que coletou as flores doadoras de pólen, para realização das polinizações.

E ao professor Dr. Werner Plarre, do Instituto de Genética Aplicada da Universidade Livre de Berlim, pela orientação dada a esta tese.

S U M Á R I O

1. INTRODUÇÃO E APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA	7
2. MATERIAL E MÉTODOS DE PESQUISA	10
2.1. Generalidades sobre a biologia da castanha-do-brasil ..	10
2.2. Estudos biológicos e citológicos da floração e da fruti- ficação	20
2.3. Cruzamentos entre diferentes clones	20
2.3.1. Determinação da hora do dia para a polinização	22
2.3.2. Estudos sobre a germinação do pólen	24
2.3.3. Observação dos frutos abortados	25
2.4. Métodos estatísticos e avaliação em relação à taxa e tipo de fecundação	27
3. RESULTADOS	28
3.1. Desenvolvimento da floração e dos frutos	28
3.2. Fecundação e vingamento	37
3.2.1. Comparação estatística dos cruzamentos	41
3.2.2. Comparação entre dois/três cruzamentos	42
3.2.3. Relação entre a taxa de fecundação e o diâmetro e peso dos frutos novos, respectivamente	44
3.2.4. Influência da fecundação no crescimento de frutos novos	47
3.2.5. Avaliação de um grupo de controle	50
4. DISCUSSÃO	52
4.1. Avaliação geral dos resultados	52
4.1.1. Agrupamento dos cruzamentos	52
4.1.2. Avaliação da taxa de fecundação	58
4.1.3. Discussão dos erros	59
4.2. Considerações especiais para o vingamento	60

4.2.1.	Influência da planta-mãe sobre o desenvolvimento das flores e frutos novos	60
4.2.2.	Papel dos fitormônios na queda dos frutos prematuros	64
4.2.3.	Considerações sobre os problemas de fertilidade e esterilidade	66
5.	PROPOSTAS PARA FUTUROS TRABALHOS DE PESQUISA	70
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS E RESUMO	71
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
APÊNDICE I:	Relação do Campo Experimental, época de floração e vingamento 1980/81	76
APÊNDICE II:	Resultados pormenorizados do teste de significância X^2	79

ESTUDOS BIOLÓGICOS DA FLORAÇÃO E DA FRUTIFICAÇÃO DA CASTANHA-DO-BRASIL (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)¹

Astrid Moritz²

1. INTRODUÇÃO E APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA

A castanha-do-brasil é para a região Norte do Brasil, especialmente para o Estado do Pará, um importante produto de exportação. Belém é o porto de exportação para todas as castanhas coletadas na região amazônica que são armazenadas e em parte beneficiadas.

As variações anuais do rendimento resultam em razão da economia de extrativismo. Se os preços de compra sobem, o transporte desde regiões distantes e de difícil acesso, também, é compensador. Menor quantidade de castanhas será recolhida, se o transporte for dificultado devido às permanentes variações do nível d'água e a presença de cachoeiras. A problemática sobre a quantidade não calculável de castanha-do-brasil existente tem-se agravado, especialmente para os exportadores, porque o rendimento total nos últimos anos decaiu rapidamente (Itayguara 1980).

No Norte do Brasil, depois de obtida uma certa infra-estrutura, foi dado um estímulo aos pecuaristas para também comprar e explorar terras na região. Muitos coletores, chamados castanheiros, não puderam mais exercer suas atividades, porque os pecuaristas ocuparam as terras, anteriormente consideradas de utilidade pública, onde se localizavam bosques de castanha-do-brasil.

Nas proximidades do município de Marabá e no sul do Estado do Pará, os revestimentos nativos de castanheiras, chamados castanhais, foram ostensivamente dizimados. Com a instalação de projetos pecuários

1 Tese apresentada na Universidade Livre de Berlim. Instituto de Genética Aplicada. Especialidade de Biologia para Obtenção do título de Mestre em Biologia.

2 Bióloga, M.Sc. EMBRAPA-CPATU. Caixa Postal 48. CEP 66000. Belém, PA.

foram exterminadas castanheiras através da queima da mata, bem como dos insetos polinizadores e suas larvas (himenópteros: *Bombus*, *Centris* e *Xylocopas*).

Se a destruição e a queimada do próprio mato continuarem, os recursos naturais desaparecerão e isso causará outra queda da produção. Na região do Tocantins, de onde provêm castanhas-do-brasil relativamente grandes, as quais estão sendo exploradas com casca, será construída a represa de Tucuruí, onde grandes áreas deverão ser inundadas. Por isso, extensos revestimentos de castanheiras serão derrubados.

Para a conservação dos biotipos existentes nessa região e para o abastecimento do banco de germoplasma, dever-se-ia coletar nessa área material para enxertos.

Os coletores da floresta virgem, apartados de qualquer civilização, estão permanentemente expostos a muitos perigos da selva, como doenças (por exemplo malária), acidentes no local da coleta (por exemplo na queda de frutos pesados de grandes alturas. Capítulo 2), e durante o transporte das castanhas para depósitos centrais, por causa da presença de cachoeiras, quedas d'água, etc. (Almeida 1963).

Economicamente eles são dependentes dos compradores de castanha. Aos atravessadores, que também controlam a compra e o transporte para Belém, pertencem a maioria dos "barracões" nos quais são vendidas aos coletores as mercadorias essenciais para seu sustento, a preços exorbitantes. Essas mercadorias são trocadas pelas castanhas coletadas. Eles têm um lucro de até 300% (Schreiber 1963). Quando são oferecidas melhores possibilidades salariais aos coletores eles migram para trabalhar em fazendas de gado, na construção de estradas ou represas. Outros saem à procura de ouro e diamantes ou mudam-se para os centros urbanos.

A medida mais urgente a ser tomada contra esta situação, seria uma proteção mais efetiva e a conservação dos bosques nativos de castanha-do-brasil. Para isto seria necessário um mapeamento dos aglomerados mais importantes, assim como uma orientação através de uma instituição de pesquisa agropecuária. Nas regiões relativamente urbanizadas deveriam ser feitas propostas aos habitantes locais, ou aos proprietários,

para um melhor uso dos castanhais nativos. Junto a isso deveria ser proporcionada uma orientação agropecuária através de técnicos especialistas.

Estimulados através de incentivos econômicos (por exemplos crédito com baixa taxa de juros), poderiam ser implantadas culturas mistas: castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) com cacau (*Theobroma cacao*) ou/e cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) ou/e mandioca (*Manihot esculenta*) ou/e guaraná (*Paullinia cupana*) e outras plantas de cultivo.

Entretanto, isso somente seria possível mediante a regularização dos direitos de propriedade. Para os pequenos agricultores (caboclos) seria vantajosa a criação de uma cooperativa capaz de negociar os preços com os exportadores e, eventualmente, eliminar o comércio intermediário. Paralelamente às medidas de conservação dos castanhais nativos, deveria ser incentivado o cultivo racional, tornando o agricultor independente da economia extrativa.

As pesquisas básicas necessárias para a realização deste trabalho foram iniciadas no IAN (Instituto Agrônômico do Norte, transformado mais tarde em IPEAN) e, posteriormente, no CPATU (Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido, que é um órgão de pesquisa da EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) em Belém-Pará (Müller et al. 1980).

Em primeiro lugar foram realizados estudos sobre a melhoria da capacidade de germinação, cultivo das plantas novas e enxertos. Estes resultados contribuem para um cultivo proveitoso da castanha-do-brasil.

Outros estudos trouxeram conhecimentos primários sobre a biologia da frutificação, os mecanismos de polinização e os mecanismos de fecundação, assim como, sobre o desenvolvimento ou crescimento dos frutos novos. Estes resultados devem ser comparados e estendidos com as pesquisas próprias.

Os experimentos de cultivo em plantações mostraram até agora uma produtividade baixa. A causa disso poderia ser a presença de sistemas de incompatibilidade. Nas autopolinizações foram encontradas baixa taxa

de fecundação, os frutos novos caem prematuramente, por conseguinte pode ser suposta auto-esterilidade. Os resultados dos experimentos de cruzamentos expostos a seguir contribuirão para corroborar ou refutar esta tese.

2. MATERIAL E MÉTODOS DE PESQUISA

2.1. Generalidades sobre a biologia da castanha-do-brasil

É feita uma descrição das plantas, já que a literatura sobre a biologia da floração e da frutificação consultada na Alemanha, apresenta um acervo mínimo de detalhes sobre o assunto.

A denominação científica — *Bertholletia excelsa* — foi dada à castanha-do-brasil por Humboldt e Bonpland (1808). A família Lecythidaceae foi subdividida em quatro subfamílias (de Niedenzu, em Engler e Prantl 1893). A espécie com somente um tipo — excelsa — pertence à subfamília Lecythidoideae. Em 1874, Miers formulou a hipótese de que haveria um outro tipo, *Bertholletia nobilis*; mas isso até hoje não pôde ser confirmado (Müller et al. 1980).

A denominação brasileira para a amêndoa é castanha-do-brasil (anteriormente castanha-do-pará). As denominações inglesa, espanhola, francesa e alemã são, respectivamente: Brazil-nut ou Pará-nut, Nuez del Brasil, Noix du Brésil e Paranuss.

Até os dias atuais as amêndoas de castanha-do-brasil são coletadas de árvores que crescem nas regiões silvestres da América do Sul. Estas árvores gigantes da selva virgem chegam a medir até 50m, e suas copas em forma de guarda-chuva sobressaem às outras árvores nativas. A região de disseminação se estende desde a Venezuela através da Colômbia, Bolívia, Peru, Guianas, até o Brasil. Elas crescem nas selvas da região amazônica, nos Estados do Amazonas, Pará, Mato Grosso, Maranhão, Acre e Rondônia, e nos Territórios do Amapá e Roraima. Elas se apresentam geralmente em grupos de seis ou mais árvores (Fig. 1). Somente as castanhas coletadas no Peru e no Brasil são comercializadas e a maior parte é exportada (Almeida 1963).



FIG. 1 Grupo de árvores silvestres de castanha-do-brasil.

As flores da castanha-do-brasil se desenvolvem em panículas retas verticais racimosas nas extremidades dos ramos (Fig. 2).



FIG. 2 Inflorescência da castanha-do-brasil; abelhão visita a flor.

A constituição floral é zigomórfica com duas a três sépalas e seis pétalas amarelas não aderentes (Fig. 3).



FIG. 3 Flor isolada.



FIG. 4 Androceu e estilete.

O ovário é recoberto e o estilete estende-se normalmente, até além das anteras e está inclinado (Fig. 4). O androceu é zigomórfico e está dividido em três partes:

1. O anel estaminal: ou seja, o conjunto de estames que se apresenta em forma ovalada envolvendo o estilete e o estigma;

2. A lígula: uma zona livre de anteras entre o anel estaminal e o chapéu (Fig. 4); e

3. O chapéu: proveniente da extensão do eixo floral, é uma estrutura em forma de elmo com prolongamentos pontiagudos. Estes estaminódios estão unidos; ao fundo encontram-se as glândulas de néctar (Fig. 5).



FIG. 5 Parte interior do chapéu; estaminódios unidos.

Outras espécies afins também apresentam estes prolongamentos (os filamentos-anteras). Experimentos de germinação de pólen demonstraram que este pólen do chapéu não é fértil (Mori et al. 1980). O chapéu ou elmo se curva sobre o anel estaminal e o recobre totalmente. Somente os grandes e pesados insetos podem levantar o chapéu (Fig. 2 e

6). Eles trazem o pólen alheio atrás da cabeça, deixam no estigma e levam pólen das anteras. Além disso, eles coletam o néctar (Mori et al. 1978).

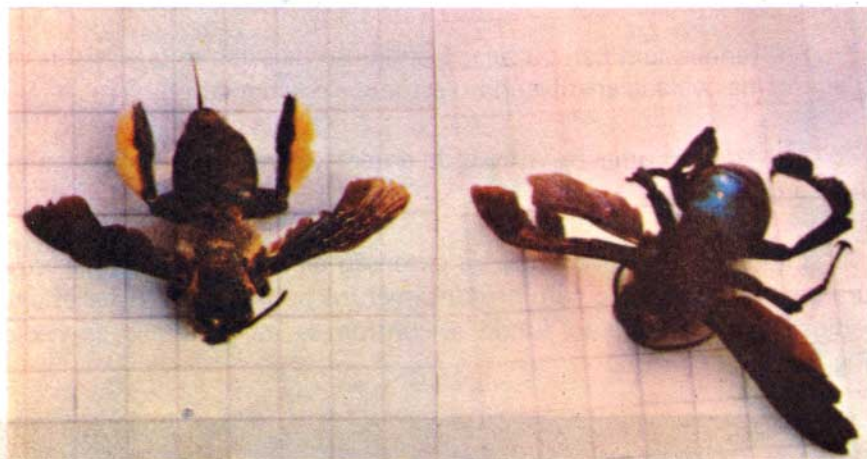


FIG. 6



FIG. 7 Copa com folhas novas e coloridas e frutos velhos.

Após o período de chuvas, geralmente em julho as folhas começam a cair. A maioria cai antes da floração em agosto, algumas as

vezes mais tarde, e depois crescem as folhas novas. Estas são de coloração marrom e inclinadas para baixo como proteção contra a intensa radiação solar (Fig. 7). Somente quando se forma uma camada cerosa é que as folhas tornam-se verdes e erguem-se, abandonando sua posição inclinada. Os ramos novos brotam por debaixo das inflorescências do ano anterior. Primeiramente surgem as folhas, e logo aparecem os botões nas extremidades dos ramos (Fig. 8 e 9).

O início da floração é diferente de acordo com a região. Na parte Oeste do Brasil (Acre) as árvores florescem primeiro que na parte Leste (Pará).



FIG. 8 Brotação abaixo da inflorescência do ano anterior.

Do início do desenvolvimento dos frutos novos até a maturação decorrem, aproximadamente, quinze meses. Durante a floração e o desenvolvimento dos frutos novos, a castanheira conserva os frutos velhos e quase maduros (Fig. 10 e 11).



FIG. 9 Gomos florais (botões).

Os frutos das castanheiras são pixídios arredondados, denominados de ouriços. No sentido botânico, as sementes não são nozes (castanhas) mas sim caroços de um pixídio (Fig. 12). A casca do ouriço, o pericarpo, é dura e resistente. Nos quatro a cinco lóculos existentes, as sementes estão unidas, através do funículo, à coluna central do ovário.



FIG. 10 Flores e frutos velhos.



FIG. 11 Frutos novos e velhos.

Por ocasião do ressecamento, no tempo de maturação do fruto, a placenta se encolhe e puxa o "umbigo" (opérculo) para dentro, com isto se origina um orifício de mais ou menos 1 cm de diâmetro (Fig. 13).

Em outras espécies o opérculo cai e com isso também são liberadas as sementes, o que não acontece com a *Bertholletia*.

As sementes, dotadas de uma casca ligniforme, são disseminadas pelos roedores (*Agoutis*). Estes roem a dura e resistente casca (pericarpo) do ouriço e enterram as sementes (Prance & Mori 1978). Também os índios nômades coletavam as castanhas, contribuindo assim para a disseminação dessa espécie. Os índios coletam, ainda hoje, ouriços e produzem farinheiras, vasos, porta-jóias, cinzeiros, etc. O uso das amêndoas compensa as deficiências na alimentação, porque além do alto teor de gordura (60-69%), o teor de albumina é relativamente alto (17-18%).

A cápsula ligniforme cai durante o período de chuvas. No decorrer do tempo a água e os microrganismos destroem a casca, e as sementes podem então germinar.



FIG. 12 Sementes do ouriço da castanha-do-brasil.



FIG. 13 Fruto maduro de castanha-do-brasil; o opérculo não obstrui mais o ouriço.



FIG. 14 Campo Experimental do CPATU; árvores de castanha-do-brasil com doze anos de idade.

2.2. Estudos biológicos e citológicos da floração e frutificação

Para obter outras informações sobre a estrutura da flor e do fruto, foram coletados dados sobre a distribuição dos estiletos curtos/longos e sobre o número de anteras por flor. A época de floração no período de 1980/81, de todas as árvores de castanha-do-brasil do campo experimental foi determinada. (Fig. 21).

Em intervalos de três a quatro semanas foram verificadas todas as árvores com relação ao início, decorrer e fim da floração. Os dados foram investigados posteriormente, para verificar se a floração nas árvores era visível, ou se haviam flores frescas, ou se flores recentemente caídas encontravam-se no chão, etc.

As árvores dos oito clones usados para os cruzamentos são da mesma idade (Cap. 2.3.). Mais adiante há considerações sobre a distribuição dos óvulos no ovário. Com ajuda de estudos citológicos deve ser verificado e confirmado o número de cromossomos. Por Magenot/Magenot 1958/62 (Kowal et al. 1977) foram contados $2n = 34$ cromossomos.

