

CRUZAMENTO NATURAL DENTRO DA "COVA" DO CAFEEIRO (1) L. C. MÔNACO, A. CARVALHO e HERMINDO ANTUNES FILHO. O conhecimento do mecanismo da reprodução do cafeeiro é de valor na escolha dos métodos de seleção, bem como no estudo da estrutura genética e da dinâmica das populações. O cafeeiro (*Coffea arabica* L.), nas condições de Campinas, apresenta de 7 a 9 por cento de sementes provenientes de polinização cruzada (2). Estas informações foram obtidas empregando o mutante recessivo *cera* (*ce*) (*Coffea arabica* L. var. *cera* KMC) como indicador da taxa de fecundação cruzada. Nestas condições as sementes das plantas *ce ce* terão dois núcleos haplóides do endosperma (*ce*) e outro núcleo fornecido pelo pólen, portador de *Ce*, uma vez que o endosperma é de natureza triploide (3). Nas sementes provenientes da autofecundação o endosperma é de cor amarelada, porém quando o óvulo dessa planta for fertilizado por gameta *Ce*, esse tecido terá a cor verde. Desta forma, devido ao fenômeno de xênia, torna-se fácil a determinação da porcentagem de sementes híbridas no cafeeiro, colocando-se uma planta *ce ce* ladeada por cafeeiros homozigotos para o alelo dominante *Ce*.

Este método, embora bastante prático, tem a desvantagem de ser baseado em um único genótipo. Os mutantes recessivos podem afetar a germinação ou o crescimento do tubo polínico, alterando a taxa de cruzamentos naturais. Observações com outros mutantes mostram que realmente a taxa de fecundação não é a mesma para os diferentes mutantes recessivos, embora os dados não tenham sido obtidos a partir de cafeeiros plantados na mesma população em Campinas. As porcentagens de indivíduos provenientes de polinização cruzada, dentro dos mutantes recessivos empregados, foram os seguintes:

MUTANTE	Fecundação cruzada %
Cera ( <i>ce</i> )	7,0 — 9,0
Purpurascens ( <i>pr</i> )	2,6 — 12,3
Cera-purpurascens ( <i>ce, pr</i> )	8,9 — 20,0
Polyorthotropica ( <i>po</i> )	15,0
Xanthocarpa ( <i>xc</i> )	12,4

Os dados mostram que as informações existentes para um determinado mutante, poderão ser utilizadas, com certas restrições, para representar a frequência de cruzamento entre variedades.

(1) Trabalho apresentado na VIII Reunião da Sociedade Brasileira de Genética, realizada nos dias 10-15 de julho de 1961, em Poços de Caldas. Recebida para publicação em 11 de março de 1963.

(2) CARVALHO, A. & KRUG, C. A. Agentes da polinização da flor do cafeeiro (*Coffea arabica* L.). *Bragantia* 9:111-24. 1949.

(3) KRUG, C. A. & CARVALHO, A. Genetical proof of the existence of coffee endosperm. *Nature* 144:515. 1939.

Sendo as plantações de café, em nossas condições, estabelecidas com quatro plantas por cova e a uma distância de aproximadamente 2,0 a 3,5 metros, seria de interesse conhecer a taxa de cruzamento entre os quatro cafeeiros da mesma cova, afastados de apenas 25 cm um do outro, pois estes elementos seriam de valor para a explicação da variabilidade genética observada em nossos cafêzais. Diferentes taxas de cruzamentos modificariam a estrutura das populações derivadas das plantas das diferentes covas. Os dados obtidos por outros autores sobre a polinização cruzada <sup>(2)</sup> referem-se ao papel desempenhado pelos insetos, vento e gravidade a uma distância de, aproximadamente, 3,0 metros, não se tendo qualquer outra informação da ação destes agentes na polinização de cafeeiros plantados a menor distância.

Segundo Darlington e Mather <sup>(4)</sup>, cada população teria uma frequência ótima em heterozigose. Qualquer desvio deste ótimo, independente da direção, resultaria no rompimento do equilíbrio genético. O controle da segregação e da recombinação, para manter este equilíbrio, se dá através de artifícios que afetam a frequência dos quiasmas e da taxa de polinização cruzada. Procurou-se, no presente trabalho, estabelecer se a taxa de polinização cruzada, determinada anteriormente, representaria um valor máximo ou se poderia ser aumentada pela redução da distância entre os cafeeiros, plantados em covas com quatro plantas.

