

# BRAGANTIA

Boletim Científico do Instituto Agronômico do Estado de S. Paulo

Vol. 22

Campinas, Maio de 1963

N.º 24

## MICROSPOROGÊNESE EM UM HÍBRIDO TRIPLÓIDE DE *COFFEA RACEMOSA* LOUR.

X *C. ARABICA* L. (1)

DIXIER M. MEDINA, engenheiro-agrônomo, Seção de Citologia, Instituto Agronômico

### RESUMO

Um híbrido natural de *Coffea racemosa* Lour. ( $2n=22$ ) e *C. arabica* L. ( $2n=44$ ) apresentou-se com características intermediárias entre as duas espécies e quase completamente estéril. Trata-se de planta triplóide ( $2n=33$ ), na qual se estudou a microsporogênese a fim de comparar com outros híbridos triplóides de *C. arabica* e *C. canephora*.

A frequência dos trivalentes é menor no híbrido com *racemosa* do que no híbrido com *canephora*; por outro lado, os bivalentes são mais frequentes no híbrido com *racemosa*.

Outras particularidades da microsporogênese são apresentadas e discutidas, porém, chega-se à conclusão de que há necessidade do conhecimento citológico e genético de outros híbridos antes que se possa confirmar ou não a posição taxonômica das espécies de café.

### 1 — INTRODUÇÃO

Vários exemplares de *Coffea racemosa* Lour. oriundos de Moçambique e que se achavam em quarentena no Instituto Agronômico, entraram em produção em 1957. Suas sementes foram plantadas pela Seção de Genética e uma das mudas obtidas na progênie da planta n.º 1195-5 chamou a atenção por se diferenciar da planta-mãe e mostrar certa semelhança com híbridos de *C. arabica*. Uma característica dessa planta relaciona-se ao seu florescimento quase contínuo, semelhante ao que ocorre na variedade *semperflorens* de *C. arabica* (5). Podia tratar-se de um híbrido entre as duas espécies, uma vez que os cafeeiros mais próximos à planta 1195-5, e que na ocasião estavam também de quarentena, pertenciam aos cultivares 'Cumbaya' e 'Blue Mountain' (*C. arabica* var. *typica* Cramer), os primeiros vindos do Equador e os últimos da Jamaica.

(1) Recebido para publicação em 8 de fevereiro de 1963.

A espécie *C. arabica* tem  $2n=44$  cromossomos enquanto que *C. racemosa* tem apenas 22. Se a planta em questão fôsse um híbrido natural, deveria ter, provavelmente,  $2n=33$ , uma vez que são triplóides quase todos os híbridos artificialmente obtidos entre *C. arabica* e *C. canephora* e outras espécies diplóides (3, 7).

O presente trabalho tinha em mira verificar o número de cromossomos da planta. Ao se constatar que realmente se tratava de um triplóide ( $2n=33$ ), a pesquisa estendeu-se ao comportamento meiótico, pois que à medida que se avolumam as observações sobre a meiose dos híbridos, torna-se mais clara a afinidade entre as espécies de *Coffea*.

## 2 — MATERIAL E MÉTODO

O estudo da microsporogênese aqui apresentado foi realizado na planta 1195-5-1, cafeeiro de quase cinco anos de idade, plantado no lote 18, pela Seção de Genética.

Ramos com botões em desenvolvimento, postos em água, foram trazidos para o laboratório, onde se colhiam os botões várias vezes por dia; uma vez alcançado o estado desejado, passavam a ser colhidos a intervalos de uma hora e, até mesmo, de meia hora, a fim de se conseguirem os diferentes estágios da meiose.

Fêz-se a fixação em "Carnoy" (3 partes de álcool absoluto para 1 de ácido acético glacial) e, no dia seguinte, o material foi guardado em geladeira, à temperatura de 6 a 8°C, tendo-se antes renovado o fixador. Apesar desta precaução, os botões só se conservaram em bom estado por pouco mais de uma semana.

As anteras foram preparadas pelo processo do esfregaço em carmim acético. Os exames se realizaram em Fotomicroscópio Zeiss. Para as medições de pólen utilizou-se uma ocular micrométrica 7x combinada com objetiva 40x e OPTOVAR 2x, dando para cada divisão da ocular um valor de 2 mícros. Os desenhos foram todos feitos com câmara clara e as fotografias tiradas com o dispositivo apropriado do microscópio em uso.

## 3 — OBSERVAÇÕES

Os estágios iniciais da prófase dificilmente puderam ser observados com detalhes, uma vez que o núcleo se colore muito fracamente pelo carmim acético nesse estado. Havendo maior interêsse nos estágios mais adiantados, não se insistiu na procura de figuras aproveitáveis.

Em diacinese a coloração dos cromossomos já encurtados e contraídos é mais favorável ao exame, tendo-se verificado o pareamento de muitos dêles com formação de trivalentes e bivalentes. Das células observadas, 29 foram interpretadas dando, em média, por célula, 1,0 trivalente, 9,9 bivalentes e 10,3 monovalentes. Em alguns microsporó-

