

PARTENOGENÊSE, PARTENOCARPIA E CASOS ANORMAIS DE FERTILIZAÇÃO EM *Coffea*

A. J. T. Mendes

I — INTRODUÇÃO

A **partenogênese**, isto é, o processo pelo qual um embrião se desenvolve de uma oosfera haplóide ou diplóide sem qualquer fusão de núcleos ou de células (2), tem sido constatada em plantas as mais diversas que, normalmente, se reproduzem por via sexuada e onde, portanto, a meiose e a fertilização são ocorrências normais.

Fatôres diversos podem determinar um processo partenogenético, como sejam: condições de temperatura, polinização por uma espécie geneticamente distante, propensão à poliembrionia, etc. Experimentalmente, a partenogênese tem sido conseguida de várias formas, porém, segundo Chiarugi (1), o melhor método para a indução da partenogênese haplóide é a polinização por uma espécie geneticamente distante, capaz de induzir partenocarpia, mas não fertilização.

Uma completa revisão e discussão da literatura sobre apomixis nas Angiospermas foi feita recentemente por Stebbins (7), não cabendo, portanto, no presente trabalho, divagar sobre o mesmo assunto.

No presente artigo pretendemos relatar a ocorrência de certos fatos em *Coffea*, os quais vêm demonstrar a ocasional formação de frutos partenocárpicos, a união de gâmetos com número anormal (não reduzido ou duplamente reduzido) de cromossômios, além de mais uma vez evidenciar a formação de embriões partenogenéticos.

III — HAPLÓIDES E POLIPLÓIDES DERIVADOS DE TETRAPLÓIDES. A PROGÊNIE DOS HAPLÓIDES E POLIPLÓIDES

A espécie *C. arabica* L., tendo $2n=44$ cromossômios, é considerada **tetraplóide**, pois que o número básico do gênero é $x=11$ e todas as outras espécies estudadas, com uma exceção recente, são **diplóides** ($2n=22$). A meiose é perfeitamente regular, porém, nas progênies das variedades tetraplóides, surgem, às vezes, plantas com a metade (“**di-haplóides**”, $2n=22$)

dos cromossômios esperados (5) e ainda outras plantas com uma vez e meia (**hexaplóides**, $2n=66$) ou duas vezes (**octoplóides**, $2n=88$) êsse número (4).

Os "**di-haplóides**" ($2n=22$), os **hexaplóides** ($2n=66$) e os **octoplóides** ($2n=88$) não apresentam meiose normal. Mendes e Bacchi (5) e Krug (4) estudaram-na com os possíveis detalhes, analisando ainda o número de cromossômios das plantas que constituíam suas progênes e das plantas obtidas pela sua hibridação com a variedade tetraplóide normal.

A progênie dos **di-haplóides**, derivada de sementes obtidas de flores autofecundadas ou não, é constituída, principalmente, de plantas tetraplóides; alguns indivíduos são aneuplóides ($2n=43$, $2n=46$). Quando cruzados com um tetraplóide, os **di-haplóides** produziram somente plantas tetraplóides.

Na progênie dos **hexaplóides** predominam os tetraplóides; aparecem também alguns hexaplóides e poucos aneuplóides ($2n=50$). No cruzamento **hexaplóide** x **tetraplóide** obtiveram-se plantas tetraplóides, pentaplóides e aneuplóides ($2n=52$). No cruzamento inverso só foram obtidos tetraplóides e um aneuplóide ($2n= \pm 52$).

Na progênie dos **octoplóides** predominam também os tetraplóides; aparecem ainda hexaplóides e octoplóides.

III — HIBRIDAÇÕES QUE NÃO PRODUZEM OS RESULTADOS ESPERADOS

A hibridação entre espécies de *Coffea* tem sido realizada no Instituto Agrônomo pelos agrônomos das Secções de Genética e Citologia, havendo já muitos híbridos em estudo. Sendo a espécie *C. arabica* tetraplóide ($2n=44$) e as outras espécies diplóides ($2n=22$), êsses híbridos são normalmente triplóides ($2n=33$). Dedicando-nos mais particularmente às hibridações entre *C. arabica* e *C. canephora*, verificamos que em várias ocasiões os resultados não foram os esperados, como passamos a expor:

a) *COFFEA CANEPHORA* x *C. ARABICA*

1.º caso: na hibridação entre as plantas n.º 37 ($2n=22$) e n.º 3 ($2n=44$), a única planta obtida era diplóide e apresentava todos os caraterísticos da espécie *canephora* aqui representada pela planta n.º 37.