Uma parte dos botões novos foi fixada em Etanol-Ácido Acético glacial 3:1, uma outra em Carnoy (Etanol-Cloroformio-Ácido Acético glacial 6:3:1; com adição posterior de $FeCl_3$). Para o estudo das estruturas nucleares nas células-mãe do pólen foi utilizado o método do Ácido Carmin Acético.

2.3. Cruzamentos entre diferentes clones

O CPATU possui um campo experimental, no qual foram enxertados, em 1968, diferentes clones sobre porta-enxertos distintos (Fig. 14). Três anos e meio após o enxerto as primeiras árvores floresceram e seis anos após as enxertias puderam ser colhidos os primeiros frutos. Onze anos após o enxerto, algumas árvores produziram 25 litros de castanha (Müller et al. 1980). Anotações contínuas sobre a produção de todas as plantas até hoje não existem. Em colaboração e sob a orientação de Carlos Hans Müller, (Eng^o Agr^o, M.S. em Fitotecnia, pesquisador do CPATU), foram realizados em 1980/81, oito diferentes cruzamentos. As polinizações começaram no fim de outubro de 1980 e terminaram em meados de janeiro. Os trabalhos de laboratório foram concluídos em fevereiro de 1981.

Nos cruzamentos realizados foram estudadas as influências de pólen geneticamente distintos sobre a taxa de fecundação de uma planta-mãe. Para isto, não é necessário considerar o vingamento (quantidade de frutos maduros), pois o desenvolvimento do fruto é também influenciado por outros fatores. Uma grande parte dessas influências pode ser eliminada analisando a taxa de fecundação na forma de reação do pólen; quer dizer, de acordo com o valor da taxa de fecundação verificada nos frutos novos.

Segundo estudos de Pinheiro e Albuquerque (1968), somente 0,4% das flores tornam-se frutos maduros, por polinização natural através de insetos. Assim, se o pólen tivesse que ser estudado levando em conta o vingamento, uma enorme quantidade de flores deveria ser polinizada para um único cruzamento, a fim de que os resultados correspondessem aproximadamente ao comportamento efetivo. Poderiam ser feitas então considerações sobre a planta-mãe. Já que, somente uma pequena quantidade de flores foi polinizada, as afirmações a respeito do vingamento tornam-se limitadas.

Como planta-mãe foi escolhida uma árvore do clone 609 que já há alguns anos produz (Fig. 15). Ela foi cruzada com oito diferentes pais (clones). Em um dos cruzamentos foi feita polinização com pólen da própria árvore. Pormenores sobre este cruzamento cíclico podem ser deduzidos da Tabela 1.

TABELA 1. Polinizações realizadas 1980/81.

Clone-mãe	Clone doador de pólen	Identificação	Quantidade de flores polinizadas	Quantidade de inflorescências
609	609	branca	aprx. 300	várias
609	M. Pedro I	verde	aprx. 300	várias
609	606	amarela	aprx. 290	várias
609	612	vermelha	aprx. 280	duas
609	614	lilás	aprx. 350	duas
609	M. Pedro II	azul	aprx. 260	duas
609	Sta. Fé I	laranja	aprx. 320	duas
609	Sta. Fé II	negra	aprx. 230	várias

As inflorescências previstas para a polinização (panícula e panículas racimosas) foram identificadas com fitas coloridas e cobertas com sacos de filô. O pólen foi aplicado com pincéis (o pincel foi marcado com a cor respectiva) (Fig. 16 e 17).

2.3.1 Determinação da hora do dia para a polinização

Em estudos anteriores (Müller et al. 1980), a taxa de germinação dos pólenes coletados no intervalo entre oito e doze horas era aproximadamente igual, depois das quatorze horas este valor decaía consideravelmente. Isso pôde ser comprovado através de algumas pesquisas. Foi verificada uma taxa de germinação para os pólenes coletados.

- oito horas— a maior taxa de germinação,
- nove horas— queda insignificante da taxa de germinação; e
- dez-doze horas — diminuição contínua da taxa de germinação.



FIG. 15 Planta-mãe — clone 609.

Em conseqüência, foi determinado fazer as polinizações no período entre oito e dez horas.

As árvores doadoras de pólen foram também marcadas com fitas coloridas e duas inflorescências foram cobertas com sacos de filó. As polinizações começaram sempre com a autopolinização. Ao mesmo tempo, um ajudante coletava pólen do primeiro doador (Tabela 1). Como a capacidade de germinação diminui no decorrer da manhã, a ordem das polinizações foi modificada diariamente. Com isso conseguiu-se um tratamento relativamente igual para todos os cruzamentos (Primeiro cruzamento: autopolinização; segundo cruzamento: com pólen de clone Santa Fé II; terceiro cruzamento: com pólen de clone Santa Fé I, etc.).



FIG. 16 Inflorescências envolvidas por sacos de filó.



FIG. 17 Inflorescências envolvidas por sacos de filó.

2.3.2. Estudos sobre a germinação do pólen

Em estudos anteriores (Müller et al. 1980) foram testadas diferentes soluções molares (0,1 a 1 molar) de sacarose como meios nutritivos. A maioria dos pólenes (86,5%) germinou numa solução de sacarose 0,5 molar. Em vários testes realizados no presente trabalho não se pôde confirmar estes resultados. Da mesma forma, a série de testes de solução 0,1-1 molar de sacarose e com uma solução de sacarose a 40% com acréscimo de fermento, ácido bórico e ágar-agar, não apresentou êxito ou seja, a percentagem de germinação do pólen foi extremamente baixa.

Por outro lado, obtiveram-se bons resultados com uma solução de sacarose a 15% e com adição de fermento e ácido bórico 0,1% (Mori et al. 1980). Colocou-se os pólenes de quatro flores em placas de petri com a solução acima mencionada e observou-se depois de duas horas a taxa de germinação. O pólen foi coletado entre oito e nove horas, analisou-se cada vez quatro flores de cinco clones. Inicialmente a percentagem de pólenes germinados foi ainda um pouco baixa, variando entre 30 e 60%.

No período seguinte, o método foi melhorado, e depois de conservar a solução na geladeira, foram obtidos melhores resultados. Em consequência disto os testes foram repetidos. Como a floração já havia terminado no clone 614 essa contagem não pôde ser repetida. Por isso, na Tabela 2 serão dados os valores do teste precedente (só para o clone 614).

TABELA 2. Germinação do pólen de clones distintos numa solução de sacarose a 15%; 0,1% de fermento e ácido bórico.

Clone doador de pólen	\bar{x} em %	Faixa de variação em %
609	66	63 – 70
M. Pedro I	67	60 – 74
606	87	84 – 90
612	81	73 – 85
M. Pedro II	72	70 – 76
Sta. Fé I	78	74 – 80
Sta. Fé II	79	72 – 86
614	55	40 – 65

2.3.3. Observação da queda prematura dos frutos

Os frutos novos caídos diariamente foram separadamente coletados, de acordo com os distintos pais (clones), e estudados no laboratório. Eles foram cortados transversalmente e, sob a lupa foram contados os óvulos (zigotos) fecundados (grandes, gordos) e os não fecundados (degenerados de coloração marrom Fig. 18 e 19).



FIG. 18 Corte transversal de um fruto novo com quatro lóculos:
– óvulos degenerados
– zigotos

Concluiu-se que estes óvulos marrons não foram fecundados. Óvulos muito pequenos, com um diâmetro limitado foram também considerados como não fecundados. Eles não foram estudados no que se refere a existência de uma fecundação real, ou se outras influências zigóticas (fatores letais) causaram o aborto. Estes estudos são imprescindíveis e devem ser realizados posteriormente.

Os seguintes dados foram anotados:

1. Peso dos frutos caídos prematuramente
2. Diâmetro dos frutos caídos prematuramente
3. Quantidade de lóculos por fruto
4. Quantidade de óvulos fecundados e não fecundados por lóculo, e, respectivamente por fruto
5. Quantidade total de óvulos por fruto.

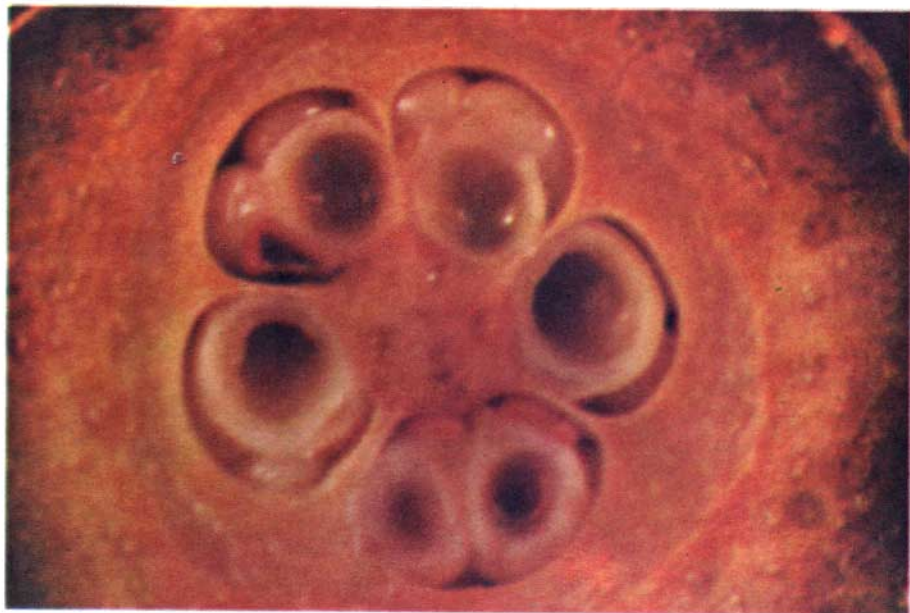


FIG. 19 Corte transversal de um fruto novo com cinco lóculos:
– óvulos denegerados
– zigotos

Com ajuda destes dados foi calculada a taxa de fecundação respectiva, ou seja, o valor percentual da fecundação por fruto, e para todos os frutos estudados que foram polinizados com pólen do mesmo clone.

Os resultados dos oito cruzamentos são comparados e correlacionados. Depois é descrita a distribuição percentual dos lóculos, e, respectivamente, dos óvulos nos frutos.

2.4. Métodos estatísticos e avaliação em relação à taxa e tipo de fecundação

Os dados coletados puderam ser calculados com ajuda de um computador na Universidade Federal do Pará — Núcleo de Ciências Geofísicas e Geológicas, em Belém. Foram calculadas as taxas de fecundação (TF) para todos os frutos examinados dos diferentes clones. As frequências obtidas foram distribuídas em onze classes de fecundação (0% , $0 < TF \leq 10\%$, . . . $90 < TF \leq 100\%$).

Na apreciação dos resultados a classe dos não fecundados (estéreis = 0%) foi considerada separadamente, porque eles diferem, consideravelmente, dos oito cruzamentos. Para esta classe a faixa de variação foi determinada entre 27,3 e 46,8%. O valor destas percentagens, ou seja, a taxa dos frutos não fecundados (estéreis), esclarece a reação do pólen e tem uma influência considerável sobre o valor das taxas de fecundação respectivas. Esta classe, em consequência, foi incluída na comparação dos cruzamentos.

Os oito cruzamentos devem ser desta forma comparados, para que uma afirmação estatisticamente significativa possa ser feita sobre diferenças existentes, ou seja, o comportamento da fecundação é avaliado em relação ao clone 609 (planta-mãe). Através disto é possível determinar o pólen do pai que acusa o máximo grau de fertilidade.

Para constatar diferença de cruzamento estava programado usar análise de variância. O teste de distribuição normal demonstrou, também após transformações, que os valores não são de modo algum distribuídos normalmente (Sachs 1978). Por isso foi procurado um método de avaliação eqüivalente e livre de parâmetros. Aqui se apresenta para a prova de homogeneidade, as análises de tabela de dois campos, tabela de vários campos ou a tabela de contingentes do tipo $r. c$ (Sachs 1978).

r = rows = linhas = amostras, respectivamente oito cruzamentos.

c = columns = colunas = classes de fecundação (onze).

As diferentes amostras r devem ser comparadas no sentido de se verificar se elas pertencem ao mesmo universo ou não, quer dizer, se

existem diferenças de fertilidade significativas nos cruzamentos analisados. A hipótese zero é de seguinte teor: as amostras a serem comparadas (distribuição das freqüências nas classes de fecundação) são homogêneas e pertencem a um mesmo universo.

Com a ajuda do teste χ^2 foi revisada essa hipótese. Se o valor χ^2 encontrado empiricamente é maior do que o valor da tabela χ^2 , a hipótese pode ser rejeitada com uma probabilidade de erro menor que 5%. Ao nível de 5% existem diferenças de fertilidade significativas. Para todos os testes χ^2 foi eleito o nível de 5% ($\alpha = 0,05$).

3. RESULTADOS

3.1. Desenvolvimento da floração e dos frutos

Nas polinizações foi observado que há flores de diferentes tamanhos. Os estiletos estendem-se normalmente para cima das anteras e devido a isso a autopolinização pode ser impedida.

Com relativa freqüência aparecem também estiletos mais curtos, e mais precisamente, com estigmas visivelmente abaixo ou à mesma altura das anteras. Eles são citados na Tabela 3 como estiletos curtos.

TABELA 3. Comprimento dos estiletos dos diferentes clones.

Clone	ESTILETES		Quantidade de flores analisadas
	Longos	Curtos	
609	63	75	138
M. Pedro I	74	12	86
606	34	33	67
612	15	25	40
M. Pedro II	21	19	40
Sta. Fé I	21	20	41
Sta. Fé II	58	2	60
614	11	8	19
	297	194	491

Foram analisadas somente aquelas flores que tiveram que ser tiradas do clone 609 (quando houve impedimento de efetuar as polinizações cruzadas) e flores de outros clones que estavam sobrando das polinizações cruzadas.

A seleção e a quantidade das flores estudadas foram aleatórias. Estas amostras indicam simplesmente que há diferenças na distribuição dos estiletos, tanto longos como curtos. Para uma comparação estatística significativa sobre a distribuição dos estiletos longos e curtos, teriam que ser estudadas e comparadas flores de várias inflorescências de uma árvore e de um clone assim como de vários clones.

Foram contadas anteras de 64 flores de clones diferentes. Na comparação dos clones foram encontrados tanto resultados semelhantes, como diferentes em relação à quantidade de anteras por flor; diferenças consideráveis mostram-se em duas árvores distintas do mesmo clone. (Tabela 4, os clones M. Pedro I e 606).

TABELA 4. Quantidade de anteras por flor.

Clone	Quantidade de anteras por flor \bar{x}	Faixa de variação	Quantidade de flores analisadas
609	93	87 – 103	10
612	92	84 – 100	8
614	113	106 – 123	4
M. Pedro II	123	118 – 130	6
Sta. Fé I	110	103 – 113	5
Sta. Fé II	119	110 – 130	9
M. Pedro I			
1. árvore	128	122 – 133	6
2. árvore	102	98 – 102	4
606			
1. árvore	82	80 – 84	6
2. árvore	106	103 – 107	6

Afirmações definitivas não podem ser feitas porque foram estudadas poucas flores. Para isto seria necessário estudar e comparar flores, inflorescências, árvores e clones objetivamente escolhidos. Com ajuda

dos dados expostos na Tabela 4 pode-se afirmar que a quantidade de anteras por flor oscila entre 80 a 130 unidades.

As diferenças entre o começo e a duração de floração de todas as árvores/clones do campo experimental são expostas graficamente na Fig. 21 (Cap. 2.2). Algumas árvores começaram a florescer já no fim de agosto/início de setembro. A principal época de floração está entre meados de outubro e meados de dezembro. Algumas árvores floresceram até fins de janeiro e fevereiro.

Em alguns clones o começo e duração da floração de todas as árvores foram relativamente homogêneos. Em outros clones algumas árvores começaram a florescer antes e outras mais tarde (Fig. 21). No Apêndice I são mostradas as épocas da floração dos diferentes clones e o vingamento dos frutos novos e velhos.

A quantidade de sementes difere nos ouriços, isto se atribui às diferentes taxas de fecundação. Os frutos estudados possibilitaram mostrar quantos óvulos foram encontrados. A distribuição dos óvulos será representada graficamente.

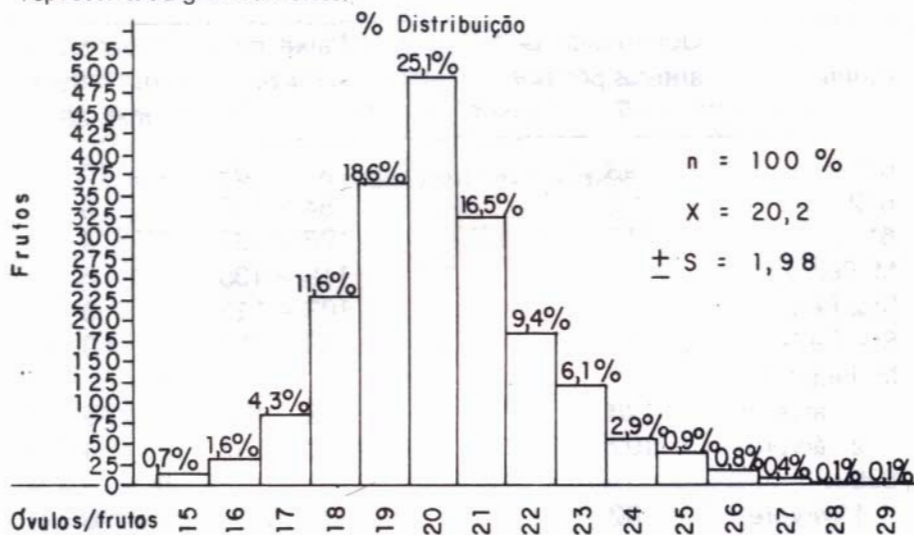


FIG. 20. Quantidade de óvulos por fruto e sua distribuição de freqüência.