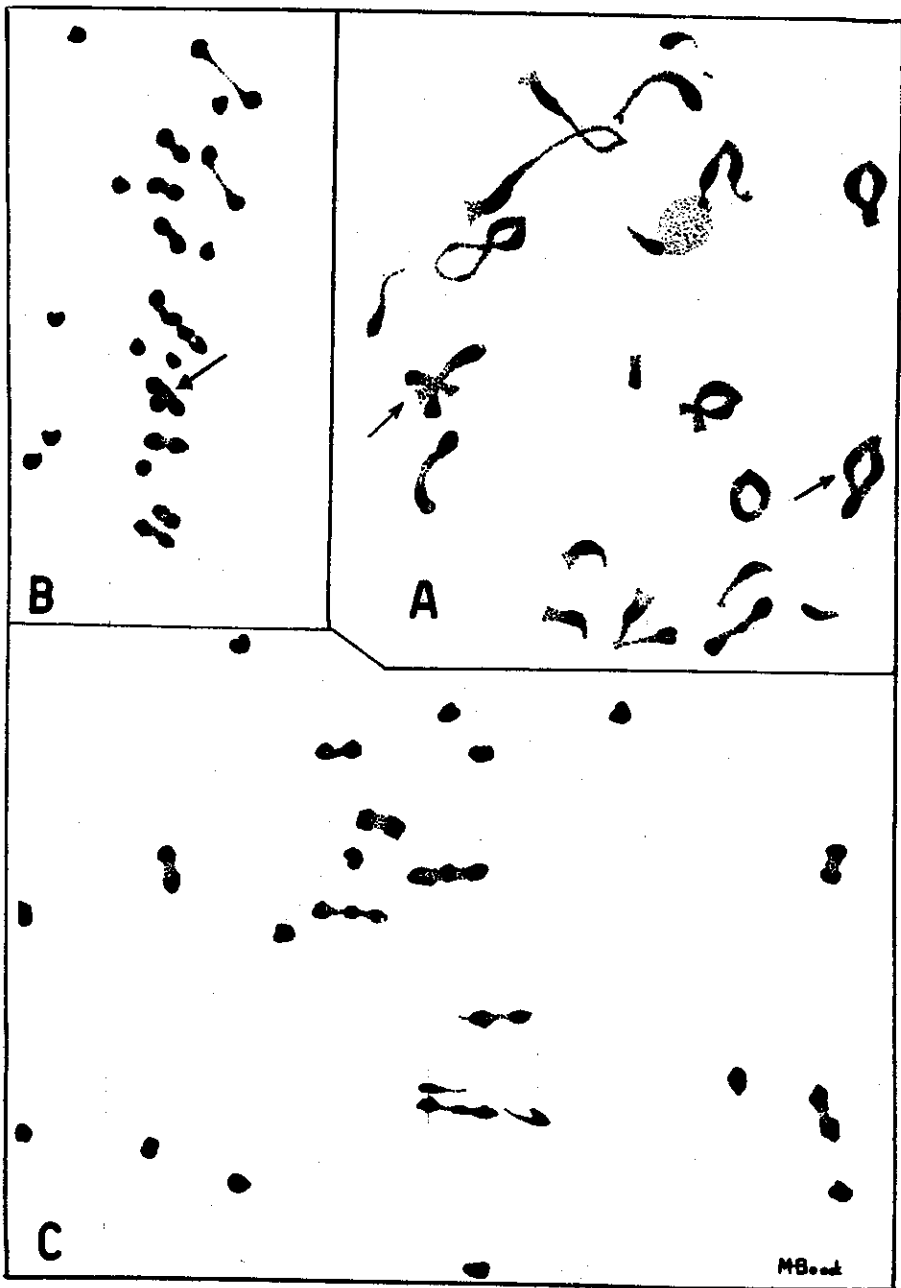


FIGURA 1. — Microsporogênese em *C. racemosa* x *C. arabica*. *A* — Diacinese com dois trivalentes indicados pela setas; x 2.320. *B* — Meta-anáfase com 10 monovalentes; x 1.820. *C* — Meta-anáfase mostrando três bivalentes passando sem se dividir para os polos; x 2.320.

citios chegam a se formar dois e até três trivalentes (quadro 1); a figura 1-A é um exemplo de um microsporócito em diacinese, no qual se contam 2 III, 8 II e 11 I; próximo ao nucléolo já bem reduzido em tamanho, vê-se um dos bivalentes em que ambos os cromossomos mostram claramente o satélite.

Bem mais encurtados apresentam-se os cromossomos na primeira metáfase, quando se localizam mais no centro da célula; neste estado, apesar de bem coloridos, não é fácil analisá-los, razão pela qual as interpretações aqui apresentadas se referem a um estado um pouco mais adiantado, em início de anáfase. No quadro 1 encontram-se também as análises de 87 células em meta-anáfase I e que resultaram em 0,8 III, 9,7 II e 11,3 I, em média por célula. Um exemplo pode ser apreciado na figura 1-B, na qual se vêem: 1 III + 10 II + 10 I.

QUADRO 1. — Tipos e freqüência das associações cromossômicas observadas em diacinese e em meta-anáfase I de *Coffea racemosa* x *C. arabica*

Diacinese			N.º de células	Meta - Anáfase I			N.º de células	
Trivalentes	Bivalentes	Monovalentes		Trivalentes	Bivalentes	Monovalentes		
3	8	8	1	3	8	8	1	
2	10	7	2	2	11	5	2	
2	8	11	1	2	10	7	4	
2	7	13	2	2	9	9	3	
2	6	15	1	2	8	11	2	
1	12	6	5	2	7	13	3	
1	11	8	1	1	12	6	1	
1	10	10	3	1	11	8	1	
1	9	12	3	1	10	10	8	
1	8	14	1	1	9	12	11	
0	13	7	2	1	8	14	8	
0	11	11	2	1	7	16	4	
0	10	13	2	1	6	18	1	
0	9	15	3	0	13	7	6	
...	...	...	...	0	12	9	4	
...	...	...	...	0	11	11	13	
...	...	...	...	0	10	13	9	
...	...	...	...	0	9	15	6	
Total	...	...	29	...	...	...	87	
Média	1,0	9,9	10,3	...	0,8	9,7	11,3	...

Comparando-se os dados obtidos para diacinese com os de metáfase, pode-se dizer que, praticamente, as associações cromossômicas não se desfizeram de um estado para o outro.