2.º caso: na hibridação entre as plantas n.º P64 ($2n=22$) e n.º 27 ($2n=44$), as nove plantas obtidas como no caso anterior não eram híbridas e também tinham apenas 22 cromossômios como a planta n.º P64 que servira de mãe.

3.º caso: na hibridação entre as plantas n.º 35 ($2n=22$) e n.º 27 ($2n=44$) obtiveram-se 9 plantas, das quais 7 eram híbridas, triplóides ($2n=33$), uma era tetraplóide ($2n=44$), também híbrida, pois reunia caracteres de ambas as espécies, e outra era pentaplóide ($2n=55$), não tendo esta sido melhor analisada porque morreu ainda muito pequena.

b) *COFFEA ARABICA* x *C. CANEPHORA*

4.º caso: na hibridação entre as plantas n.º 21 ($2n=44$) e n.º 37 ($2n=22$) obtiveram-se 3 plantas, sendo uma híbrida, triplóide ($2n=33$); as duas outras eram tetraplóides como a planta mãe, porém ambas diferiam geneticamente entre si e da planta mãe.

c) *COFFEA CANEPHORA* x *C. CANEPHORA*

Obtivemos experimentalmente uma planta tetraplóide ($2n=44$) de *C. canephora*, tratando pela colquicina sementes de um exemplar diplóide ($2n=22$). Tentando cruzar o exemplar diplóide com o tetraplóide, também não obtivemos o esperado triplóide. É o que irá constituir o nosso 5.º caso:

5.º caso: na hibridação entre as plantas n.º 35 ($2n=22$) e Co 248 ($2n=44$) obtiveram-se 3 plantas, sendo uma tetraplóide como a fornecedora do pólen e duas diplóides como a planta mãe.

IV — EXPLICAÇÃO DOS FATOS ATRAVÉS DA OCORRÊNCIA DE PARTENOGENESE E DE FERTILIZAÇÕES ANORMAIS. DISCUSSÃO

A ocorrência de plantas com a metade ($2n=22$) do número de cromossômios, constatada por Mendes e Bacchi (5) nas progênies de *Coffea arabica* L. ($2n=44$), encontra explicação em um processo de **partenogênese**: o desenvolvimento de um embrião a partir de uma oosfera normalmente reduzida, sem fertilização. Esse desenvolvimento poderia ser induzido pela presença de um tubo polínico na cavidade embrionária, que não atingisse a oosfera. Sacos embrionários duplos foram encontrados em *C. arabica* L. Este fato parece estar ligado ao da ocorrência de sementes poliembriônicas; a fertilização de uma oosfera numa cavidade embrionária onde existem duas, poderá induzir o desenvolvimento partenogenético de um embrião a partir da outra; porém tôdas as plantas gêmeas estudadas até hoje em *C. arabica* L. têm $2n=44$ cromossômios (6). Se bem que não tenha sido assim demonstrada a origem das plantas haplóides (“**di-haplóides**”) nessa espécie, persiste como mais aceitável a hipótese de um mecanismo partenogenético.

A ocorrência de plantas **hexaplóides** na progênie dos tetraplóides pode ser explicada de duas maneiras mais prováveis: 1) união de um gameto normalmente reduzido ($n=22$) com um não reduzido ($n=44$); 2) duplicação dos cromossômios de um gameto anormal ($n=33$).

A união de dois gametos não reduzidos poderá explicar a formação de plantas **octoplóides**; uma outra explicação para o caso seria a duplicação dos cromossômios de um zigote normalmente formado, ao ser iniciado o desenvolvimento do embrião.

A meiose dos di-haplóides de *Coffea* constitui um processo inteiramente anormal; sua progênie é constituída de indivíduos tetraplóides e aneuplóides muito próximos de tetraplóides; os híbridos com tetraplóides.

são tetraplóides. Isto mostra que os **di-haplóides** produzem gâmetos viáveis com $n = \pm 22$ cromossômios ; não há evidência de partenogênese ou de duplicação de cromossômios.