Foram estudados mais ou menos 2.000 frutos (\bar{x} e s foram calculados pela distribuição percentual $n = 100\%$ (Fig. 20). 81% apresentavam de 18 a 22 óvulos; 60% de 19 a 21 óvulos. A percentagem média é de

20 óvulos ($\bar{x} = 20,20$). A Fig. 20 mostra uma faixa de variação principal de 16 a 25 óvulos por fruto. Isto significa que a quantidade de sementes por fruto também varia. Esta quantidade pode ser reduzida pois nem todos os óvulos são fecundados e outros abortados por outras causas.

A distribuição dos lóculos (por fruto) mostra que é rara a presença de três a seis lóculos.

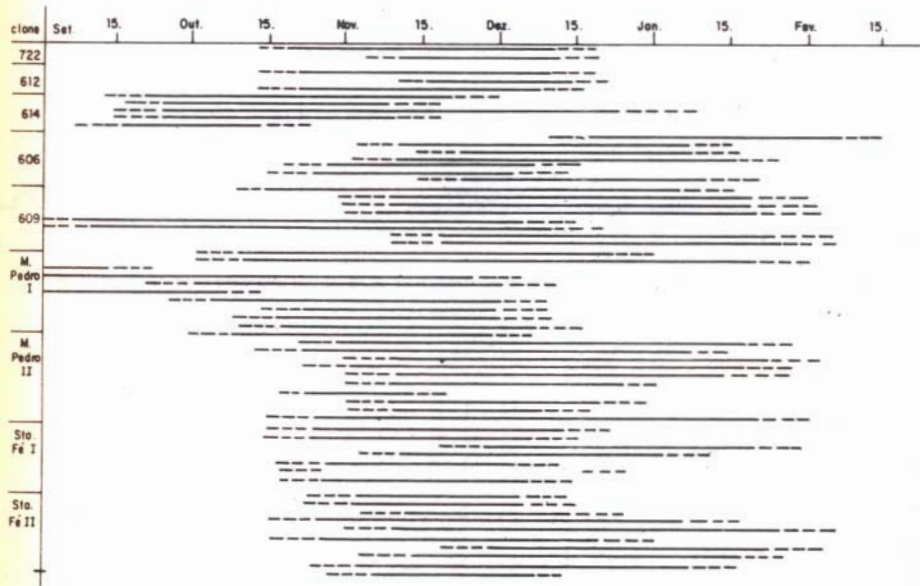


FIG. 21. Época de floração.

Nas Fig. 23 e 24, respectivamente, estão representadas graficamente a distribuição dos óvulos por fruto separadamente, para frutos com quatro e cinco lóculos, respectivamente. Dos frutos examinados com quatro lóculos, 86% apresentaram de 18 a 22 óvulos. O valor médio é de 20 óvulos ($\bar{x} = 19,8$). Dos frutos com cinco lóculos, 84% apresentaram de 20 a 25 óvulos. A média é de 23 óvulos ($\bar{x} = 22,6$). Levando em consideração que este valor é consideravelmente mais alto do que o dos frutos com quatro lóculos, poderia se pensar num programa de melhoramento visando o alto número de lóculos para encontrar clones mais produtivos, que tenham uma quantidade maior daqueles frutos.

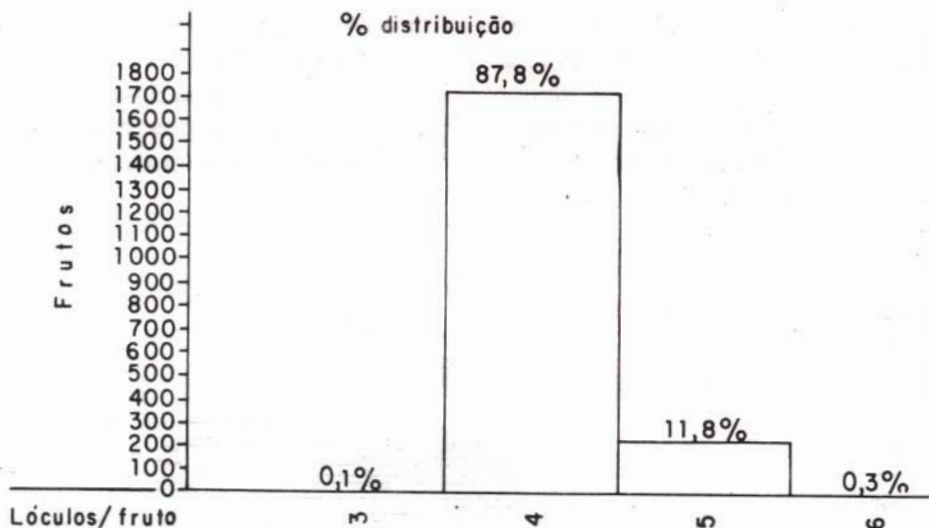


FIG. 22. Quantidade de lóculos por fruto e sua distribuição de freqüência.

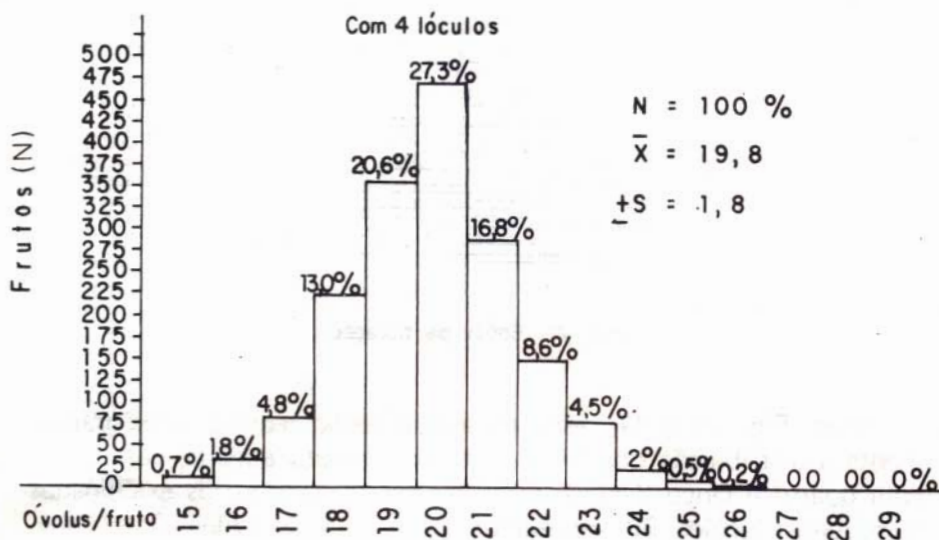


FIG. 23. Quantidade de óvulos por fruto e sua distribuição de freqüência.

Por isso, na continuação dos experimentos de cruzamentos foi necessário determinar a quantidade de lóculos em ovários de outros clones (plantas-mãe). No clone 609 somente 11,8% dos frutos estudados tinham cinco lóculos (Fig. 22).

A quantidade de óvulos dos frutos novos estudados deveria ser comparada com a quantidade de sementes nos frutos maduros. Para isso foram estudados ouriços coletados no campo experimental. Os frutos maiores e mais pêsados foram encontrados no clone Santa Fé I, enquanto que os frutos do clone 609 eram menores e continham menos sementes (Fig. 25 e Tabela 5).

No total foram estudados 45 ouriços de quatro clones distintos que continham uma quantidade média de 18 sementes completamente desenvolvidas.

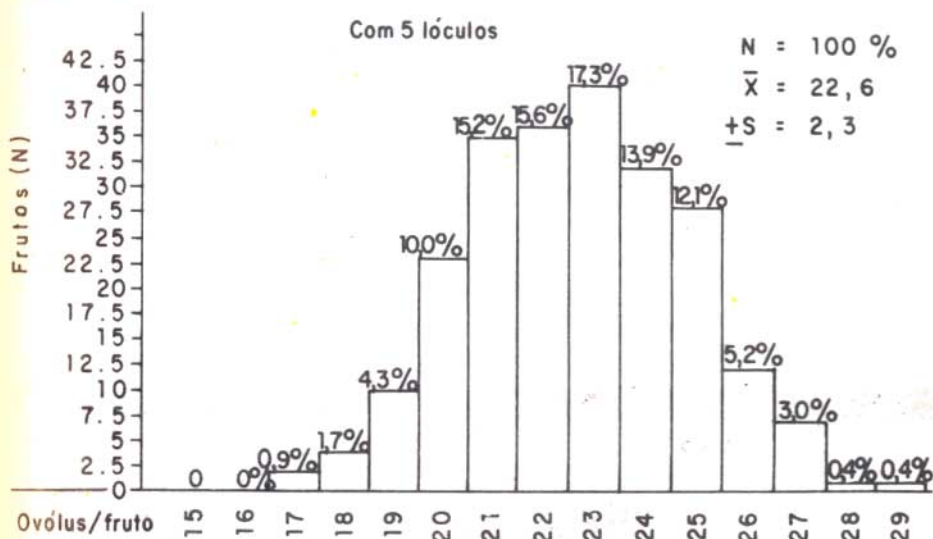


FIG. 24. Quantidade de óvulos por fruto e sua distribuição de freqüência em frutos com cinco lóculos.

Já que esta quantidade de aproximadamente 18 sementes por fruto ainda não é, seguramente, bem representativa, este valor deve ser comparado e estendido aos resultados do grupo de controle descrito no capítulo 3.2.5.

De 75 frutos novos (grupo de controle) de diferentes clones foi contado o número de sementes em desenvolvimento. O valor médio é de 17 sementes novas por fruto (\bar{x} = 17,2) com uma variação de dez a 21 sementes. Baseado nestes resultados pode ser constatado que os ouriços contêm em média de 17 a 18 sementes.

TABELA 5. Resultados de alguns parâmetros de frutos maduros de quatro clones de castanha-do-brasil.

Clone	Quantidade (n)	Peso em g		Diâmetro em cm		Quant. de sementes	
		\bar{x}	faixa de variação	\bar{x}	faixa de variação	\bar{x}	faixa de variação
609 (branca)	8	666	503-890	10,7	9,3-11,5	17,5	12-21
M. Pedro (verde)	12	533	407-711	11,5	10,5-12,5	18,8	15-22
Sta. Fé (laranja)	13	769	531-947	12,6	11,5-13,7	18,6	11-25
Sta. Fé II (negra)	12	657	500-882	11,3	10,4-11,5	18,0	15-21
45							



FIG. 25 Ouriço grande do clone Santa Fé I, fruto pequeno do clone 609 e frutos novos.

Como comparação para isso são apresentados os estágios de desenvolvimento de frutos novos com um diâmetro maior que 1,80 cm (Cap. 3.2.5).

TABELA 6. Quantidade de óvulos e percentagem de fecundação.

Um exemplo para 1) 18 óvulos por fruto

Um exemplo para 2) 24 óvulos por fruto

Percentagem de fecundação		Quantidade de óvulos		Quantidade de sementes arredondadas
		fecundados	não fecundados	
para 1)	90%	16,2	1,8	14
para 2)	90%	21,6	2,4	19
para 1)	80%	14,4	3,6	11
para 2)	80%	19,2	4,8	14
para 1)	70%	12,6	5,4	7
para 2)	70%	16,8	7,2	10

Calculando-se como uma taxa de fecundação indispensável de 70 a 100% para a continuação do desenvolvimento, surge a pergunta em que quantidade de óvulos isto está melhor garantido?

No caso 1 (18 óvulos por fruto) são necessários mais óvulos fecundados para possibilitar a continuação do crescimento do que no caso 2, ou seja, mesmo que no caso 2 não sejam fecundados mais óvulos, em termos absolutos, pode ser obtida uma percentagem de fecundação maior ou igual. Por isto, os frutos com 24 óvulos têm melhores chances para a continuação do crescimento.

A distribuição dos óvulos não fecundados no grupo de controle mostrou que 1 a 4 óvulos não fecundados ocorrem com a mesma frequência; 5 e 6 com a metade deste, enquanto 7 a 9 óvulos não fecundados são ainda menos freqüentes.

As células-mãe do pólen das anteras dos botões novos foram corados com Ácido Carmin Acético e analisadas na fase meiótica (Cap. 2.2).

Através da adição de FeCl_3 , após a fixação tornam-se visíveis as estruturas do núcleo das células-mãe do pólen. Como a coloração não era perfeita, puderam ser encontrados apenas poucos estados de meiose (Fig. 26 e 27).

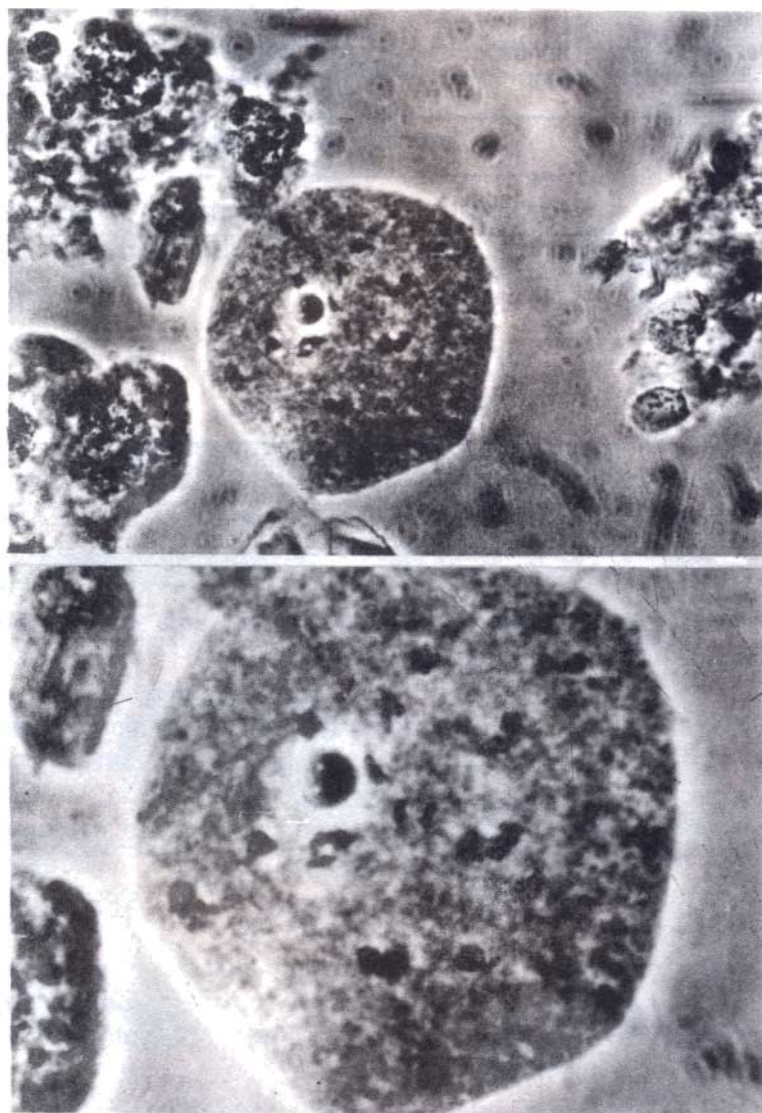


FIG. 26 e 27. Células-mãe do pólen em estado de diacinese.

A avaliação foi efetuada no microscópio de contraste de fases. O número de cromossomos $2n = 34$ pôde ser confirmado com ajuda de diacinese meiótica e de mitose do tapete.

3.2. Fecundação e vingamento

A apresentação do comportamento da fecundação dos pólen dos diferentes cruzamentos seguirá a classificação em onze classes de fecundação (Cap. 2.4).

Na autopolinização foram estudados 275 frutos novos, 75 destes não estavam fecundados ($= 27,3\%$). Frutos que acusassem uma percentagem de fecundação maior que 70%, também não foram encontrados (Fig. 28).