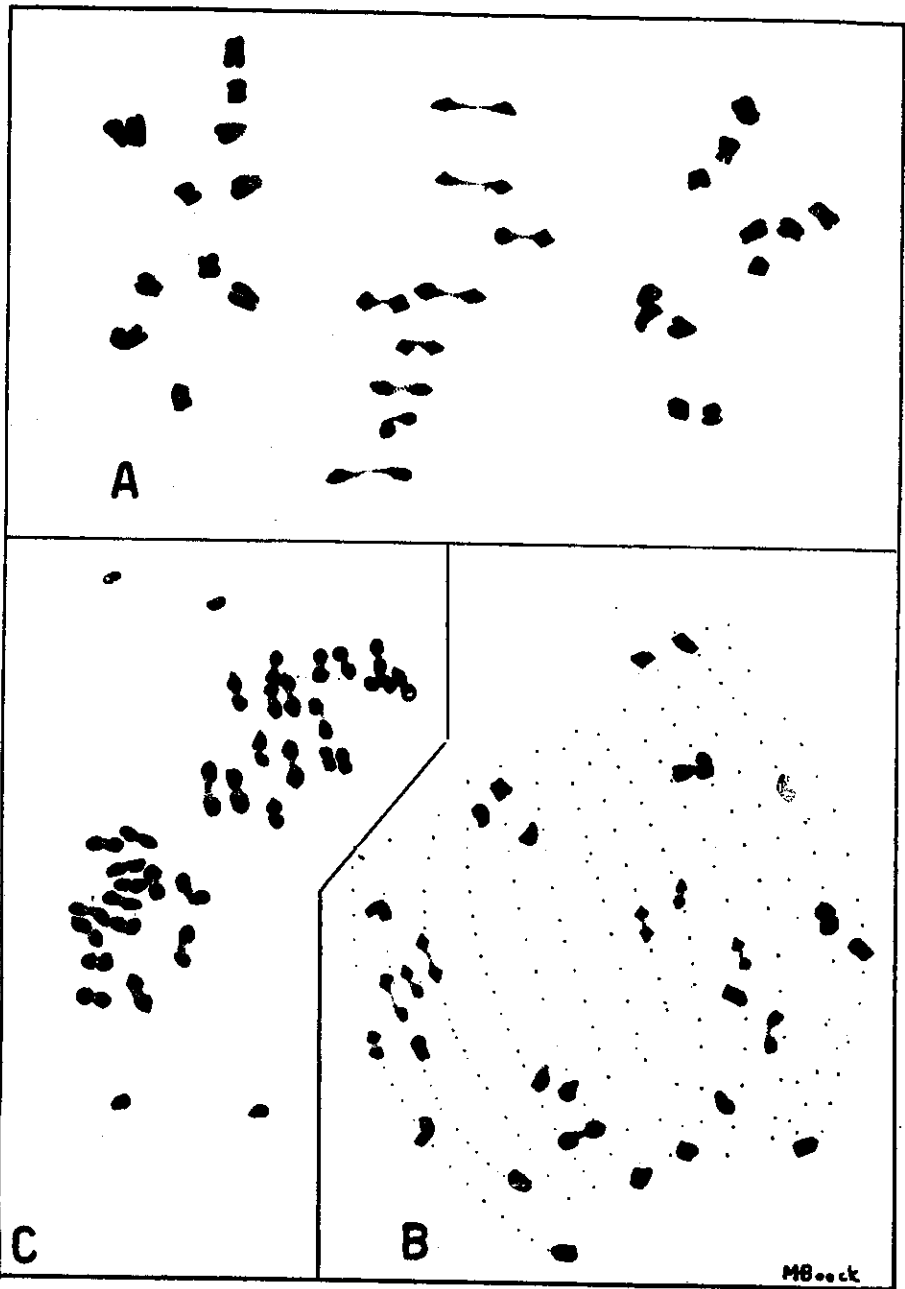


FIGURA 2. — Microsporogênese em *C. racemosa* x *C. arabica*. *A* e *B* — Anáfase I com divisão pré-equacional de nove e de oito monovalentes, respectivamente; *A* x 2.320; *B* x 1.820; *C* — Metáfase II; x 2.320.

A separação dos cromossomos na primeira anáfase processa-se de forma bem irregular: alguns monovalentes se adiantam para os polos, enquanto outros se demoram mais tempo no centro da célula, como acontece com os bivalentes e trivalentes (figuras 1-B e 1-C). A separação dos dois elementos nos bivalentes ocorre normalmente, caminhando cada um para um polo; às vezes, porém, a separação não se dá e êle vai inteiro para um dos polos: nas figuras 1-C e 5-C observam-se três bivalentes dêsse tipo, um de um lado e dois do outro, da separação anafásica.

Foi possível observar, com certa freqüência, monovalentes atrasados na primeira divisão, passando por uma divisão equacional enquanto que os demais já se encontravam em telófase nos respectivos polos; veri-

QUADRO 2. — Observações sôbre a distribuição dos cromossomos para os dois polos e sôbre os "lagers", feitas em 20 células em M II de *Coffea racemosa* x *C. arabica*

Polo 1		"Lagers"		Polo 2	
não divididos	divididos	não divididos	divididos	não divididos	divididos
8	0	0	16	15	4
8	10	0	3	14	9
11	2	0	3	17	5
11	2	0	6	16	4
11	3	0	3	16	6
11	8	0	1	11	13
11	9	0	0	12	11
12	1	0	2	19	1
13	1	4	2	12	5
13	2	0	0	13	12
13	2	1	2	16	2
13	4	0	5	12	7
13	5	1	1	14	4
14	2	0	0	13	10
14	2	0	4	15	2
14	2	2	2	12	6
14	3	0	2	16	1
15	1	0	2	16	1
15	2	0	0	15	4
16	0	0	0	17	0

ficou-se que isso pode acontecer mesmo em plena anáfase: as figuras 2-A, 5-E, 2-B e 5-C ilustram êsse fato, vendo-se nas duas primeiras nove, e nas últimas oito monovalentes assim divididos. Êles se dividem aparentemente na mesma direção e são orientados no próprio fuso da aná-

fase I; em algumas divisões dêsse tipo eram evidentes alguns cromossomos provenientes da divisão pré-equacional de monovalentes, sendo incluídos em um dos polos.

Devido, possivelmente, a essa falta de sincronismo na primeira anáfase, uma parte dos cromossomos se atrasa; é possível que alguns dêles se incluam, mais tarde, em um dos polos, mas, muitas vezes continuam esparsos e desorientados pelo citoplasma. A figura 2-C representa uma segunda metáfase em que dois dêles (que depois formaram quatro cromossomos) permaneceram fora dos polos.

O modo como são repartidos os cromossomos na primeira anáfase pôde ser estudado através de observações de microscopórcitos quer em metáfase II (quadro 2) quer no início da anáfase II em que êles se apresentam divididos mas sem formar ainda os quatro polos (quadro 3).