A ocorrência de tetra- e hexaplóides na progênie dos hexaplóides e a de tetra—, hexa— e octoplóides na progênie dos octoplóides, bem como a formação de aneuplóides em ambos os casos são fatos realmente esperados, dada a constituição dos gâmetos observada através de um estudo da meiose nesses poliplóides. Apenas o cruzamento tetraplóide x hexaplóide, em consequência do qual só se formam tetraplóides, sugere um mecanismo partenogenético.

Passemos agora a estudar os cinco casos atrás mencionados sob o título “hibridações que não produzem os resultados esperados” :

Os dois primeiros casos, de hibridação entre *C. canephora* ($2n=22$) e *C. arabica* ($2n=44$), podem ser explicados da mesma forma. As flores da planta *canephora* foram emasculadas e sobre elas foi aplicado o pólen da planta *arabica*. Normalmente, uma oosfera com $n=11$ seria fertilizada por um gâmeto com $n=22$, porém, o embrião formado era diplóide ($2n=22$) e a planta que se desenvolveu tinha todos os caraterísticos da espécie *canephora* unicamente, do que se conclui que não houve o concurso do gâmeto *arabica* na formação desse embrião. Restam, então, duas hipóteses a considerar : 1) houve intromissão de pólen estranho (*canephora*) na ocasião da manipulação (não se pode falar em emasculação mal feita, pois que a espécie *C. canephora* é auto-estéril) ; 2) a polinização com pólen da outra espécie induziu o desenvolvimento partenogenético dos embriões.

O terceiro caso atrás apontado mostra bem que a manipulação das flores foi perfeita, tanto que das 9 plantas obtidas 7 eram triplóides e apresentavam os caraterísticos intermediários de ambas as espécies. Tentaremos explicar a ocorrência do indivíduo tetraplóide e do pentaplóide da seguinte maneira :

1) Na planta tetraplóide reconhece-se, em primeiro lugar, que é híbrida, pois que ela exhibe caracteres herdados de ambas as espécies ; ou uma oosfera normal ($n=11$) foi fertilizada por um gâmeto masculino triplóide ($n=33$) ou uma oosfera diplóide ($n=22$) foi fertilizada por um gâmeto masculino normal ($n=22$). Parece-nos mais razoável esta segunda hipótese, pois que além da pequena probabilidade que há de se formarem grãos de pólen triplóides em *C. arabica*, há ainda a considerar que um tubo polínico com núcleos dessa constituição terá pequena probabilidade de se desenvolver normalmente num estilo diplóide de planta pertencente a outra espécie.

2) Não pudemos identificar se a planta pentaplóide ($2n=55$) era híbrida ou não, pois que morreu antes do transplante para vaso. Das hipóteses que se podem levantar parece-nos mais provável a fertilização de uma oosfera normal de *C. canephora* com 11 cromossômios por um gâmeto não reduzido de *C. arabica* com 44 cromossômios.

Muito interessante é o 4.º caso, da hibridação em sentido inverso às duas discutidas anteriormente, e realizado entre as plantas n.º 21 (*C. arabica*) e n.º 37 (*C. canephora*).

A planta n.º 21 é típica da variedade *murta* de *C. arabica*, sabendo-se que é heterozigota para o par de fatores *Na na*. As três plantas obtidas após a tentativa de hibridação eram :

1) Uma planta com 44 cromossômios somáticos, *murta*, porém diferente da planta mãe quanto a outro caráterístico genético (côr dos brotos). Depois do estudo de tôdas as hipóteses prováveis, chegamos à conclusão de que a proteção do botão no ato do cruzamento não foi perfeita ; deve ter havido intromissão de pólen estranho.

2) Uma planta com 33 cromossômios, de caracteres intermediários entre *C. canephora* e *C. arabica* var. *bourbon*. Como é sabido que as variedades *bourbon* e *murta* diferem entre si apenas por um fator genético, sendo a primeira de constituição *Na Na* e a última *Na na*, espera-se que os gametos desta última sejam portadores de *Na* ou de *na*. Um híbrido qualquer assemelhar-se-á ao *bourbon* se o gameto em questão fôr portador de *Na* ; e assemelhar-se-á à var. *murta* (*Na na*) ou *nana* (*na na*) se o gameto fôr portador de *na*. No caso presente, uma oosfera de natureza *Na* deve ter sido fertilizada por um gameto normal de *C. canephora*.