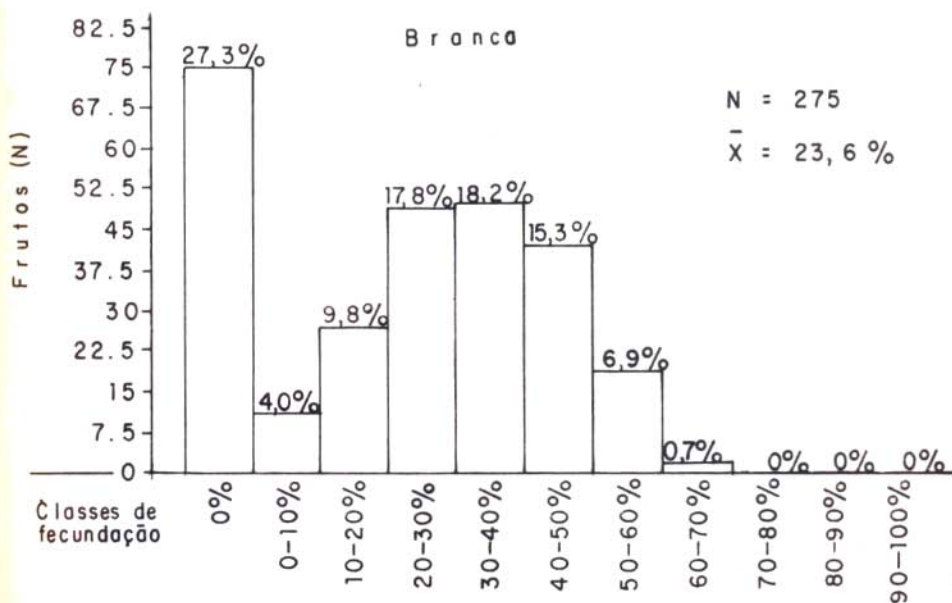


FIG. 28 Influência da autopolinização (clone 609-branca) sobre o vingamento percentual do clone 609.

No segundo cruzamento (alogamia) 609 x M. Pedro I (verde) foram estudados 294 frutos, 7,5% destes estão nas classes de fecundação de 80 a 100% (Fig. 29).

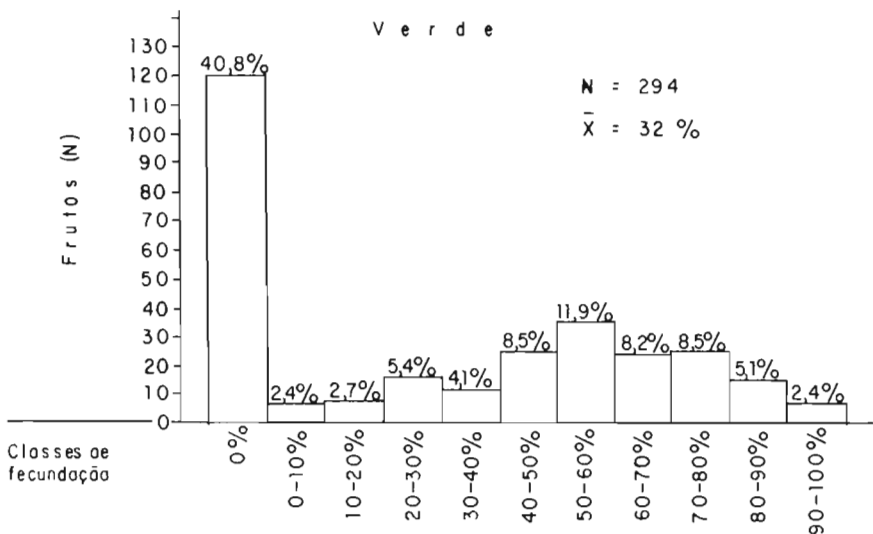


FIG. 29 Influência do pólen do clone M. Pedro I sobre o vingamento percentual do clone 609.

No terceiro cruzamento (alogamia) 609 x 606 (amarelo) foram estudados 271 frutos, dos quais 16,3% estão nas classes de fecundação de 80 a 100% (Fig. 30).

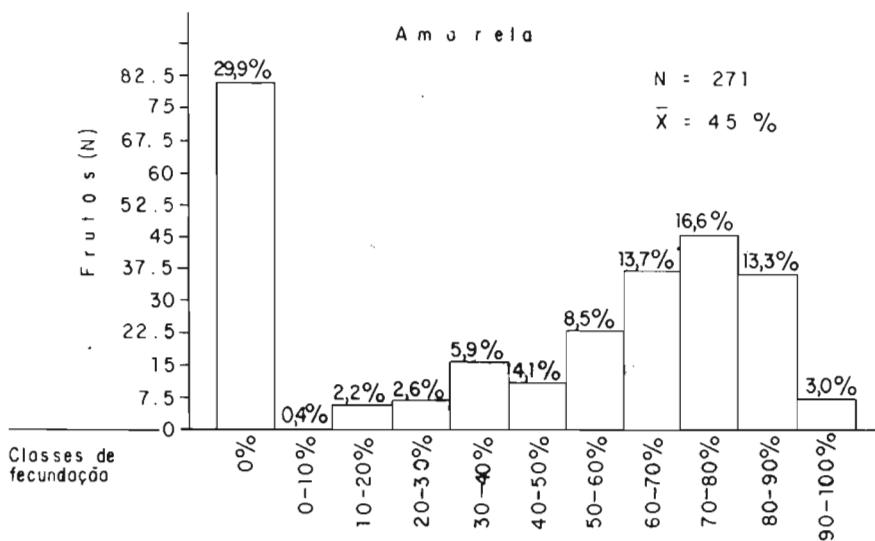


FIG. 30 Influência do pólen do clone 606 sobre o vingamento percentual do clone 609.

No quarto cruzamento (alogamia) 609 x 612 (vermelho) foram estudados 248 frutos, 9,7% destes encontram-se nas classes de fecundação de 80 a 100% (Fig. 31).

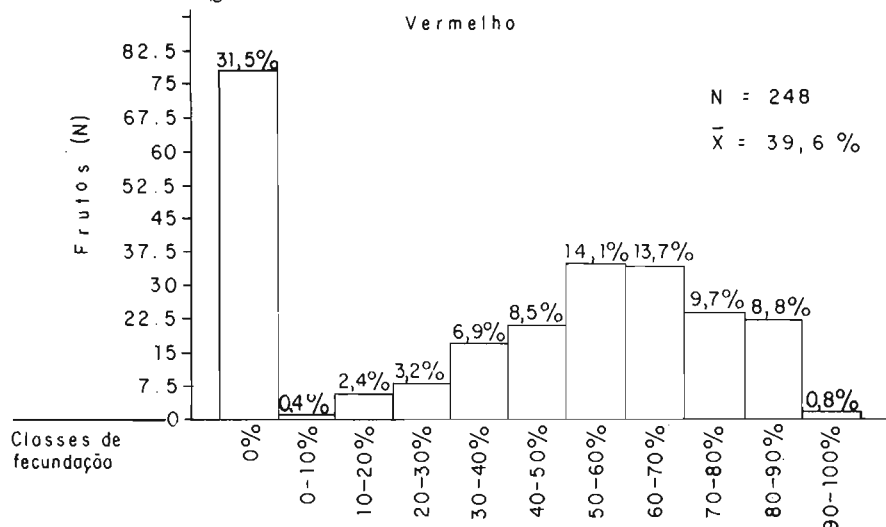


FIG. 31 Influência do pólen do clone 612 sobre o vingamento percentual do clone 609.

No quinto cruzamento (alogamia) 609 x 614 (lilás) foram estudados 311 frutos, destes 8,4% estão nas classes de fecundação de 80 a 100% (Fig. 32).

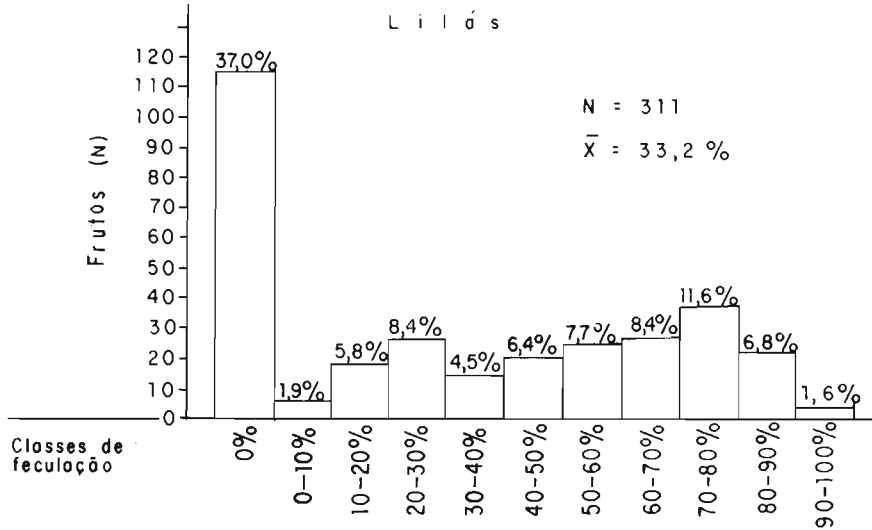


FIG. 32 Influência do pólen do clone 614 sobre o vingamento percentual do clone 609.

No sexto cruzamento (alogamia) 609 x M. Pedro II (azul) foram estudados 241 frutos, 2,5% destes estão nas classes de fecundação de 80 a 100% (Fig. 33).

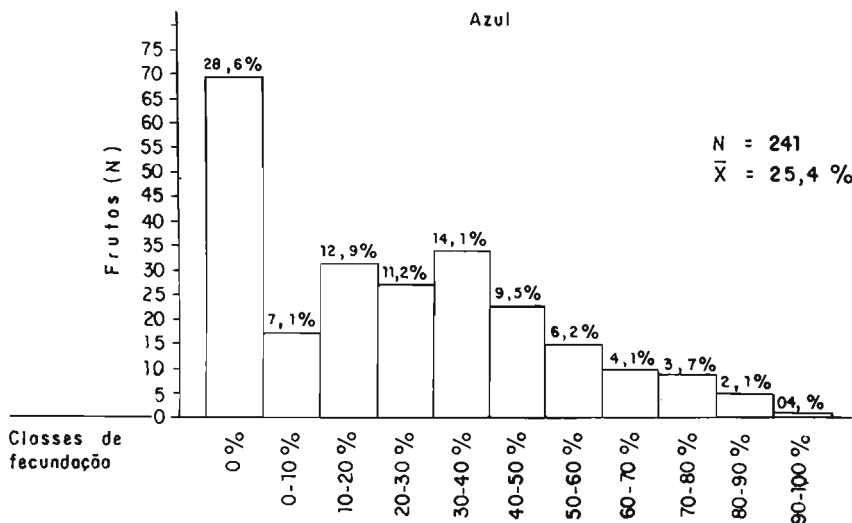


FIG. 33 Influência do pólen do clone M. Pedro II sobre o vingamento do clone 609.

No sétimo cruzamento (alogamia) 609 x Santa Fé I (laranja) foram estudados 278 frutos, destes 6,5% estão nas classes de fecundação de 80 a 100% (Fig. 34).

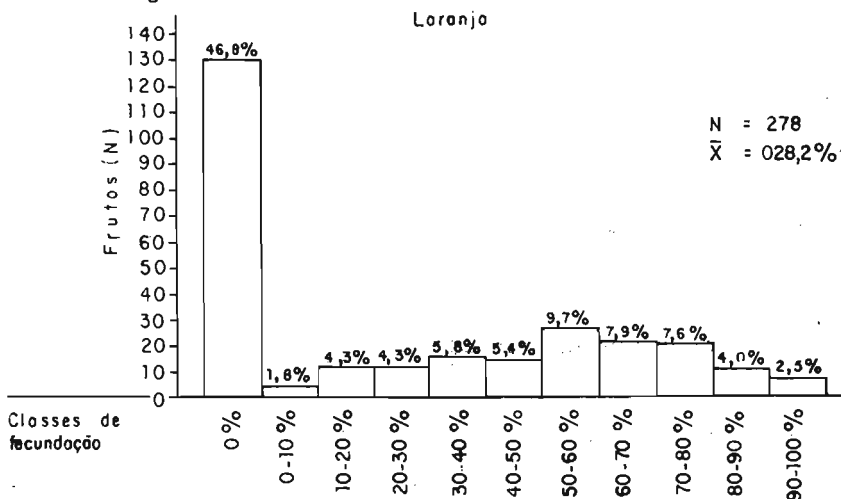


FIG. 34 Influência do pólen do clone Santa Fé I sobre o vingamento percentual do clone 609.

No oitavo cruzamento (alogamia) 609 x Santa Fé II (preto) foram estudados 227 frutos, dos quais só 0,8% estão nas classes de fecundação de 80 a 100% (Fig. 35).

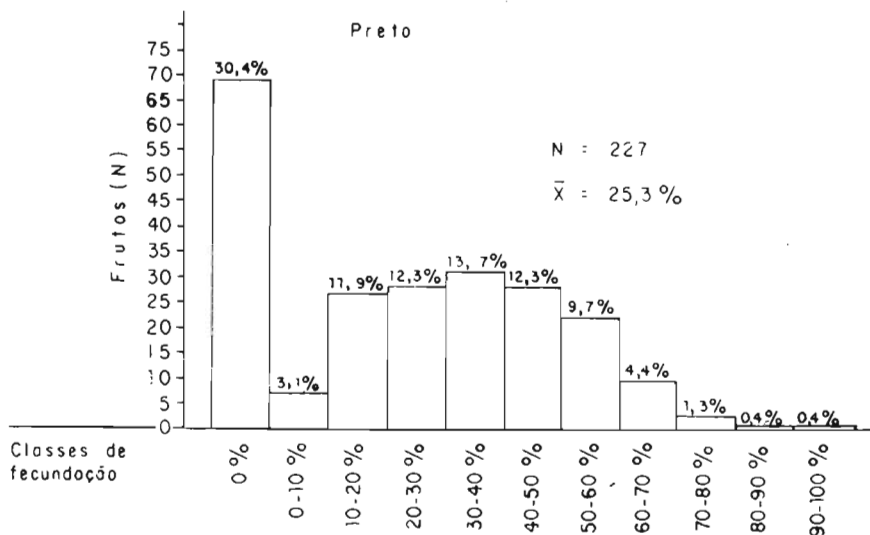


FIG. 35 Influência do pólen do clone Santa Fé II sobre o vingamento percentual do clone 609.

3.2.1. Comparação estatística dos cruzamentos

Os métodos de avaliação estatística apresentados no Capítulo 3.2.4. foram aplicados em todas as amostras. O resultado do teste χ^2 para o cálculo de significância (ele será exposto posteriormente), aplicado a todos os oito cruzamentos, deu como resultado um valor empírico χ^2 igual a 435,22. O valor da tabela χ^2_{70} é 90,53 (nível 5%). Já que o valor empírico χ^2 encontrado é maior do que o valor da tabela, nem todas as amostras (cruzamentos) pertencem a um mesmo universo. A hipótese zero pode ser recusada, já que existem diferenças de fertilização significativas em relação à comparação de todos os cruzamentos.

Para especificar esta avaliação são necessárias outras comparações. O teste é aplicado comparando duas amostragens de cada vez.

3.2.2. Comparação entre dois/três cruzamentos

Para a prova de homogeneidade foram usadas tabelas de dois campos e tabelas de vários campos, respectivamente (Sachs 1978).

Os parâmetros do teste são os seguintes:

$$\chi^2 = n \left[\sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \frac{n_{ij}^2}{n_i n_j} - 1 \right]$$

com $(r - 1) (c - 1)$ graus de liberdade

n = conjunto das amostras

n_{ij} = quantidade de ocupação (freqüência) das linhas i e das colunas j

n_i = soma da linha i = soma - linha

n_j = soma da coluna j = soma - coluna

$n_i n_j$ = produto das somas = soma de linhas e colunas

Como exemplo é apresentada a comparação entre dois cruzamentos:

609 x 606 (amarela) / 609 x 612 (vermelha)

c	r	linhas										
colu- nas	0%	-10%	-20%	-30%	-40%	-50%	-60%	-70%	-80%	-90%	-100%	Σ
606-	82	1	6	7	16	11	23	37	45	36	7	271
612-	78	1	6	8	17	21	35	34	24	22	2	248
	160	2	12	15	33	32	58	71	69	58	9	519

$$\chi^2 = 519 \left[\frac{82^2}{160 \times 271} + \frac{1^2}{2 \times 271} + \frac{6^2}{12 \times 271} + \dots + \frac{22^2}{58 \times 248} + \frac{2^2}{9 \times 248} - 1 \right]$$

$$\chi_{emp}^2 = 18,27 < 18,41 \quad \text{para o nível 5\% (valor da tabela)}$$

O valor empírico é menor que o valor da tabela. Não há diferenças de fecundação significativas.

Na Tabela 7 são apresentados os resultados dos testes χ^2 , juntamente com isso é dada a taxa de fecundação calculada para cada cruzamento. "Não significativo" quer dizer que entre estes cruzamentos não foi encontrada nenhuma diferença de fecundação significativa. "Signifi-

cativo''quer dizer que entre esses cruzamentos foram encontradas diferenças de fecundação significativas. (Resultados pormenorizados do teste de significância no Apêndice II).

TABELA 7. Resultados estatísticos da comparação de dois e três cruzamentos, respectivamente.