QUADRO 3. — Número de cromossomos nos dois polos e número de "lagers" observados em A II de *Coffea racemosa* x *C. arabica*. Os cromossomos já estavam divididos mas ainda não separados

Polo 1	"Lagers"	Polo 2	N.º de células
21	4	41	1
22	2	42	1
23	7	36	1
24	5	37	1
24	0	42	1
26	6	34	1
26	0	40	1
27	5	34	1
27	2	37	2
27	1	38	1
27	0	39	1
28	2	36	2
28	1	37	1
29	4	33	1
29	2	35	1
29	0	37	1
30	1	35	1
30	0	36	2
31	1	34	1
32	0	34	2
33	0	33	2

No primeiro caso, 20 células foram interpretadas, verificando-se, em quase tôdas, que uma parte é constituída de cromossomos ainda não divididos e outra de cromossomos divididos; êste súltimos podem ser interpretados como cromossomos mais adiantados, já em anáfase, ou então resultantes da divisão pré-equacional de monovalentes. Seja dito,

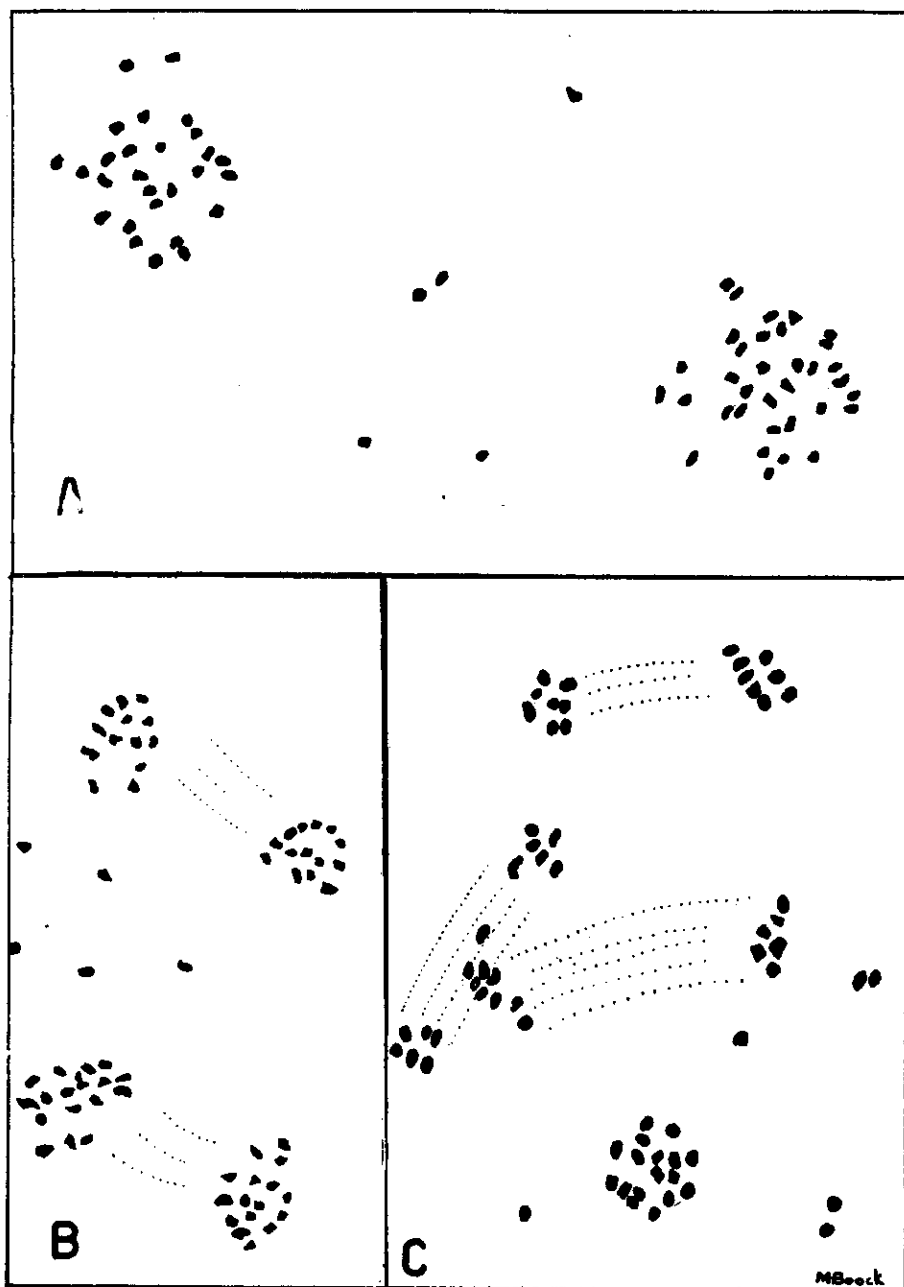


FIGURA 3. — Microsporogênese em *C. racemosa* x *C. arabica*. A a C x 1.440. A — Anáfase II mostrando os cromossomos divididos ainda não separados e cinco deles “lagging” entre os polos da 1.<sup>a</sup> divisão. B — Anáfase II com formação de 13-14 e 16-18 cromossomos nos polos e cinco “lagers” da 1.<sup>a</sup> divisão. C — Anáfase II com formação de sete polos e sete “lagers”.



de passagem, que êles devem ser quase todos produtos da divisão pré-equacional, pois que, mesmo quando se apresentassem um pouco separados, mas houvesse qualquer indício de constituir um par, eram contados como não divididos. Além disso, o número de monovalentes que se dividem equacionalmente na primeira fase da meiose não é, por certo, constante, daí resultando a grande variabilidade na distribuição dos cromossomos observada nas 20 células analisadas.

Nas células em início de anáfase II, todos se apresentavam divididos, os dois polos de cada lado sendo interpretados num só conjunto; a figura 3-A ilustra essa fase que, embora seja uma segunda divisão, presta-se para uma interpretação de como ocorreu a primeira divisão. As 26 células assim estudadas estão presentes no quadro 3.