Nas bordaduras de um dos ensaios de progênies de cafeeiros selecionados da Seção de Genética (EP 28), plantados no espaçamento de 2,0 x 2,5 m, escolheram-se várias covas nas quatro faces do ensaio. Em cada uma das faces foram sorteados, ao acaso, os tratamentos escolhidos. Tomou-se a precaução para que cada série de tratamentos tivesse, em ambos os lados, pelo menos uma linha de café, a fim de que as covas em estudo ficassem completamente cercadas por indivíduos *Ce Ce*. Os itens estudados diferem, dentro da cova, quanto ao número de plantas *cera* (*ce ce*) em relação ao da var. *typica* (*Coffea arabica* L. var. *typica* Cramer), portadoras dos alelos para sementes normais (*Ce Ce*). Assim o tratamento *A* consiste de quatro plantas *cera*, dentro da cova. Este item foi introduzido a fim de servir de testemunha para o grupo de covas com quatro plantas. Os demais tratamentos são os seguintes: *B*, com três plantas *cera* e uma de sementes verdes; *C*, compreendendo dois cafeeiros *ce ce* e dois *Ce Ce*; finalmente, o tratamento *D*, contendo uma planta *cera* e três com os alelos normais. Pode-se observar que entre esses tratamentos, o número de plantas portadoras de polem *Ce*, dentro da cova, aumenta linearmente. Incluiu-se, também, no ensaio, um item *E*, compreendendo uma única planta *cera* na cova, a fim de se terem dados comparáveis com os já obtidos anteriormente <sup>(2)</sup>. A disposição das plantas com sementes amareladas e com sementes verdes, dentro da cova, foi feita ao acaso, para cada repetição.

(4) DARLINGTON, C. D. & MATHER, K. The elements of genetics. London, Allen & Unwin, 1952. 446 p.

O café em cereja de cada planta, dentro da cova, foi colhido, nos anos de 1957, 1958, 1959 e 1960, determinando-se, após o benefício, a quantidade de sementes de côr verde produzida pelas plantas *cera*. Anotou-se, também, a quantidade de sementes dos tipos moça, concha e chato, nos dois grupos de sementes amareladas e verdes, a fim de verificar se haveria um possível efeito do porem *Ce* sôbre a ocorrência desses tipos de sementes.

Notou-se acentuada variação na proporção de sementes de côr verde em relação às sementes amareladas nos vários tratamentos, repetições e mesmo, como seria de se esperar, nos quatro anos estudados (quadro 1).

QUADRO 1. — Porcentagens médias de sementes de côr verde, resultantes de polinização cruzada natural, nos cinco itens, nos anos 1957, 1958, 1959 e 1960 e no período 1957/60, em Campinas

Tratamento	1957	1958	1959	1960	1957/60
	%	%	%	%	%
A .....	7,2	9,8	9,5	10,7	9,3
B .....	9,9	16,0	10,9	11,2	10,5
C .....	6,9	18,8	12,0	18,4	11,6
D .....	9,8	18,8	16,9	23,2	16,0
E .....	8,1	11,3	8,2	9,8	9,1

Verifica-se, por êsse quadro, uma tendência de aumento na proporção de sementes provenientes dos cruzamentos naturais, à medida que se eleva o número de plantas *Ce Ce* dentro da cova. Nos tratamentos com mais de uma planta *cera*, a taxa de cruzamentos é subestimada, uma vez que não se pode detectar os cruzamentos entre os cafeeiros *ce ce*. Os resultados do tratamento *E* (apenas uma planta *ce ce* na cova) revelam a participação do alelo *Ce* proveniente de plantas a uma distância mínima de 2,0 m. Os dados médios obtidos para o tratamento *E* (9,1% de polinização cruzada) mostram que são comparáveis aos de observações anteriores (7 a 9%), pois as porcentagens de sementes oriundas de cruzamentos naturais são praticamente as mesmas.

A influência do ano sôbre a taxa de cruzamentos é grande (quadro 1). Isto se deve a flutuações climáticas por ocasião do florescimento, as quais podem afetar o trabalho dos insetos ou a ação do vento, na polinização. A posição dos cafeeiros, no ensaio, parece ser de importância, tendo-se notado variações no efeito das repetições (diferentes exposições).

Como a proporção de sementes em cada classe é variável, procedeu-se à transformação das porcentagens de fecundação cruzada, em ângulos, cujo arco seno é a raiz quadrada da porcentagem obtida. A análise de

variação dos dados transformados mostram um efeito significativo de tratamentos e de anos. O quadrado médio, para o efeito da posição, embora elevado, não atingiu o nível de significância a 5%. Nenhuma das interações foi positiva.