Comparação do cruzamento	Taxa de fecundação em % \bar{X}	Resultado do teste de significância
609 x 606	45,0	
com 609 x 612	39,6	<i>não significativo</i>
609 x M. Pedro I	32,0	significativo
609 x 614	33,1	significativo
609 x Sta. Fé I	28,2	significativo
609 x 609	23,6	significativo
609 x 612	39,6	
com 609 x M. Pedro I	32,0	significativo
609 x 614	33,1	significativo
609 x Sta. Fé I	28,2	significativo
609 x M. Pedro II	25,4	significativo
609 x Sta. Fé II	25,3	significativo
609 x 609	23,6	significativo
609 x 614	33,1	
com 609 x Sta. Fé I	28,2	<i>não significativo</i>
609 x Sta. Fé I e M Pedro I	32,0	<i>não significativo</i>
609 x M. Pedro II	25,4	significativo
609 x Sta. Fé II	25,3	significativo
609 x 609	23,6	significativo
609 x M. Pedro II	25,4	
com 609 x M. Pedro I	32,0	significativo
609 x Sta. Fé I	28,2	significativo
609 x Sta. Fé II	25,3	<i>não significativo</i>
609 x 609	23,6	significativo
609 x Sta. Fé II	25,3	
com 609 x M. Pedro I	32,0	significativo
609 x Sta. Fé I	28,2	significativo
609 x 609	23,6	significativo
609 x 609		
com 609 x Sta. Fé I	28,2	significativo
609 x M. Pedro I	32,0	significativo

3.2.3. Relação entre a taxa de fecundação e diâmetro e peso dos frutos novos, respectivamente

Em estudos anteriores (Müller et al. 1980) foi observado que quanto mais alta é a percentagem de fecundação tanto mais tarde caem os frutos novos. O diâmetro e o peso dos frutos caídos prematuramente indicam indiretamente o tempo que eles se desenvolvem na árvore. Frutos com diâmetros maiores e com pesos mais altos permanecem mais tempo na árvore, ou seja, caem mais tarde do que os frutos com diâmetros pequenos e com pesos baixos.

Prescinde-se de uma descrição sobre uma ligação correlativa entre o diâmetro e o peso, já que afirmações significativas neste curto período de observação não poderiam ser feitas.

Todos os frutos estudados dos oito cruzamentos foram distribuídos em diferentes classes de diâmetro e peso. A cada classe foram subordinadas dez classes de fecundação (Fig. 36 a 39). Deve-se considerar, respectivamente, uma classe de diâmetro baixa e uma alta, e uma classe de peso baixa e uma alta.

As Fig. 36 a 39 mostram como varia a ocupação nas classes de fecundação. Para tonar ainda mais explícita esta mudança das percentagens de fecundação foram calculadas as respectivas taxas médias de fecundação (\bar{X}):

Para diâmetros pequenos (Fig. 36) uma taxa de fecundação de 24,8% (\bar{X});

Para diâmetros maiores (Fig. 37) uma taxa de fecundação de 68,6% (\bar{X});

Para pesos baixos (Fig. 38) uma taxa de fecundação de 33,5% (\bar{X});

Para pesos altos (Fig. 39) uma taxa de fecundação de 75,6% (\bar{X}).

Com base nestes resultados, os quais confirmam as observações mencionadas, pode-se concluir que quanto maior o diâmetro, mais alto

é o peso dos frutos novos, e que quanto mais tarde caem os frutos novos, mais alta é a taxa de fecundação.

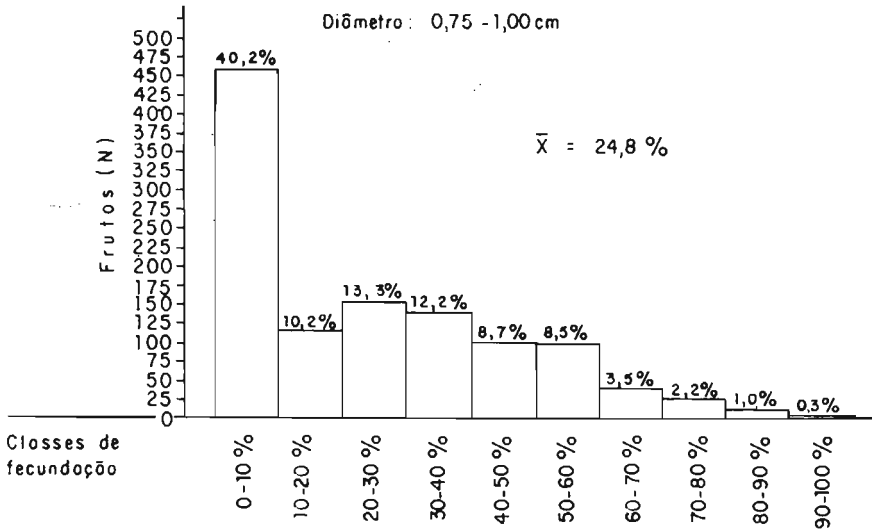


FIG. 36 Fecundação percentual dos frutos novos na classe de diâmetro de 0,75-1,00 cm (diâmetro pequeno).

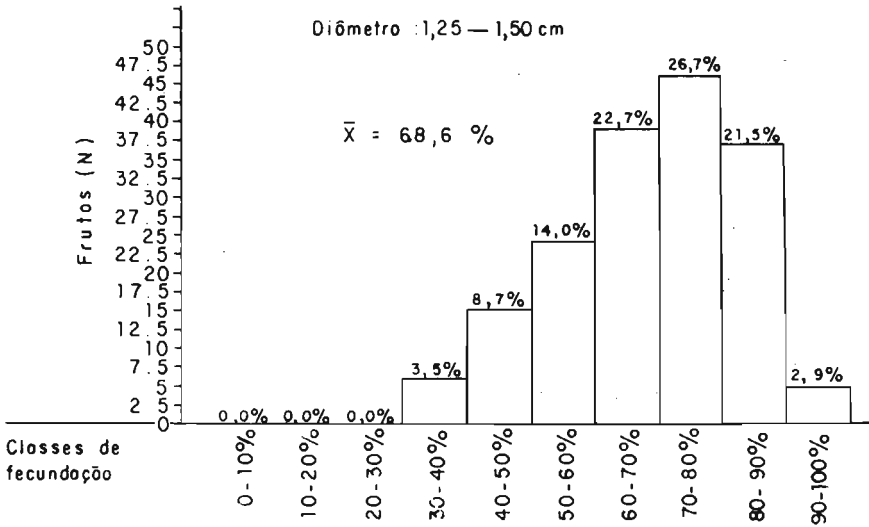


FIG. 37) Fecundação percentual dos frutos novos na classe de diâmetro de 1,25-1,50 cm (diâmetro maior).

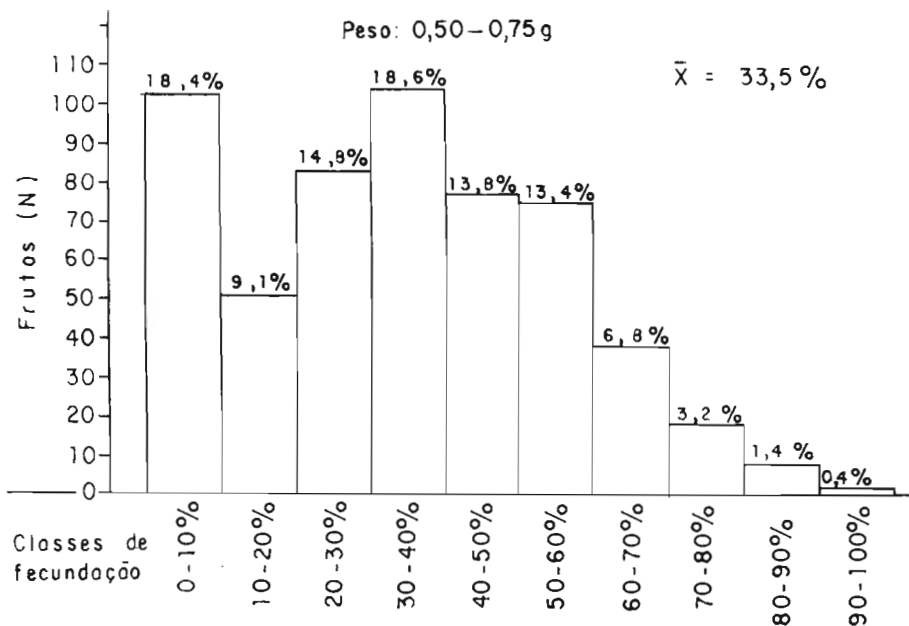


FIG. 38 Fecundação percentual dos frutos novos na classe de peso de 0,50-0,75 g (peso baixo).

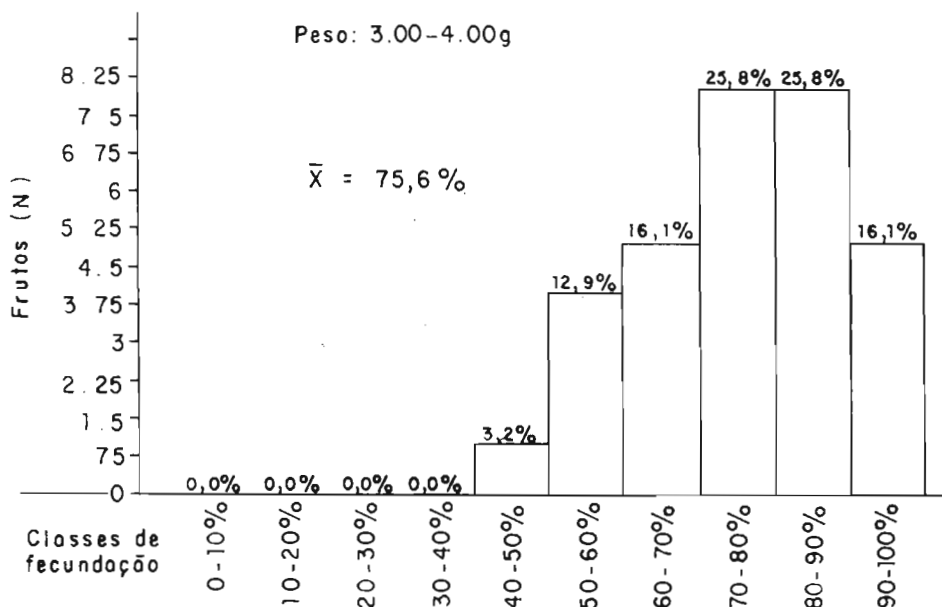


FIG. 39 Fecundação percentual de frutos novos na classe de peso de 3-4 g (peso alto).

3.2.4. Influência da fecundação no crescimento de frutos novos

O diâmetro dos frutos novos indica quando estes caíram (Cap 3.2.3). Com ajuda das classes de diâmetro pôde ser efetuada e exposta, graficamente, uma comparação da taxa de queda e de fecundação (Fig. 40). Para isso foram divididos todos os 2.129 frutos novos caídos em classes de diâmetro. Estas foram subordinadas a onze classes de fecundação (Tabela 8).

TABELA 8. Classificação de todos os frutos caídos por diâmetro e fecundação.

Classe de diâmetro mm	Classes de fecundação											Σ
	0%	-10%	-20%	-30%	-40%	-50%	-60%	-70%	-80%	-90%	-100%	
0 - 100	733	67	146	155	141	133	70	41	25	12	3	1.526
100 - 125	4	2	4	16	41	61	60	58	53	22	5	326
125 - 150	0	0	0	0	7	20	22	40	48	34	5	176
150 - 175	0	0	0	0	1	2	6	12	22	12	7	62
175 - 200	0	0	0	0	0	1	2	5	7	4	1	20
200 - 225	0	0	0	0	0	0	0	3	2	1	2	8
225 - 250	0	0	0	0	0	1	0	2	3	1	2	9
250 - 275	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2
275 - 13000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Σ	737	69	150	171	190	217	160	161	161	86	26	2.129

Para o cálculo de percentagem de queda, o número total de todos os frutos caídos (2.129) foi considerado como 100%, calculando-se a participação percentual das classes diamétrica neste número total (Tab. 9).

Uma questão importante deveria ser encontrar a classe de diâmetro, em que apenas uma pequena quantidade de frutos tivesse caído. A taxa de fecundação encontrada nesta classe permitiria concluir que esta taxa, com grandes probabilidades, seria suficiente para a continuação do crescimento dos frutos novos.

TABELA 9. Cálculo das taxas de queda e fecundação (\bar{X}) por classe diâétrica.

----- valor limite II

Classe de diâmetro em cm	Quantidade de frutos abortados	Porcentagem de frutos abortados	Taxa de fec. em \bar{X} %
até 1,00	1.526	71,68	17,70
>1,00 – 1,25	326	15,31	55,34
>1,25 – 1,50	176	8,27	67,73
>1,50 – 1,75	62	2,91	73,71

>1,75 – 2,00	20	0,94	73,00
>2,00 – 2,25	8	0,38	77,50
>2,25 – 2,50	9	0,42	75,00
>2,50 – 2,75	2	0,09	85,00

Nº total de frutos abortados	2.129	100,00	

Devido a proximidade do término deste trabalho, apenas 16 frutos foram colhidos (Capítulo 4.1.1).

As curvas das taxas de queda e fecundação apresentadas na Fig. 40 mostram-se semelhantes. Na classe de diâmetro >1,75 - 2,00 cm é alcançada o que se chama "saturação". Aí, caem somente 1,82% (39 unidades) dos frutos. Esta baixa porcentagem justifica a hipótese de que frutos cujos diâmetros são maiores do que 1,75 - 2,00 cm, têm grandes probabilidades de continuar se desenvolvendo. Do mesmo modo pode-se concluir que a porcentagem de fecundação de aproximadamente 75% encontrada nessa classe é suficiente para que os zigotos continuem se desenvolvendo até a maturação.

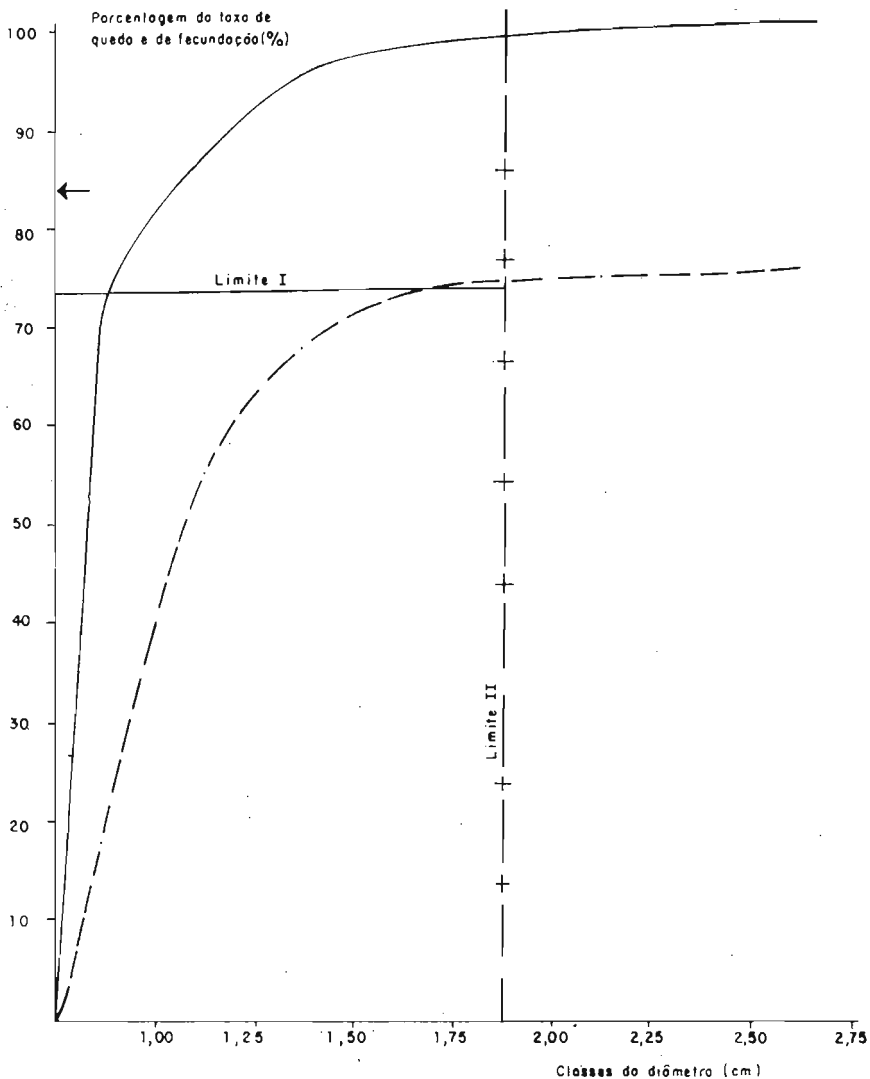


FIG. 40 Representação gráfica da taxa de queda (—) e de fecundação (---) dos frutos caídos prematuramente.