Para o estudo da separação na primeira anáfase, os dois quadros foram reunidos em um único (quadro 4). A fim de tornar os dados homogêneos, os cromossomos não divididos, mencionados no quadro 3, foram todos considerados divididos.

QUADRO 4. — Tipos de distribuição dos cromossomos na primeira anáfase observados em 46 células de *Coffea racemosa* x *C. arabica*. Reunião das observações dos quadros 2 e 3

Polo 1	"Laggers"	Polo 2	N.º de células	Polo 1	"Laggers"	Polo 2	N.º de células
16	16	34	1	28	4	34	1
21	4	41	1	28	2	36	2
22	2	42	1	28	1	37	1
23	7	36	1	28	0	38	1
24	6	36	1	29	4	33	1
24	5	37	1	29	2	35	1
24	3	39	1	29	0	37	1
24	0	42	1	30	6	30	1
25	3	38	1	30	5	31	1
25	2	39	1	30	4	32	1
26	6	34	1	30	1	35	2
26	3	37	1	30	0	36	3
26	0	40	1	31	3	32	1
27	10	29	1	31	2	33	2
27	5	34	1	31	1	34	1
27	2	37	2	31	0	35	1
27	1	38	1	32	0	34	4
27	0	39	1	33	0	33	2

Cêrca de um terço das células (15 em 46) passou pela divisão reacional sem deixar cromossomos "lagging" entre os polos; o quadro 4 mostra uma variação relativamente grande de número do cromossomos

repartidos para os polos; essas contagens, além disso, comprovam a divisão pré-equacional dos monovalentes, em consequência da qual, números ímpares de cromossomos simples são constantemente encontrados. Embora êsses números sejam prova da divisão pré-equacional, isso não quer dizer que ela não tenha ocorrido também entre aquelas de números pares de cromossomos.

Considerando os 92 polos, em que os cromossomos foram contados (quadro 4), as porcentagens relativas das freqüências das diversas classes podem ser apreciadas na seguinte relação, na qual se observa uma tendência para os números mais próximos de 33:

AGRUPAMENTO CROMOSSÔMICO EM MII	Freqüência	Porcentagem
16	1	1,1
21	1	1,1
22	1	1,1
23	1	1,1
24	4	4,4
25	2	2,2
26	3	3,3
27	6	6,6
28	5	5,5
29	4	4,4
30	9	9,9
31	6	6,6
32	6	6,6
33	7	7,7
34	9	9,9
35	4	4,4
36	7	7,7
37	6	6,6
38	3	3,3
39	3	3,3
40	1	1,1
41	1	1,1
42	2	2,2

A segunda divisão apresenta-se sob os mais variados aspectos, dependendo, naturalmente, das anormalidades ocorridas na primeira; em algumas separações não há cromossomos sobrando, mas são muito raras. Em geral, observam-se cromossomos dispersos pelo citoplasma, alguns provenientes da 1.<sup>a</sup> divisão, outros da 2.<sup>a</sup>. Na maioria dos microsporócitos, formam-se apenas quatro polos, mas ocorrem, também, com cinco ou mais. A distribuição dos cromossomos pelos polos é variável. Na figura 3-B, por exemplo, notam-se 16 — 18 de um lado e 13 — 14 de outro com cinco “lagers” da 1.<sup>a</sup> anáfase. A separação ocorrida no outro polo (16 — 18) — pode ser o resultado de um bivalente que, tendo



passado sem se dividir para um dos polos na 1.<sup>a</sup> divisão, continuou depois com certa dificuldade de separação dos elementos e acabou por se incluir todo em um dos polos da 2.<sup>a</sup> divisão. Outro tipo de distribuição completamente irregular pode ser visto na figura 3-C com formação de sete conjuntos com, respectivamente, 17, 6-8, 6-6 e 8-8 cromossomos além de 7 "lagers".

Das 54 células analisadas, não há duas separações iguais; várias coincidem quanto à separação em dois polos, diferindo, no entanto, nos outros dois (quadro 5). Os "lagers" da segunda divisão variaram desde 1 até 10 cromossomos e somente quatro células se dividiram, sem que cromossomos sobrassem. O número de cromossomos para cada polo, encontrado nos 188 polos, variou desde 9 até 21.

Considerando cada polo em separado, a porcentagem relativa de cada agrupamento cromossômico foi calculada e pode ser vista na seguinte relação:

AGRUPAMENTO CROMOSSÔMICO EM A II	Frequência	Porcentagem
9 .....	2	1,1
10 .....	4	2,2
11 .....	7	3,7
12 .....	10	5,3
13 .....	17	9,0
14 .....	36	19,1
15 .....	43	22,2
16 .....	23	12,2
17 .....	20	10,1
18 .....	12	6,4
19 .....	6	3,2
20 .....	7	3,7
21 .....	1	0,5

A tendência para a distribuição de 13 a 17 cromossomos para os polos é bem acentuada, constituindo 73% dos polos formados.

Na segunda divisão, contagens efetuadas em segundas anáfases e segunda telófases, num total de 184, deram o seguinte resultado:

Microsporócitos s/ "lagers" .....	14	7,6%
Idem c/ lag. só da 1. <sup>a</sup> divisão .....	12	6,5%
Idem c/ " " " 2. <sup>a</sup> " .....	57	30,9%
Idem c/ " " " 1. <sup>a</sup> e 2. <sup>a</sup> divisão .....	101	55,0%

Isso indica que apenas uma parte das células, cuja primeira divisão se efetuou sem cromossomos "lagging", chegou até o final com esse mesmo aspecto, constituindo, em última análise, 7,6% dos microsporócitos.