A fim de determinar a curva que mais se adapta aos dados obtidos, procedeu-se à comparação ortogonal, considerando a influência do número de plantas com sementes de côr verde na frequência de cruzamentos. Verificou-se que o aumento linear do número de plantas de sementes de côr verde (*Ce Ce*) na cova elevou, na mesma proporção, a taxa de cruzamentos naturais nas plantas *cera* dessas mesmas covas. Informações mais precisas sobre a ação dos insetos neste experimento são necessárias, pois parece ser maior dentro da cova do que entre as covas. Embora a distância mínima entre covas seja pequena (2,0 m), foi suficiente para reduzir o trabalho dos insetos. Estes dados estão de acôrdo com os trabalhos de Simpson e Duncan (5), que mostraram que a quantidade de sementes cruzadas de duas variedades de algodão passava de 26%, quando plantadas lado a lado, a 4%, quando distanciadas de 7,5 m. A ação do vento não deve ser grande na polinização dentro da cova do cafeeiro, pois no período de florescimento o ar permanece cheio de pólen, parecendo por isso reduzida sua influência no transporte de pólen das plantas de sementes verdes na cova. A ação da gravidade na polinização é pequena, mas a presença de plantas com sementes verdes muito próximas, na mesma cova, poderia aumentar a taxa de polinização cruzada, uma vez que as determinações anteriores não a levaram em consideração (2). É, pois, razoável admitir que o aumento na taxa de fecundação cruzada, à medida que aumenta o número de plantas com sementes verdes na cova, se deva ao trabalho mais intenso dos insetos e ao efeito da gravidade.

O estudo dos tipos de sementes moca, concha e chato, resultantes principalmente da autofecundação (*cera*) e aquelas de côr verde (*Ce-cece*), provenientes de polinização cruzada (quadro 2), mostra que entre as sementes cruzadas ocorre maior quantidade de sementes moca e menor quantidade de sementes do tipo concha.

Embora o número de sementes verdes seja menor, a tendência é constante, indicando que dificilmente essa variação resulta de um êrro de amostragem.

Os resultados obtidos mostram que a estrutura de populações derivadas de cafeeiros plantados a quatro pés por cova pode ser diferente daquela obtida de covas com uma única planta. Os dados apresentados levam a admitir que as populações derivadas dos campos de multiplicação de sementes de linhagens selecionadas, no geral plantados a 3 e 4 plantas por cova, devem ter maior número de *loci* em estado heterozigoto, devido aos cruzamentos entre genótipos pouco diferentes existentes

(5) SIMPSON, D. M. & DUNCAN, E. N. Cotton pollen dispersal by insects. Agron. J. 48:305-308. 1956.

QUADRO 2. — Percentagens médias de sementes dos tipos moca, concha e chato para as sementes de endosperma *cera* e para as sementes verdes, resultantes de polinização cruzada natural, no período 1957/60, em Campinas

Tratamento	Cera			Verde		
	Moca	Concha	Chato	Moca	Concha	Chato
	%	%	%	%	%	%
A .....	9,8	1,7	88,6	15,0	1,2	83,7
B .....	9,6	1,4	89,0	11,2	0,7	88,1
C .....	7,8	1,7	90,6	9,6	1,4	89,0
D .....	8,7	1,9	89,4	13,0	1,1	85,9
E .....	8,8	1,2	90,0	12,2	1,2	86,6

nas linhagens. Embora a maior parte da variabilidade dentro das progênies selecionadas tenha sido atribuída ao ambiente (6), a taxa de cruzamentos naturais obtida é suficientemente elevada para manter certo nível de heterozigiosidade na população, como tem sido verificado em outras espécies vegetais de constituição semelhante. SEÇÃO DE GENÉTICA, INSTITUTO AGRONÔMICO DO ESTADO DE SÃO PAULO.

#### NATURAL OUTCROSSING AMONG COFFEE TREES IN THE SAME HOLE

##### SUMMARY

The rate of cross-pollination in *Coffea arabica* has been demonstrated to be variable according to the marker used. The following mutants have been tested in Campinas: *cera* (*ce*) 7.0 — 9.0% *purpurascens* (*pr*) 2.6 — 12.3%, *cera-purpurascens* (*ce, pr*) 8.9 — 20.0%, *polyorthotropa* (*po*) 15.0% and *xanthocarpa* (*xc*) 12.4%.

The trial here reported was accomplished in order to study the outcrossing rate among coffee trees planted in the same hole, as coffee is commercially grown in São Paulo. Five treatments were included in a randomized block design. The treatments differed in the proportion of individuals producing yellow or green endosperm per hole: *A* — four individual *cece* (yellow endosperm); *B* — three *cece* and one *cece* (green endosperm); *C* — two *cece* and two *CeCe*; *D* — one *cece* and three *CeCe*. A fifth treatment with a single *cece* plant per hole was included in order to compare the results with those previously obtained.

The rate of outcrossing was found to increase linearly with the increase of *CeCe* individual in the four plant hole. The treatment *D* showed an average of 16.0% of cross pollination. The results for holes with a single *cece* plant confirmed those obtained by other authors (9.1%). Differences were found in the proportions of the various seed types (peaberry, elephant and flat beans) in the green seeds resulting from crossfertilization in comparison with the same seed types of the *cera* type.

The results obtained indicate that a coffee population derived from a plantation with four plants per hole should have a higher genetic variability than previously thought. This information would explain, in part, the success obtained in the breeding program by the pedigree method.

(6) CARVALHO, A., MONACO, L. C. & ANTUNES (filho), H. Melhoramento do cafeeiro XV — Variabilidade observada em progênies de café. *Braçante* 18:373-386. 1959.