Na classe diamétrica $> 1,75-2,00$ cm foi verificado baixo valor limite II.

(+ — + — +) O baixo valor limite I da taxa de fecundação encontra-se em cerca de 75% (—) (Tabela 9).

A taxa de fecundação 84,50% (\bar{x}) do grupo de controle (←) (Capítulo 4.1.2).

Portanto, pode-se concluir que uma taxa de fecundação de 75 a 100% é suficiente para que o ouriço continue se desenvolvendo. Também, é evidente, que os frutos podem cair mesmo quando estão suficientemente fecundados (alta percentagem).

Como comparação para as taxas de fecundação dos frutos caídos é indicada, na Fig. 40, a taxa de fecundação (\bar{X} = 84,50%) dos frutos que quase com certeza teriam continuado seu desenvolvimento até a maturação (Cap. 3.2.5). Dos fatores que influem na queda se tratará no capítulo 4.2.

Dos 2.129 frutos caídos e examinados, 5,26% (112 unidades) estão nas classes de fecundação de 80 a 100%. O total dos frutos com fecundação acima de 80%, é portanto de 126 (112 frutos caídos mais 14 frutos retirados). Entre estes, 89% caíram prematuramente.

3.2.5. Avaliação de um grupo de controle

Analisou-se um grupo de controle para verificar a frequência nas classes de fecundação e, respectivamente, a taxa de fecundação nos frutos com grande probabilidade de continuar crescendo. Esta observação não é possível em frutos maduros, já que os óvulos degenerados não são mais reconhecíveis.

Portanto, foram colhidos 61 frutos de seis clones, com um diâmetro maior do que 1,80 cm, tendo a maioria com 3 a 5 cm de diâmetro (Fig. 25 e 42).

Na conclusão do trabalho tiveram de ser colhidos frutos novos de três cruzamentos (Cap. 4.1.1). Destes, quatorze frutos de dois cruzamentos (diâmetro > 1,80 cm) foram juntados aos já mencionados, para formar um grupo de controle de 75 frutos. Percentagens de fecundação abaixo de 50% não foram encontradas (Fig. 41).

Para uma melhor comparação é apresentada a ocupação das classes de fecundação em intervalos de 10%.

TABELA 10. Ocupação percentual das classes de fecundação

Classe de fecundação em %	Distribuição percentual
> 50 – 60	2,6
> 60 – 70	7,8
> 70 – 80	14,5
> 80 – 90	42,2
> 90 – 100	32,9

90% dos frutos têm uma taxa de fecundação de 70 – 100%
 10% dos frutos têm uma taxa de fecundação de 50 – 70%
 83% dos frutos têm uma taxa de fecundação de 75 – 100%
 17% dos frutos têm uma taxa de fecundação de 50 – 75%
 75% dos frutos têm uma taxa de fecundação de 80 – 100%
 25% dos frutos têm uma taxa de fecundação de 50 – 80%

A taxa média de fecundação (\bar{X}) do grupo de controle é de 84,50%. A taxa de fecundação determinada por Müller et al. (1980) de 85,30% nos frutos colhidos com um diâmetro maior que 2 cm, é mais ou menos igual à indicada acima.

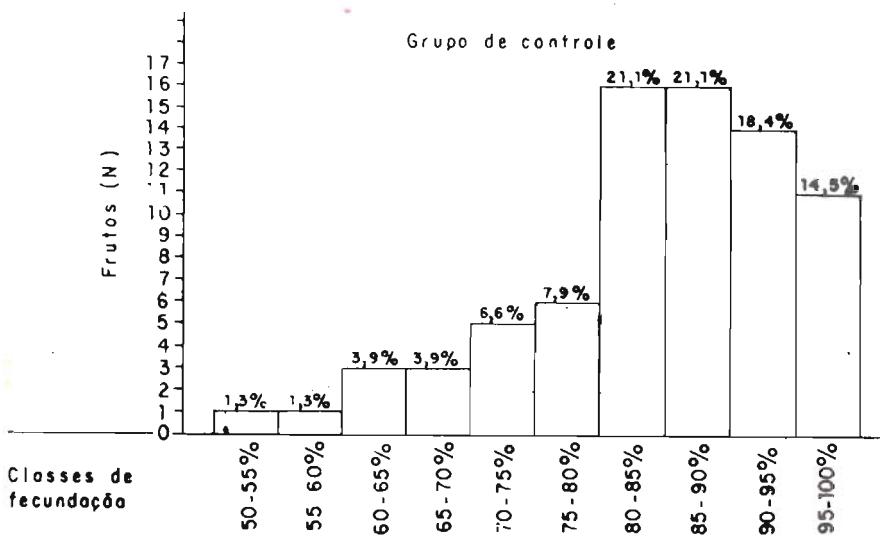


FIG. 41 Ocupação das classes de fecundação do grupo de controle (distribuição das classes em intervalos de 5%).



FIG. 42 Disposição das sementes no fruto novo (grupo de controle).

4. DISCUSSÃO

4.1. Avaliação geral dos resultados

4.1.1. Agrupamento dos cruzamentos

Considerando os resultados obtidos podem ser feitas afirmações sobre o comportamento dos clones doadores de pólen, em relação à planta-mãe do clone 609.

A análise estatística, as taxas médias de fecundação calculadas, a taxa de germinação do pólen, o valor das classes de esterilidade, assim como a ocupação das classes de fecundação de 70 a 100% e de 80 a 100%, respectivamente, foram empregados na comparação dos cruzamentos.

Com base na análise estatística pode ser feito um agrupamento dos cruzamentos. Os grupos distinguem-se entre si pelo comportamento de fertilidade. Os resultados do cruzamento nos grupos correspondentes são semelhantes, ou seja, não foi encontrada nenhuma diferença de fecundação significativa. Uma ordenação dos grupos significativamente distintos foi efetuada com ajuda do valor das taxas de fecundação respectivas.

1. Grupo (taxa de fecundação alta)

Cruzamento do clone 609 com	Taxa de fecundação % \bar{x}	Classe de esterilidade \bar{x}	Taxa de germinação do pólen % \bar{x}	Ocupação percentual das classes de fecundação 70 - 100 e 80 - 100 em %	Quantidade de frutos colhidos
606	45	29,8	87	32,90/16,30	12
612	39,60	31,5	81	19,40/8,40	-

O pólen do clone 606 ofereceu o melhor resultado, embora, segundo a avaliação estatística, este pólen no seu efeito não se diferencie significativamente do pólen do clone 612.

Os dados indicados na Tabela 12 mostram a diferença entre ambos os cruzamentos. Tanto a taxa de fecundação como a ocupação das classes de fecundação mais importantes, diferem consideravelmente, assim, no clone 606 encontra-se 16,3% de todos os frutos estudados nas classes de fecundação de 80 a 100%, enquanto que no clone 612 está só a metade, ou seja, 8,40% nestas classes.

Além disso tiveram que ser colhidos doze frutos do cruzamento 609 x 606 devido ao término do trabalho. E como estes frutos estavam bem desenvolvidos (diâmetro > 1,80 cm, taxa de fecundação média de 80,80%), pode-se concluir que eles teriam se desenvolvido até chegar à maturação (Fig. 43). A quantidade de doze frutos dá como resultado um vingamento de 4,40%. Esta percentagem é dez vezes maior do que nas polinizações naturais (0,4%), através de insetos (Pinheiro & Albuquerque 1968).



FIG. 43. Dois frutos novos do cruzamento 609 x 606 que mais tarde tiveram que ser colhidos.

2. Grupo (taxa de fecundação média)

Tanto a avaliação estatística como o valor das taxas de fecundação respectivas confirmam a homogeneidade. A ocupação da classe de esterilidade é, neste grupo, mais elevada do que em todos os outros cruzamentos

Dentro do grupo pode ser distinguido o comportamento da fecundação do clone 609. A seqüência indicada na Tabela 12 pode ser justificada com ajuda dos critérios de avaliação indicados na mencionada tabela, mais especificamente através da ocupação diferentemente das classes de fecundação.

TABELA 12. Resumo dos dados para a avaliação dos seguintes cruzamentos: Grupo 2 — I — Grupo 3 — I — Grupo 4.

Cruzamento do clone 609 com o clone	Taxa de fecundação em % \bar{x}	Classe de esterilidade em % \bar{x}	Taxa de germinação do pólen em % \bar{x}	Ocupação percentual das classes de fecundação de 70-100 e 80-100%	Quantidade e diâmetro dos frutos colhidos
1) 614	33,20	37,00	55	20,0/8,40	—
2) M. Pedro I	32,00	40,80	67	16,0/7,50	2 < 1,80 cm
3) Sta. Fê I	28,20	46,80	78	14,1/6,50	2 > 4,00 cm

M. Pedro II	25,40	28,60	72	6,2/2,5	—
Sta. Fê II	25,30	20,40	79	2,1/0,8	—

609 (autopolinização)	23,60	27,30	66	não ocupada	

Para 2) Foram colhidos dois frutos. Estes eram pequenos e acusavam uma baixa taxa de fecundação (66%), por isso também não foram incluídos no grupo de controle.

Para 3) Também foram colhidos dois frutos, com um diâmetro de 6,30 e 4,30 cm e um peso de 118 e 46,80 g, respectivamente, e uma taxa de fecundação de 82,60%. Isso dá como resultado um vingamento calculado de 0,7%. (Fig. 44).



FIG. 44 Dois locais de vingamento dos frutos mencionados em 3.

3. Grupo (taxa de fecundação baixa)

Enquanto o segundo grupo ocupa uma posição mediana, o terceiro grupo não mostra bons resultados, embora o valor na classe de esterilidade seja relativamente baixo. Junto ao resultado estatístico os outros critérios indicam também um comportamento de fertilidade semelhante. Apesar disso existem na comparação destes cruzamentos, diferenças na ocupação percentual das classes de fecundação indicadas na Tabela 12, ela é no clone M. Pedro II, três vezes maior do que a do clone Santa Fé. II As classes de fecundação de 70 a 100% são na verdade baixas, no

entanto, ocupadas. As taxas de fecundação são quase tão baixas como nas autopolinizações. Se esta fertilidade reduzida foi causada por um sistema existente de incompatibilidade para o clone 609, ou se ocorre letalidade zigótica, teria que ser investigado em estudos posteriores.

4. Grupo (autopolinização)

Também aqui a classe de esterilidade é pouco ocupada em comparação com o segundo grupo. A taxa de fecundação é baixa, e as classes importantes de fecundação entre 70 a 100% não estão ocupadas.

Nas autopolinizações não foi observado nenhum vingamento, quer dizer, nenhum desenvolvimento do fruto até a maturação. A fecundação de uma parte dos óvulos poderia ser originada através da pseudo-compatibilidade (ou: pseudo-autofertilidade), como em outras espécies alógamas (Kobel 1954).

O resultado da autopolinização pode confirmar a hipótese de C.H. Müller (Müller et al. 1980), de que existe auto-esterilidade. Se esta esterilidade é gametofítica ou se há letalidade zigótica, não pode ser afirmado com os resultados até agora obtidos.

A comparação dos cruzamentos mostra que existem diferenças consideráveis na fertilidade. Este é um resultado importante para novas plantações. Na instalação de plantações ou culturas mistas não podem ser utilizados nos enxertos clones indiscriminadamente escolhidos, mas sim aqueles baseados no comportamento de fertilidade, que mostraram um bom ou um elevado vingamento.

Pelos resultados obtidos, recomenda-se como planta-mãe o clone 609 e como doadores de pólen os clones 606 e 612.

Depois da conclusão do trabalho foram colhidos 16 frutos (Cap. 4.1.1.), quatorze destes teriam se desenvolvido, com alta probabilidade, até frutos maduros. Se estes quatorze frutos fossem considerados como vingamento real do clone 609, em um total de 2.145 frutos estudados (teriam caído 2.131 frutos), isto daria como resultado um vingamento de 0,65%.

Para verificar este resultado, os cruzamentos realizados deveriam ser repetidos com uma outra planta-mãe do clone 609 (seria proposta uma árvore que frutifique bem). Se fossem obtidos resultados melhores ou semelhantes, então deveriam ser testados os clones 606 e 612 como plantas-mãe, e, respectivamente, realizados cruzamentos diallelos com os clones 609, 606 e 612. Se os resultados de fecundação fossem igualmente bons ou semelhantes, estes três clones seriam altamente apropriados para novas plantações (enxertos).

4.1.2. Avaliação da taxa de fecundação

Para a comparação das taxas de fecundação são confrontados e comparados os seguintes agrupamentos:

1. Grupo de controle (Cap. 3.2.5):

Foi formado para mostrar quanto é alta a fecundação nos frutos que teriam se desenvolvido normalmente até frutos maduros; e

2. Grupo de frutos caídos prematuramente (Cap. 3.2.4):

A este grupo pertencem todos os frutos caídos dos oito cruzamentos realizados.

Para o grupo 1

75% dos frutos estudados estão nas classes de fecundação de 80 a 100% e apenas 10% nas classes de 50% a 70%. As classes abaixo de 50% não estão ocupadas e frutos com taxas de fecundação tão baixas teriam caído.

O grupo de controle mostra uma certa variação nas taxas de fecundação, mas está claro que quanto maior a taxa de fecundação, mais alta é a cota total dos frutos examinados, e maior a probabilidade de continuação do crescimento. Nas classes acima de 80% de fecundação, o total dos frutos examinados sobe repentinamente, permitindo concluir que esta percentagem de fecundação assegura a continuação do crescimento.

Para o grupo 2

Já que só poucos frutos com diâmetro maior que 1,75 - 2,00 cm e

uma taxa de fecundação de 75% caíram, este valor pode ser considerado como valor limite I, quer dizer, a probabilidade de tais frutos continuarem se desenvolvendo é muito grande (Fig. 40). Isto também pode ser confirmado através dos valores do grupo de controle. Na classe de fecundação de 70 até 80% encontram-se 14,5% (6,6 e 7,9%) dos frutos examinados. Por conseguinte, pode ser estabelecido o valor limite I de 75%.

A conclusão final de ambos os estudos é a seguinte: uma taxa de fecundação acima de 75% e/ou um diâmetro maior que 1,75 - 2,00 cm (valor limite II) garante, com alta probabilidade, a continuação do crescimento e a maturação dos frutos. A variação de fecundação do grupo de controle mostra, também, que frutos com taxas de fecundação de 50 a 75% podem chegar à maturação. Neste caso, somente se os outros frutos concorrentes acusam igualmente uma taxa de fecundação relativamente baixa. A ocupação baixa das classes de fecundação acima indicadas, mostram que isto acontece muito raramente.

4.1.3. Discussão dos erros

Na avaliação dos distintos cruzamentos foram considerados e comparados todos os valores nas classes indicadas. Desta forma conseguiu-se testar a influência do pólen sobre a planta-mãe do clone 609.

Em seguida serão apresentados outros fatores de influência que puderam ser mantidos constantes ou que variaram em todos os cruzamentos estudados.

1) Nas polinizações se atentou para que sempre fosse aplicado pólen suficiente, no entanto não podem ser excluídas variações.

2) As influências do meio ambiente como temperatura, intensidade de luz, precipitação e vento eram aproximadamente iguais. A maior parte das flores foi polinizada em novembro (não era período de chuvas), em alguns cruzamentos as polinizações se estenderam por dois a três meses.

3) A quantidade e a posição das inflorescências na árvore eram diferentes.

4) Normalmente estendem-se os estiletes para além das anteras — estiletes longos (Cap. 3.1). Mas apareceram também, com relativa frequência, flores com estiletes mais curtos. Estes últimos podem ser divididos em dois grupos:

estiletes {
Curtos { a) Estigmas visíveis pouco acima das anteras
 b) Estigmas da mesma altura ou um pouco abaixo das anteras

A quantidade dos estiletes extremamente curtos (b) foi pequena, mas em alguns cruzamentos foi relativamente alta. E já que as anteras não foram afastadas, pode-se concluir com bastante segurança, que nas polinizações dos estiletes muito curtos ocorreram polinizações involuntárias.

Quando demasiada quantidade de pólen próprio chega ao estigma, implica em impedimento mecânico da germinação do pólen alheio.

5) A perda de frutos novos ocorreu também devido as influências externas (sacos de filó foram rompidos), assim como por ocasião da coleta diária dos frutos.

No total pode-se concluir que erros eventuais (isto é válido também para os trabalhos de laboratório) se distribuíram mais ou menos regularmente durante as experiências, e, portanto, podem ser desprezados.

4.2. Considerações especiais para o vingamento

4.2.1. Influência da planta-mãe sobre o desenvolvimento das flores e frutos novos.

Em seguida são apresentadas e avaliadas as observações feitas durante as polinizações e o desenvolvimento dos frutos novos na planta-mãe (clone 609).

1) As flores em desenvolvimento nos ramos laterais inferiores eram menores do que o normal, em parte com pólen imaturo.