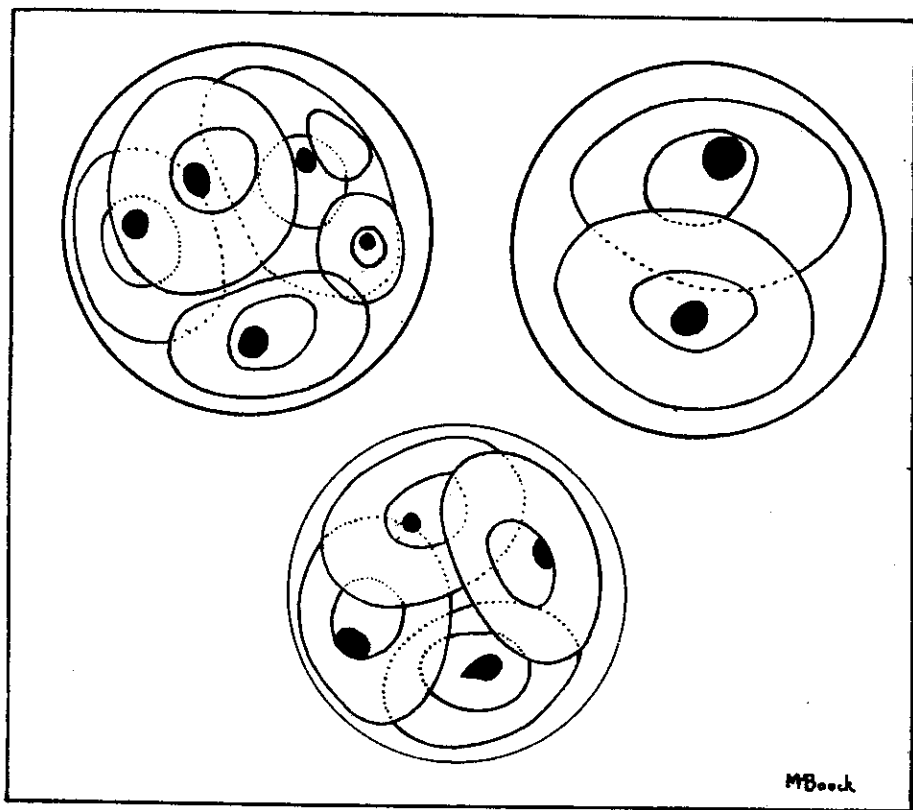


FIGURA 4. — Microsporogênese em *C. recemosa* x *C. arabica*. Exemplos de microsporócitos com cinco micrósporos e um micrócito, quatro micrósporos e 2 micrósporos, respectivamente; x 1.440.

Levando-se em conta que as células sem "lagers" e aquelas com "lagers" só da 2.<sup>a</sup> divisão, observadas em anáfase II e telófase II, representam aquelas sem "lagers" na primeira divisão, a relação acima indica que essas células analisadas passaram pela primeira divisão com 38,5% (7,6 + 30,9) sem perda de cromossomos.

Dos cromossomos esparsos pelo citoplasma é possível que alguns desapareçam; muitos deles, porém, dão formação a micrócitos com diminuta porção de citoplasma. As "tetrades" se apresentam com 2 a 7 micrósporos, cada um desses tipos podendo ainda conter um ou mais micrócitos; três exemplos podem ser observados na figura 4. Numa contagem dos tipos de "tetrades", efetuada em cinco botões, utilizando-se três anteras de cada um, encontrou-se uma porcentagem média de 64,3% de "tetrades" com quatro micrósporos (quadro 6).

QUADRO 6. — Número de micrósporos encontrados nas "tetrades" de cinco botões de *Coffea racemosa* x *C. arabica*

Tipos de "tetrad"	Número do botão					Total
	1	2	3	4	5	
cf 1 micrósporo .....	1	0	0	1	0	2
cf 2 micrósporos .....	2	2	4	5	1	14
cf 2 " + micrócitos .....	0	1	9	0	1	11
cf 3 " .....	2	1	2	0	0	7
cf 4 " .....	94	104	140	144	120	602
cf 4 " + micrócitos (1 a 4) ...	47	75	48	60	58	288
cf 5 " .....	1	0	0	0	1	2
cf 5 " + micrócitos .....	0	0	1	2	2	5
cf 6 " .....	0	0	1	1	1	3
cf 6 " + micrócitos .....	0	0	0	1	0	1
cf 7 " .....	0	0	0	0	1	1
Total .....	147	183	205	216	185	936
Porcentagem de "tetrades" com 4 micrósporos .....	63,9%	56,8%	68,3%	66,7%	64,8%	64,3%

#### 4 — PÓLEN

Logo ao primeiro exame das lâminas, nota-se a grande variabilidade do aspecto do pólen: uma parte dos grãos se colore normalmente pelo carmim acético, outra parte sendo constituída por grãos vazios de citoplasma. Além disso, entre os coloridos é bem visível a diferença de tamanho, encontrando-se desde grãos gigantes até grãos minúsculos (figura 5-F).

Numa avaliação da quantidade de grãos vazios feita em cinco flôres, cada lâmina preparada com as cinco anteras da flor, obteve-se 56,8% de grãos vazios, de acôrdo com o quadro 7.

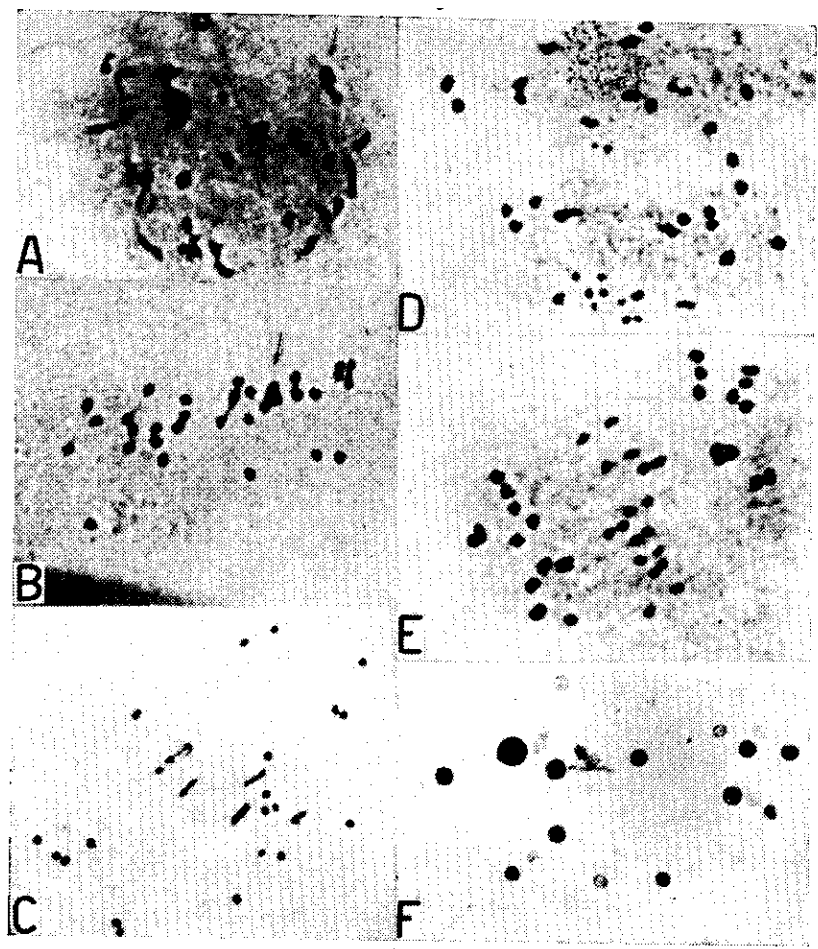


FIGURA 5. — Microfotografias de algumas fases da microsporogênese em *Coffea racemosa* x *Coffea arabica*. A — Diacinese com dois trivalentes indicados pelas setas; x 1.046. B — Meta-anáfase I onde se vê um trivalente, indicado pela seta; 1.046. C — Anáfase I mostrando três bivalentes passando sem se dividir para os polos; x 828. D e E — Anáfase I com divisão pré-equacional de oito e nove monovalentes, respectivamente; D x 1.060; E x 1.046. F — Pólen, mostrando a variação no aspecto e no tamanho; x 63.

QUADRO 7. — Contagem de grãos de pólen cheios e vazios em cinco flôres de *Coffea racemosa* x *C. arabica*

Número da flôr	Grão de pólen cheio	Grão de pólen vazio	Porcentagem de grãos vazios
	n.º	n.º	
1 .....	250	230	48%
2 .....	190	240	56%
3 .....	155	240	71%
4 .....	170	245	60%
5 .....	140	230	72%
Total .....	905	1 185	.....
Média .....	.....	.....	56,8%

QUADRO 8. — Medições de 200 grãos de pólen de cinco flôres de *Coffea racemosa* x *C. arabica*. Cada divisão da ocular corresponde a 2 micros

Tamanho do pólen em divisões da ocular	Número da flôr					Total
	1	2	3	4	5	
12 .....	2	1				3
13 .....	1	2	1	3	4	11
14 .....	4	8	1	11	7	31
15 .....	12	12	5	11	7	47
16 .....	7	5	11	3	7	33
17 .....	3	4	8	4	1	20
18 .....	6	0	5	2	1	14
19 .....	0	0	5	1	0	6
20 .....	0	0	1	1	1	3
21 .....	0	1	0	2	2	5
22 .....	1	4	0	1	3	9
23 .....	1	1	0	1	3	6
24 .....	1	1	1	0	2	5
25 .....	2	0	0	0	2	4
26 .....	0	1	1	0	0	2
27 .....	0	0	1	0	0	1
Total .....	40	40	40	40	40	200
Tamanho médio .....	16,6	16,3	17,4	15,8	17,4	17,26



Para as medições do pólen, as mesmas cinco lâminas acima referidas foram utilizadas. Em cada uma delas, correspondendo, portanto, a uma flor, foram medidos 40 grãos de pólen, escolhidos entre os cheios; os resultados dessas medições encontram-se no quadro 8.

As dimensões médias do pólen, em mícros, para cada flor, com os respectivos valores extremos encontrados, podem ser observadas na relação seguinte:

NÚMERO DA FLOR	Tamanho médio do pólen, em mícros	Valôres extremos encontrados
1 .....	33,2	24 — 50
2 .....	32,6	26 — 52
3 .....	34,8	28 — 58
4 .....	31,6	26 — 46
5 .....	34,8	26 — 50

Como se vê no quadro 8, a maior parte do pólen, 156 dos 200 medidos (78%), tem dimensão variando de 26 a 36 mícros.

Lembrando que cêrca de 73% dos agrupamentos cromossômicos distribuídos pelos polos são constituídos de 13 a 17 cromossomos, é admissível realcionar-se o tamanho do pólen com o seu conteúdo cromossômico: assim, os grãos de pólen medindo de 26 a 36 mícros teriam, provavelmente, de 13 a 17 cromossomos; o pólen gigante encontrado (50 a 58 mícros), teria, possivelmente, 20 ou 21 cromossomos e talvez que alguns dêles correspondam aos encontrados nas diades observadas entre as "tetrades".

## 5 — DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O número de cromossomos de *C. racemosa* havia sido determinado há anos atrás em exemplares da coleção da Seção de Genética (9). Se bem que plantas com outros números de cromossomos possam resultar de uma hibridação  $2n=22 \times 2n=44$  (7), o número mais provável esperado era  $2n=33$ .

Tendo-se verificado que na realidade a planta estudada possui  $2n=33$  cromossomos, pode-se supor que se trata de uma hibridação natural, possivelmente entre *C. racemosa* e *C. arabica* var. *typica*; a planta fornecedora de pólen tem grande probabilidade de ser uma do cultivar 'Blue Mountain' que ali se encontrava com maior número de plantas.

Comparando-se os resultados das associações cromossômicas encontradas para um híbrido triplóide entre *C. canephora* e *C. arabica* (4) e os do híbrido aqui apresentado, observa-se menor número de trivalentes no segundo híbrido do que no anteriormente descrito; em relação aos bivalentes, porém, dá-se o contrário: seu número é maior no híbrido com *C. racemosa* (quadro 9).

QUADRO 9. — Comparação entre as associações cromossômicas encontradas na meiose de dois híbridos triplóides de *Coffea*

Hibridação	Diacinese			Metáfase		
	Trival.	Bival.	Unival.	Trival.	Bival.	Unival.
<i>C. canephora</i> x <i>C. arabica</i> .....	2,0	7,3	12,4	2,6	5,4	14,4
<i>C. racemosa</i> x <i>C. arabica</i> .....	1,0	9,9	10,3	0,8	9,7	11,3

A meiose da variedade monosperma de *C. arabica* (8) revelou que há formação de 1,9 bivalentes, em média, por célula, nessa forma di-haplóide de *C. arabica*.