A antese das flores começou de noite e acabou pela manhã. Na tarde do mesmo dia as flores caíram. Baseado nos experimentos de germinação de pólen foi determinada a hora da maturação do pólen. Então devem ser estudadas quais as causas que contribuíram para que estas flores estivessem tão mal desenvolvidas, ou seja, para que o pólen não maturasse.

Em consequência da dominância apical existente, os ramos laterais (botões) poderiam ter sido providos insuficientemente de nutrientes. Este controle apical é comandado pelo hormônio auxina, sintetizado no broto apical. O transporte basipetal das moléculas de auxina para a raiz obstrui a brota dos botões laterais, sendo responsável pela distribuição dos nutrientes, especialmente para os brotos terminais.

A auxina impede a formação dos vasos do tronco para o botão lateral, enquanto que a citocinina estimula a diferenciação dos vasos. Se os vasos não estão desenvolvidos, ou não estão suficientemente desenvolvidos, o transporte dos nutrientes é reduzido. Se os vasos estão desenvolvidos, o transporte dos nutrientes é, provavelmente, restringido por inibidores.

Nos botões laterais, provavelmente, não há falta somente na quantidade de nutrientes, mas também na qualidade destes, quer dizer, faltam as substâncias importantes que são responsáveis pela brotação dos botões laterais. De acordo com os conhecimentos atuais, isso é realmente consequência de insuficiente abastecimento de auxina e citocinina nos brotos laterais. Esse processo ocorre em plantas perenes (árvores) de forma mais complicada e não foi até agora totalmente esclarecido (Kaldewey & Vargar 1972 e Moore 1979).

2) As flores polinizadas mais tarde tinham mais nutrientes à disposição, já que havia poucas flores e frutos novos para abastecer.

3) Durante a floração os frutos velhos estão perto da maturação, e a demanda de nutrientes diminui pouco a pouco, apesar disso há uma certa concorrência no abastecimento dos frutos velhos por um lado, e das flores e frutos novos por outro. A planta-mãe tinha poucos frutos velhos, por isso esta concorrência foi quase totalmente eliminada.

4) Das flores não mexidas, só um fruto se desenvolveu (Fig. 45). Um motivo para esse baixo vingamento pode ter sido uma insuficiente polinização por insetos. No começo do trabalho os insetos visitaram as flores com freqüência. Mais tarde mantiveram-se totalmente afastados (talvez tenham sido perturbados pelos trabalhos de polinização).



FIG. 45. Fruto único das flores polinizadas por insetos (clone 609 com aproximadamente três meses de idade).

Tanto nas polinizações realizadas, como também nas entomofilas, pôde ser observado no desenvolvimento dos frutos novos o seguinte:

a) Os frutos muito pequenos caíram após um a dois dias e os frutos um pouco maiores alguns dias mais tarde; e

b) Outros frutos se desenvolveram até tamanhos consideráveis, e ainda assim caíram (diâmetro de 2 cm e maiores). A causa disso pode ser o mal abastecimento de nutrientes através da planta-mãe, porque pode-se concluir que estes frutos, relativamente bem desenvolvidos, estavam suficientemente fecundados.

Indicação e descrição dos fatores causadores do mal abastecimento de nutrientes. A nutrição da planta-mãe é influenciada pelos seguintes fatores:

a) Constituição do solo

Na floresta virgem as castanheiras crescem sobre solos argilosos ou argilo-silicoso. O solo do campo experimental apresenta bastante concreções lateríticas. Com o tempo formou-se uma camada de húmus coberta por gramíneas. A grama foi roçada e transformou-se em cobertura morta.

Pode-se concluir portanto, que a estrutura do solo do campo experimental difere fortemente da floresta virgem natural.

b) Preparação do solo

A má constituição do solo poderia ser melhorada através de adubação com nitrogênio, fósforo e especialmente potássio (os solos são especialmente pobres em potássio). Se os frutos novos não são abastecidos suficientemente com nitrogênio, eles podem cair prematuramente.

Também nas regiões tropicais foram testadas várias espécies de leguminosas que, com ajuda de microrganismos fixadores de nitrogênio, aumentam o teor de nitrogênio do solo. O cultivo destas leguminosas seria um método de custo reduzido e simples para abastecer as castanheiras com o nitrogênio necessário e para, eventualmente, diminuir a queda dos frutos.

A análise de amostras do solo do campo experimental poderia esclarecer alguns fatores pedológicos (mineralogia, teor de nutrientes, pH)

e a fauna existente. Baseado nestes resultados poderia ser elaborado um plano para o manejo (adubo) e conservação (por exemplo cobertura morta de leguminosas).

Um método para um melhor abastecimento dos frutos novos com assimilados é o anelamento. Retira-se uma faixa de casca e entrecasca sem lesar o câmbio nem a madeira, assim o transporte de assimilados das folhas para as raízes pode ser diminuído.

Se a adubação e o anelamento devem contribuir para melhorar o vingamento, então a escolha do período exato é decisiva para o resultado.

c) O porta-enxerto

Outras árvores do mesmo clone 609 (com semelhante constituição de solo e localização) carregavam muitos frutos novos e velhos (aproximadamente 40 frutos velhos e mais de 40 frutos novos). Estas árvores floresceram porém, um mês e meio antes e foram enxertadas sobre outros porta-enxertos. A indução floral é influenciada com maior ou menor intensidade pelo porta-enxerto, apesar disso, o diâmetro, a profundidade e a ramificação das raízes estão determinados pelo porta-enxerto.

Portanto, um mal abastecimento de nutrientes minerais poderia ser provocado por um sistema radicular insuficiente.

4.2.2. Papel dos fitormônios na queda prematura dos frutos

Frutos caídos prematuramente têm um número baixo ou uma percentagem baixa de sementes desenvolvidas (Crane 1964). O desenvolvimento dos frutos novos depende do número de sementes, já que estes são os centros principais da produção de hormônios (Luckwill & Cutting 1970).

Na base dos pecíolos do fruto e da folha se forma, na zona de abscisão, uma camada divisória que é responsável pelo desligamento dos frutos e folhas, respectivamente. Na formação destas camadas divisórias os hormônios desempenham um papel importante (Kefeli 1978).

Os hormônios fazem com que os nutrientes cheguem aos frutos novos, apesar da concorrência das extremidades dos brotos terminais. Quanto maior é a produção de hormônios, tanto melhor será o abastecimento dos frutos novos com assimilados, minerais e água, através disso pode ser fomentado o crescimento dos frutos até a maturação.

Frutos novos de maçã e pera foram pulverizados com auxina sintética (∞ - Ácido Naftil Acético, ANA). Através disso pôde ser reduzida a queda dos frutos. A auxina obstrui a formação da camada divisória no local do vingamento e mobiliza nutrientes. Os frutos continuam se desenvolvendo. Esta camada divisória é formada quando o teor de auxina na zona de abscisão diminui ou é baixo, e por isso o transporte de nutrientes é reduzido. Nesta zona são acumuladas ligninas e a atividade de celulase aumenta. O hormônio de abscisão (ABA) influi a atividade de celulase, por isso supõe-se que ABA atua como antagonista da auxina e como inibidor do crescimento, ou pelo menos desempenha uma função indireta nestes processos (Kefeli 1978; Kaldewey & Vargar 1972).

Addicot et al. (em Moore 1979) foram os primeiros a isolar este hormônio. Eles analisaram frutos de algodão e acharam uma correlação direta entre o aborto, ou seja, a queda dos frutos novos e o teor de ABA.

Os resultados destes e outros estudos indicam que ABA desempenha uma função na queda dos frutos destas espécies.

Até hoje não foi esclarecido a que ponto o ABA e o etileno influem na queda anual das folhas (ou na queda dos frutos em outras espécies), ou seja, de que forma atuam como fatores de senescência, e o grau de participação de outros hormônios, além da auxina a citocinina e a gibberelina.

Para uma taxa de fecundação suficiente dos óvulos da castanha-do-brasil, a quantidade de auxina que chega ao local de vingamento deve ser suficiente para que não se forme a camada divisória e os frutos novos continuem se desenvolvendo. Isto é válido para frutos com uma taxa de fecundação acima de 80%. Se, todavia, caem os frutos, então isto deve-se ao abastecimento insuficiente de nutrientes (Cap. 4.2.1.). Para uma taxa de fecundação de 75 a 100%, a quantidade de auxina ainda

poderia ser suficiente para obstruir a formação da camada divisória (com um bom abastecimento de nutrientes da planta-mãe). Para taxas de fecundação mais baixas o teor de auxina é insuficiente, a camada divisória é formada, não chegam aos frutos novos nutrientes suficientes e eles caem. Se nenhum óvulo está fecundado, então a auxina e outros hormônios não são sintetizados e, depois que os nutrientes são consumidos, o ovário cai.

4.2.3. Considerações sobre os problemas de fertilidade e esterilidade

Nos capítulos 2.3.2 e 2.3.3. foram feitas afirmações sobre a fertilidade e qualidade do pólen. A hora de maturação do pólen, a sua eficiência, ou seja, a sua vitalidade foi determinada com ajuda de experimentos de germinação de pólen.

Também os óvulos podem ser prejudicados na sua fertilidade e vitalidade, devido as influências do meio ambiente (temperatura, intensidade de luz, umidade e precipitação) e nutrição insuficiente. Com um abastecimento insuficiente de nutrientes os óvulos podem abortar.

Em estudos de diferentes variedades de maçã (polinizadas artificialmente, compatibilidade cruzada) foram encontrados óvulos estéreis de 12 a 45%. Esta esterilidade ontogenética poderia estar condicionada por um lado ao meio ambiente (durante as geadas foram encontrados óvulos estéreis até 78%). Por outro lado, poderia ocorrer uma debilidade genética, causando perturbações no desenvolvimento do saco embrionário (perturbações no arranjo das células ou na determinação do óvulo). Também acontece que uma ou várias células, depois da última divisão se degeneram, isto leva ao que se chama "female sterility" (esterilidade feminina) (Luckwill & Cutting 1970).

Outras perturbações podem ocorrer durante e após a fecundação. O zigoto morre se gens letais se encontram em forma homozigótica. Estes gens em estado heterozigótico são ineficazes e hereditários.

Em espécies alogâmicas (auto-incompatíveis), com grau reduzido de autofecundação, fala-se de pseudo-compatibilidade. Esta depende do meio ambiente e não é fixada geneticamente. Foram encontradas taxas de autofecundação de até 7% no centeio, 15% no milho e 42% no girasol (certa variedade) (Hoffmann et al. 1970 e Kobel 1954).

Sobre os enxertos pode-se dizer o seguinte: o genótipo do porta-enxerto não tem nenhuma influência sobre a auto-esterilidade do enxerto, mas foi constatado que a tendência à pseudo-compatibilidade aumenta após a enxertia. Isto significaria que a enxertia não é um meio para suprimir a incompatibilidade, mas a percentagem de autopolinização pode ser elevada, especialmente nas espécies que não são rigorosamente incompatíveis (Nettancourt 1977).

A auto-esterilidade genética pode ser reduzida ou suprimida junto da pseudo-compatibilidade, através de alelos de compatibilidade existentes ou de um gen majorano para autofertilidade. Por exemplo, se um pólen de beterraba (tipo Beta) contém um alelo S^F dominante, então pode haver autofecundação.

Nas plantas perenes podem ocorrer com o tempo "minimutações" genéticas (terminologia escolhida relativa ao efeito), provocadas pelas influências do meio ambiente, como por exemplo, radiação ou por outros agentes de mutação. Se os gens de esterilidade são facilmente mutáveis, as barreiras da autofecundação poderiam ser vencidas, e com isso ocorrer autopolinizações variáveis.

Mesmo com os estudos realizados até agora sobre a castanha-do-brasil (taxa de fecundação baixa nas autopolinizações), não se pode fazer ainda nenhuma afirmação sobre a existência de esterilidade gametofítica ou letalidade zigótica nos clones estudados.

Pode ser que haja uma série de alelos múltiplos de esterilidade, que levam à polinizações semicompatíveis (por exemplo, o clone A tem um alelo S_1 idêntico a um alelo S_2 diferente em comparação com o clone B — S_1S_3 —, quer dizer, 50% do pólen, no qual o alelo S_2 é ativo, será compatível com o clone B (Nettancourt 1977).

Uma contribuição para futuros esclarecimentos sobre problemas de esterilidade seria a continuação dos cruzamentos e autopolinizações em outros clones, e a comparação com os resultados obtidos até agora.

Influências do meio ambiente e perturbações zigóticas podem ser reduzidas consideravelmente, através de estudos sobre o crescimento do apêndice do pólen dentro do estilete. Isto contribuiria para um melhor esclarecimento sobre o aparecimento de esterilidade gametofítica.

Já que muitas culturas racionais são alógamas, foram estudados os freqüentes mecanismos de incompatibilidade existentes, especialmente no decorrer de melhoramentos genéticos. Estes mecanismos foram determinados geneticamente. Se existem alelos de incompatibilidade idênticas (S_1 , S_2 , etc. . . e Z_1 , Z_2 , etc. . . e outros) no pólen e no estilete, então a germinação do pólen e o crescimento do apêndice do pólen são impedidos e a fecundação não se realiza (Nettancourt 1977). Para o trabalho prático é importante saber como atuam os produtos dos gens sobre os estigmas e estiletos, respectivamente

a) Sistema homomorfo esporofítico

Os produtos protéicos (glicoproteína) dos alelos S são transportados desde o tapete do esporófito diplóide até o grão de pólen imaturo e ali incorporados à exina. No esporófito diplóide podem ser formados produtos de gens de ambos os alelos, isto também acontece no estilete. Através dos alelos dominantes ou epistáticos é determinada a forma de reação do pólen. Se o pólen, geralmente de três células, encontra o estigma "seco" ("dry stigma") a proteína S pode ser expulsa imediatamente da parede externa e inicia a reação de compatibilidade ou incompatibilidade. A reação de pólen compatível com o estigma compatível será a produção de cutina. Isto é uma das reações enzimáticas necessárias. Esta última dissolve uma camada cerosa ou uma película de proteína existente no estigma e o pólen pode germinar e penetrar.

Na reação incompatível este processo não acontece, (isto é o primeiro obstáculo), mas um outro produto é formado: partículas de calose (callose microbodies) ou uma camada de calose, que impede a germinação do pólen.

Alguns estigmas são constituídos heterogeneamente, e devido a efeitos químicos e físicos ocorre uma penetração do pólen germinado. A obstrução ocorre dentro do estigma (Nettancourt 1977).

b) Sistema homomorfo gametofítico

Ocorreria uma obstrução no estigma somente nas gramíneas que também produzem grãos de pólen de três células. As proteínas S são produtos do grão de pólen haplóide de duas células que se encontram

no interior do pólen. Os estigmas são geralmente úmidos (''wet-stigma''), e os pólenes absorvem água e germinam. A obstrução dos apêndices do pólen ocorre na parte superior do estilete.

Sobre o efeito genético, o mecanismo de reação dos produtos de gens e a consequência da interrupção do crescimento existem teorias diversas que não são apresentadas neste trabalho por não contribuírem em seu contexto geral.

A camada interior de calose do apêndice do pólen envia partículas para o citoplasma. Nas reações incompatíveis o ápice do apêndice do pólen enche e rebenta. Forma-se um entupimento de calose, sendo o crescimento interrompido (Nettancourt 1977). A maioria das espécies estudadas segue este controle gametofítico e isto também poderia acontecer com a castanha-do-brasil.

Para obter outros esclarecimentos sobre o sistema de esterilidade atuante, deveriam ser feitos cortes dos estiletos após as polinizações e, deveria ser examinado o crescimento dos apêndices do pólen sob o microscópio. Os entupimentos de calose poderiam ser tingidos por diferentes métodos, mais precisamente com fluorocromos no microscópio de raios ultravioleta (λ 356 $m\mu$; Martin 1958) com azul de anilina ou com outros produtos químicos (Linskens & Esser 1957). Os cortes dos apêndices do pólen com os entupimentos de calose deveriam ser fotografados. Com aplicações os entupimentos poderiam ser contados e comparados com a quantidade de apêndices do pólen em crescimento normal.

Estes estudos deveriam ser realizados nos estiletos de flores autopolinizados e cruzados.

Através da continuação das autopolinizações e polinizações cruzadas, nas quais outros clones atuariam como plantas-mãe, assim como na aplicação dos métodos mencionados sobre o crescimento do apêndice do pólen, podem ser adquiridos melhores conhecimentos sobre sistemas de incompatibilidade existentes.

Para o cultivo racional, ou seja, para a instalação de plantação, deveriam ser encontrados clones que dispusessem de 100% de compatibilidade nas polinizações cruzadas.

5. PROPOSTAS PARA FUTUROS TRABALHOS DE PESQUISA

Os cruzamentos realizados deveriam ser continuados com uma planta-mãe que tivesse boa ou, pelo menos, mediana produção. Para a consideração da taxa de fecundação seria vantajosa uma redução das influências exteriores, como a competição pelos nutrientes por parte dos frutos quase maduros e os novos frutos (flores). Esta influência da competição pode ser considerada como insignificante, quando se procura uma árvore que frutifique bem e que, em conseqüência, indique que está bem abastecida com nutrientes.