Se admitirmos que apenas os trivalentes indicam pareamento entre as espécies *racemosa* e *canephora* com a espécie *arabica*, teremos a conclusão de que existe menor afinidade entre *racemosa* e *arabica* do que entre *canephora* e *arabica*. Isto estaria de acordo com a posição sistemática que coloca a espécie *racemosa* na seção *Mozambicoffea*, enquanto que as outras duas pertencem à seção *Eucoffea* (1). Mas para isso teríamos que considerar, então, que todos os bivalentes encontrados (quadro 9) são resultantes da autosinapse dentro de cada uma das espécies envolvidas, o que não se coaduna bem com o que já foi obtido (10) na variedade monosperma.

Por outro lado, se considerarmos o conjunto “trivalentes + bivalentes”, encontrado na metáfase dos dois híbridos em questão, como indicação do pareamento entre as espécies, a conclusão se inverte, encontrando-se mais pareamento no híbrido *racemosa* × *arabica* ( $0,8 + 9,7 = 10,5$ ) que no *canephora* × *arabica* ( $2,6 + 5,4 = 8$ ).

Difícil, depois, tirar uma conclusão definitiva, uma vez que os elementos são ainda escassos. Para tal seria necessário que se conhecesse o comportamento de um maior número de híbridos interespecíficos. O estudo da morfologia dos cromossomos meióticos das espécies envolvidas no cruzamento, bem como dos cromossomos dos híbridos, seria de grande valor para melhor esclarecer sobre a afinidade entre as espécies.

Quanto às 54 células analisadas na 2.<sup>a</sup> divisão (quadro 5), quatro não apresentavam “lagers”; a porcentagem (7,5%) foi praticamente a mesma (7,6%) encontrada, quando se realizou apenas a contagem dos microsporócitos com e sem “lagers”. Daí pode-se concluir que os tipos de distribuição dos cromossomos pelos polos, apresentados no quadro 5, constituem uma amostra representativa do processo.

A alta porcentagem de “tetrades” com apenas quatro micrósporos (64,3%) leva a crer que elas são resultantes não só dos microsporócitos

sem "lagers" (7,6%) como também daquêles que se apresentam com "lagers" na segunda divisão. Para isso tem-se que admitir: a) que os cromossomos esparsos se perdem de alguma forma pelo citoplasma e não chegam a formar micrócitos ou b) que êsses cromossomos são incluídos novamente em alguns dos quatro núcleos. Se bem que uma suposição não exclua a outra, a primeira parece ser mais provável, uma vez que é muito comum se observar cromossomos perdidos pelo citoplasma, enquanto os núcleos filhos estão avançados na telófase.

O pólen tem uma dimensão média de 34,5 microns, superior portanto, ao do híbrido entre *C. canephora* e *C. arabica* (4). Sua variação é menor, comparando-se perfeitamente à encontrada nas variedades hexa- e octoplóides de *C. arabica* (2).

Cruzamentos efetuados entre as espécies diplóides *C. canephora*, *C. liberica*, *C. eugenioides* e *C. excelsa* relatados por Marasimhaswamy (6) produziram muitas plantas, que além de variadas em seu aspecto, tinham pólen altamente estéril e baixa frutificação. Isso levou o autor à conclusão de que essas espécies possuem complementos cromossômicos muito diferentes e pouco compatíveis.

Pode-se dizer, em conclusão, que a presente pesquisa vem contribuir com novos dados para o melhor conhecimento do gênero *Coffea*; porém, há ainda um longo caminho a percorrer antes que se chegue a confirmar ou modificar, através da citologia e da genética, o esquema taxonômico do gênero.

#### MICROSPOROGENESIS IN A TRIPLOID HYBRID OF *COFFEA RACEMOSA* LOUR. AND *C. ARABICA* L.

##### SUMMARY

A natural hybrid of *Coffea racemosa* Lour. ( $2n=22$ ) and *C. arabica* L. ( $2n=44$ ) is triploid ( $2n=33$ ), intermediate in many characteristics between both species and highly sterile.

Frequency of trivalents is smaller in the *racemosa* than in the *canephora* hybrid; bivalents, however, are more frequent in the *racemosa* hybrid.

Other observations on microsporogenesis are presented and discussed. New hybrids including other species should be obtained and studied before a definite conclusion be drawn as to taxonomical relationships of *Coffea* species.

##### LITERATURA CITADA

1. CARVALHO, A. Distribuição Geográfica e Classificação Botânica do Gênero *Coffea* com referência especial à espécie *arabica*. Superintendência dos Serviços do Café. Boletins n.ºs 226 a 230 de 1945-1946.
2. KRUG, C. A. Cytological Observations in *Coffea* III. Journ. of Gen. XXXIV: 339-414. 1937.
3. ——— & MENDES, A. J. T. Conhecimentos gerais sôbre a genética e a citologia do gênero *Coffea*. Rev. Agric., Piracicaba 18:399-408. 1943.
4. ——— ——— Observações citológicas em *Coffea* IV. Bragantia 1(6): 467-482. 1941.

5. ———, MENDES, J. E. T. & CARVALHO, A. Taxonomia de *Coffea arabica* L. Campinas, Instituto Agronômico, 1939. 57 p. + 122 figs. (Boletim Técnico n.º 62).
6. MARASIMHASWAMY, R. L. & VISHOESHWARA, S. Report on Hybrids Between Some Diploid Species of *Coffea*. Indian Coffee XXV:104. 1961.
7. MENDES, A. J. T. Partenogênese, partenocarpia e casos anormais de fertilização em *Coffea*. *Bragantia* 6: 265-274. 1946.
8. ——— & BACCHI, OSWALDO. Observações citológicas em *Coffea*. V — Uma Variedade Haplóide ("Di-Haplóide") de *Coffea arabica* L. *Jornal de Agron.* 3(3): 183-206. 1940.
9. SILVA, H. LAINS E. Número de cromossomos em *Coffea racemosa* Lour. *Bragantia* 15:XVII-XVIII. 1956.