Também os outros clones deveriam ser testados como plantas-mãe, mais especialmente aqueles que se mostraram como os melhores doadores de pólen (clones 606 e 612). A maioria das árvores destes clones produziram em 1980/81 poucos frutos velhos e novos, enquanto que a maioria das árvores dos clones seguintes mostrou um vingamento relativamente bom: clone 609, M. Pedro I e II, Santa Fé I e II (Apêndice I).

Para a escolha de plantas-mãe mais apropriadas será necessária uma estatística contínua do rendimento das árvores/clones. Assim poder-se-ia descobrir se o fenômeno da alternância (seqüência de anos da boa colheita e de fracasso) ocorre também na castanha-do-brasil. A alternância se apresenta ou no ritmo: primeiro ano com rendimento muito alto, segundo ano com rendimento mais baixo ou até sem produção ou no ritmo de vários anos: períodos de produção crescente e períodos de produção decrescente. Estas perdas da colheita podem ser condicionadas por influências genéticas ou por influências prejudiciais do meio ambiente (Kobel 1954, Friedrich et al. 1978).

Outras propostas:

a) Estudos dos óvulos degenerados, considerados como não fecundados, para descobrir se estes são efetivamente não fecundados, ou se após a fecundação ocorrem perturbações zigóticas que logo levam ao aborto;

b) Estudos do crescimento do tubo polínico em estiletos curtos e compridos, para obter outros esclarecimentos sobre a eventual presença de sistemas genéticos de esterilidade;

c) Estudos sobre a função e distribuição dos estiletos curtos e compridos (também através de cruzamentos compartivos);

d) Estudos sobre a constituição do pólen e do estigma (maturação do estigma); e

e) Estudos para o melhoramento do baixo vingamento:

a) Aplicação de auxina sintética (ANA)

b) Experimentos de adubação e anelamento

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS É RESUMO

A biologia da floração e o desenvolvimento dos frutos da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) foram apresentados.

As sementes destes frutos são coletadas nas regiões selváticas da Amazônia. A quantidade de castanha-do-brasil exportada diminuiu, consideravelmente, nos últimos anos. Isto é atribuído ao fato de que parte da floresta virgem, e com isso também árvores de castanha-do-brasil, foi queimada e transformada em pastagens. Muitos coletores encontraram trabalhos mais lucrativos que a coleta perigosa dos frutos da castanheira na mata primária.

A queda da produção pode ser impedida somente através de uma proteção eficiente dos castanhais nativos e incentivo à atividade de coleta. Os trabalhos de pesquisa deveriam ser intensificados, e a cultura sistemática com clones selecionados deveria ser iniciada e incentivada. Isto contribuiria para o desenvolvimento e aproveitamento agrícola da região, já que estas plantas estão bem adaptadas ao sistema ecológico local. Por isso devem ser encontrados clones apropriados para os enxertos, visando o desenvolvimento de culturas racionais.

No trabalho em questão foram apresentados dados biológicos da floração. Puderam ser feitas afirmações sobre a distribuição de frequência dos óvulos e lóculos nos ovários de castanha-do-brasil estudados. A taxa dos óvulos encontrados foi comparada com a de frutos maduros.

Os resultados dos oito cruzamentos realizados são um primeiro passo para a seleção de clones com elevada capacidade de rendimento. Com ajuda de métodos estatísticos e outros critérios de avaliação, foram feitas afirmações sobre a influência de clones doadores de pólen sobre o vingamento de uma planta-mãe.

Na comparação dos resultados de cruzamento foi efetuado um agrupamento tendo este um comportamento diferente (bom, médio e mal) de fertilidade em relação ao clone 609 (planta-mãe). A existência destas diferenças consideráveis representa um resultado importante para outras medidas de cultivo racional.

Como resultado parcial foram determinados dois clones doadores de pólen que foram mais apropriados para a polinização do clone 609. A continuação dos cruzamentos pode contribuir para melhorar e entender os resultados em questão.

Pôde ser comprovado que frutos novos, com uma taxa de fecundação dos óvulos de 75% ou mais e/ou um diâmetro de 1,75-2,00 cm ou maior, têm grande probabilidade de continuar crescendo até fruto maduro.

Foram apresentadas influências que podem atuar no desenvolvimento da floração e frutificação e na queda prematura do fruto. Medidas de manejo do solo, especialmente adubação com nitrogênio, podem contribuir para um melhor vingamento. Nas plantações novas é muito importante a escolha de porta-enxertos e de local apropriado (constituição do solo). Um capítulo teórico mostra os mecanismos hormonais que influenciam na queda prematura dos frutos.

Os maus resultados de fecundação da autopolinização e de dois outros cruzamentos constataam que a fertilidade é fortemente afetada. Por isso, foram discutidos problemas de mecanismos de esterilidade. Com base nos presentes resultados, ainda não se pode fazer nenhuma afirmação exata sobre esterilidade fitogamética ou zigótica. Isso acontecerá se os experimentos iniciados tiverem continuação e se forem realizados estudos sobre o comportamento do crescimento do apêndice do pólen, dentro do estilete.

Propostas para a continuação dos trabalhos de pesquisa foram feitas. Uma relação das árvores/clones de castanha-do-brasil do Campo Experimental da EMBRAPA-CPATU, em Belém, fornece informações mais pormenorizadas sobre a época da floração e o vingamento novo e velho 1980/81 (Apêndice I).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, C.P. de. **Castanha-do-pará uma exportação e importância na economia amazônica**. Rio de Janeiro, SIA, 1963.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Diretoria Estadual, Belém, PA. **Castanha-do-brasil; levantamento preliminar**. Belém, 1976.
- CHANDLER, W.H. **Evergreen orchards**. Philadelphia, H. Kimpton, 1958.
- CRANE, J.C. Growth substances in fruit setting and development. **Annu. R. Plant Physiol.**, 15:303-26, 1964.
- ENGLER, A. & PRANTL, K. **Die natürlichen Pflanzenfamilien, III. Teil, 7. Abteilung: Niedenzu, Lecythidaceae**. Leipzig, Verlag W. Engelmann, 1893.
- ENGLER, A. **Das Pflanzenreich IV. 219a**. Leipzig, Verlag W. Engelmann, 1938. n. 105.
- FRANK, H.K. & BETTANCOURT, L. Die Paranuss. **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**, 76:7-11, 1980.
- FRIEDRICH, G.; NEUMANN, D. & VOGL, M. **Physiologie des Obstgewachse**. Berlin, Akademie Verlag, 1978.
- HOFFMANN, W.; MUDRA, A. & PLARRE, W. **Lehrbuch der Züchtung Landwirtschaftlicher Kulturpflanzen**. Paul Parey, Verlag, 1970.
- ITAYGUARA, A. Castanheira: rainha domada. **O Liberal**, Belém, 05 dez. 1980. 1. cad.
- JACOBS, W.P. **Plant hormones and plant development**. Cambridge, Cambridge University, 1979.

- KALDEWEY, H. & VARDAR, Y. **Hormonal regulation in plant growth and development**. Weinheim, Verlag Chemie, 1972.
- KEFELI, V.I. **Natural plant growth inhibitors and phytohormones**. Hague, W. Junk, 1979.
- KOBEL, F. **Lehrbuch des Obstbaus auf physiologischer Grundlage**. Berlin, Springer Verlag, 1954.
- KOWAL, R.F.; SCOTT, A.; MORI, S.A. & KALLUNKI, J.A. Chromosome numbers of Panamanian Lecythidaceae and their Use in Subfamilial Classification. **Brittonia**, 29:399-410, 1977.
- LEITE, E.T. A castanha-do-pará e a racionalização de extrativismo. **Gleba**, Rio de Janeiro, p. 37-9, 1978.
- LINSKENS, H.F. & ESSER, K.L. Über eine spezielle Anfärbung der Pollenschlauche im Griffel und die Zahl der Kallosepfropfen nach Selbstdung und Fremddung. **Naturwissenschaften**, 44, 1-2, 1957.
- LUCKWILL, L.C. & CUTTING, C.V. **Physiology of Tree Crops** New York, Academic, 1970.
- MARTIN, F.W. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. **Stain Technol.**, 34, 1958.
- MOHR, H. & SCHOPFER, P. **Lehrbuch der Pflanzenphysiologie**. Berlin, Springer-Verlag, 1978.
- MOORE, T.C. **Biochemistry and Physiology of Plant Hormones**. Berlin, Springer-Verlag, 1979.
- MORI, S.A.; ORCHARD, J.E. & PRANCE, G.T. Intrafloral Pollen Differential in the New World Lecythidaceae, Subfamily Lecythidoideae. Science Reprint Series, 1980.
- MORI, S.A.; PRANCE, G.T. & BOLTON, A.B. Additional Notes on the Floral Biology of Neotropical Lecythidaceae. **Brittonia**, 30(2):113-30, 1978.
- MÜLLER, C.H. **Castanha-do-brasil; estudos agrônômicos**. Belém, EMBRAPA-CPATU, 1981. 25p. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 1).

- MÜLLER, C.H.; RODRIGUES, I.A.; MÜLLER, A.A. & MÜLLER, N.R.M. **Castanha-do-brasil**; resultados de pesquisa. Belém, EMBRAPA-CPATU, 1980. 25p. (EMBRAPA-CPATU. Miscelânea, 2).
- NETTANCOURT, D. de. **Incompatibility in Angiosperms**. Berlin, Springer-Verlag, 1977. (Monographs on Theoretical and Applied Genetics, 3).
- PINHEIRO, E. & ALBUQUERQUE, M. de. Castanha-do-pará. In: BRASIL. Ministério da Agricultura. **Livro anual da agricultura**. Brasília, 1968, p.225-33.
- PRANCE, G.T. & MORI, S.A. Observations on the Fruits and Seeds of Neotropical Lecythidaceae. **Brittonia**, **30**:21-3, 1978.
- PURSEGLOVE, J.W. **Tropical Crops, Dicotyledons**. London, Longmans, 1976.
- SACHS, L. **Angewandte Statistik, Statistische Methoden und ihre Anwendung**. Berlin, Springer-Verlag, 1978.
- SCHREIBER, W.R. The Amazon Basin, Brazil Nut Industry. **Foreign Agric. Report**, Washington, **4**, 1963.
- SCHUMACHER, R. **Regulierung des Fruchtansatzes**. Stuttgart, Ulmer Verlag, 1965.
- STANLEY, R.G. & LINSKENS, H.F. **Pollen: Biology, Biochemistry, Management**. Berlin, Springer-Verlag, 1974.
- VAUGHAN, J.G. **The Structure and Utilization of Oil Seeds, Lecythidaceae**. London, Chapman and Hall, 1970.
- WOODROOF, J.G. **Tree Nuts: Production, Processing, Products**. Westport, AVI, 1967. v.1.

APÊNDICE I

Relação do Campo Experimental: época de floração e vingamento 1980/81 – Material Alenquer.

Clone 710

Proveniente da região de Piraruacá – Lago do Maria Pixy – Castanhal “São João”, propriedade de Sebastião Matos.

Todas as árvores eram ainda pequenas e não tinham frutos velhos nem novos.

Clone 722

Proveniente da mesma região que o clone 710.

Apenas a segunda e a terceira árvores floresceram. Não foram vistos frutos (árvores muito altas e frondosas).

Clone 612

Proveniente da colônia de Oriximiná – Castanhal “Poução Velho”, propriedade de José Diniz.

Nem todas as árvores floresceram. No total, poucos frutos velhos e novos.

Clone 614

Proveniente da mesma região que os clones 710 e 722.

Apenas cinco árvores floresceram. Em geral, poucos frutos novos e velhos. Somente uma árvore produziu muitos frutos novos. Época de floração: meados de outubro-meados de dezembro.

Clone 606

Proveniente da cidade de Alenquer – Estrada do Aeroporto, propriedade de Rosiel.

Todas as árvores floresceram consideravelmente. Em geral nenhum ou poucos frutos velhos e um pouco mais de frutos novos. Época de floração: fins de outubro-fins de janeiro.

Clone 609

Proveniente da colônia de Oriximiná – Castanhal “Poução Velho”, propriedade de José Diniz.

Estas árvores apresentaram a maior quantidade de flores. Houve grande diferença entre as épocas de floração. Época de floração:

1. fins de outubro-fins de janeiro;
2. Início de setembro-início de dezembro.

As árvores que floresceram tardiamente, apresentaram poucos frutos velhos e novos. As que floresceram cedo, apresentaram muitos frutos velhos e novos (30 a 40 frutos).

Clone M. Pedro I (Porongaba)

Todas as árvores floresceram; algumas carregaram poucos frutos velhos/novos, outras carregaram muitos frutos novos. Os frutos velhos eram difíceis de ver, já que a copa das árvores era muito densa. Aí também ocorreram variações na época de floração:

1. Agosto e início de dezembro;
2. Meados de outubro e meados de dezembro.

Clone M. Pedro II (Rio Mamiã)

Todas as árvores floresceram: Presença freqüente de frutos velhos e novos. Algumas árvores carregaram muitos frutos novos (aprox. 46).

A época de floração foi relativamente a mesma: fins de outubro-janeiro.

Clone Santa Fé I (Alenquer)

Todas as árvores floresceram. Frutos velhos e novos nem sempre foram vistos, já que as árvores são muito altas.

Época de floração mais ou menos homogênea: fins de outubro-dezembro/início de janeiro, algumas até fevereiro.

Clone Santa Fé II (Alenquer)

Todas as árvores floresceram: frutos velhos e novos estavam presentes. Época de floração relativamente homogênea: fins de outubro-fins de dezembro ou de janeiro.

A variação na época de floração e a duração da mesma é esclarecida graficamente na Fig. 21 (época de floração) (Capítulo 3.1.).

APÊNDICE II

Resultados pormenorizados do teste de significância

Comparação dos cruzamentos 609 x	\bar{x} em % taxa de fecundação	χ^2 empírico	χ^2 valor da tabela nível 5%	significativo/não significativo
606 (amarela)	44,98	18,27	18,31	
612 (vermelha)	39,64			não significativo
606 M. Pedro I (verde)	31,97	40,74	18,31	significativo
606 614 (lilás)	33,15	34,16	18,31	significativo
606 Santa Fé I (laranja)	28,17	44,14	18,31	significativo
606 M. Pedro II (azul)	25,39	123,29	18,31	significativo
606 Santa Fé II (preto)	25,33	131,17	18,31	significativo
606 609 (branca)	23,64	209,55	$\frac{2}{3}$ 14,07	significativo

Comparação dos cruzamentos 609 x	\bar{x} em % taxa de fecundação	χ^2 empírico	χ^2 valor da tabela nível 5%	significativo/não significativo
612 (vermelha)	39,64			
M. Pedro I (verde)	31,97	18,67	18,31	significativo
612		26,55	18,31	significativo
614 (lilás)	33,15			
612 Santa Fé I (laranja)	28,71	28,14	18,31	significativo
612 M. Pedro II (azul)	25,39	86,60	18,31	significativo
612 Santa Fé II (preto)	25,33	85,74	18,31	significativo
612 609 (branca)	23,64	154,44	$\frac{2}{7}$ 14,07	significativo
614 (lilás)	33,15	14,31	18,31	não significativo
Santa Fé I (laranja)	28,17			
614 (lilás)	33,15		$\frac{2}{20}$	não significativo
Stan Fé I (laranja)	28,17			
M. Pedro I (verde)	31,97	22,78	31,41	

Comparação dos cruzamentos 609 x	\bar{x} em % taxa de fecundação	χ^2 empírico	χ^2 valor da tabela nível 5%	significativo/não significativo
614 M. Pedro II (azul)	25,39	51,67	$\frac{2}{10}$ 18,31	significativo
614 (lilás) Santa Fé II (preto)	33,15 25,33	65,69	18,31	significativo
614 609 (branca)	23,64	127,81	$\frac{2}{7}$ 14,07	significativo
M. Pedro II (azul) M. Pedro I (verde)	25,39 31,97	71,10	18,31	significativo
M. Pedro II Stan Fé I (laranja)	28,17	64,72	18,31	significativo
M. Pedro II Santa Fé II (preto)	25,33	11,65	18,31	não significativo
609 (branca) M. Pedro II (azul)	23,64 25,39	34,73	14,07	significativo
Santa Fé II (preto) M. Pedro I (verde)	25,33 31,97	71,22	18,31	significativo

Comparação dos cruzamentos 609 x	\bar{x} em % taxa de fecundação	χ^2 empírico	χ^2 valor da tabela nível 5%	significativo/não significativo
Santa Fé II (preto)	25,33	66,76	18,31	significativo
Santa Fé I (laranja)	28,17			
.....				
Santa Fé II 609 (branca)	23,64	19,88	$\frac{2}{7}$ 14,07	significativo
.....				
609 Santa Fé I (laranja)	28,17	132,17	14,07	significativo
.....				
M. Pedro I 609 (branca)	23,64	135,32	$\frac{2}{7}$ 14,07	significativo