3) Uma planta com 44 cromossômios, com caracteres morfológicos semelhantes aos da variedade *bourbon*. Esta planta e a anterior provieram de duas sementes intimamente justapostas e formadas numa mesma loja do ovário ("falsa poliembrionia") (6) ; se no caso anterior foi obtido sucesso na hibridação, é pouco provável que no caso presente tenha havido contaminação por pólen estranho. As seguintes hipóteses podem ser apresentadas :

I — Supondo que a planta obtida seja híbrida:

a) União de uma oosfera duplamente reduzida ($n=11$) com um gameto masculino triplóide ($n=33$) ; esta hipótese é improvável, pois que exige a participação de irregularidades na meiose de ambas as plantas cruzadas. Além disso, dada a dose com que entrariam na formação do embrião os cromossômios *canephora*, o híbrido deveria assemelhar-se mais a esta espécie.

b) União de oosfera triplóide ($n=33$) com um gameto masculino normal ($n=11$). Esta hipótese também é pouco provável, pois, embora não exigindo que o pólen seja de constituição anormal, requer a formação de óvulo com 33 cromossômios.

c) União de uma oosfera normal ($n=22$) com um núcleo masculino não reduzido ($n=22$). Esta parece ser a hipótese mais provável. A planta deveria então ser intermediária entre as duas espécies ; porém, ela apresenta todos os caráterísticos de *C. arabica*, aproximando-se muito de "bour-

bon” ; além disso, floresce e frutifica abundantemente, não demonstrando qualquer esterilidade. Na progênie obtida de suas sementes, nenhuma planta apresenta qualquer característico “canephora”.

Assim, parece que não podemos admitir que esta planta seja produto de hibridação. Consideraremos então a possibilidade de ser produto de partenogênese.

II — Supondo que a planta obtida provenha de um embrião partenogênético :

a) De uma oosfera “**não reduzida**” com 44 cromossômios. Neste caso a planta seria de constituição *Na na* (“murta”), o que não acontece ; esta hipótese deve então ser rejeitada.

b) De uma oosfera normal, com subsequente duplicação dos cromossômios. Essa oosfera seria de constituição *Na* ou *na* ; no caso presente só poderia ser *Na*, pois que o embrião resultante da duplicação dos cromossômios de uma oosfera *na* daria origem a uma planta anã (*na na*) ; sendo a oosfera *Na*, a duplicação produzirá *Na Na* e o indivíduo será “bourbon”.

Teríamos assim chegado à conclusão de que se trata de um caso de partenogênese originada pela duplicação dos cromossômios de uma oosfera normalmente reduzida ; uma tal planta deveria ser geneticamente pura, e, portanto, de especial interêsse para estudos genéticos.

No 5.º caso citado em nosso capítulo anterior, trata-se de uma hibridação realizada entre um indivíduo diplóide ($2n=22$) de *C. canephora* e um tetraplóide ($2n=44$) artificial obtido por tratamento de semente da mesma espécie.

Na primeira vez que se tentou fazer esta hibridação, 5 ramos contendo numerosas flores foram manipulados ; 4 ramos nada produziram, enquanto um produziu 20 frutos, todos sem semente.

Na segunda tentativa, 387 flores polinizadas produziram 111 cerejas, quase tôdas também desprovidas de semente : apenas 4 sementes foram obtidas, das quais uma não germinou.

Verifica-se assim que tal hibridação não é simples. Ao que parece, o pólen da planta tetraplóide quando aplicado sobre estigmas da planta diplóide induz o **desenvolvimento partenocárpico**, tanto que em 131 cerejas, apenas 4 sementes se formaram.

As 3 plantas obtidas eram de tipos diferentes morfológicamente ; uma apresentava fôlhas grossas e largas e era tetraplóide ($2n=44$) ; as outras duas eram diplóides ($2n=22$), sendo uma delas de fôlhas de tamanho médio relativamente às típicas da espécie e outra de fôlhas muito grandes.

O aparecimento de uma planta tetraplóide poderá ser melhor explicado de três maneiras : a) pela fertilização de uma oosfera normal ($n=11$) por um gâmeto masculino anormal ($n=33$) ; b) pela fertilização de uma oosfera não reduzida ($n=22$) por um gâmeto masculino normal ($n=22$) ; c) pelo desenvolvimento de um embrião a partir de um núcleo masculino não re-

duzido (**androgênese**). Um estudo preliminar da microsporogênese na planta tetraplóide artificial utilizada nesta hibridação mostrou que poucas anormalidades ocorrem, sendo de se esperar a formação de uma pequena percentagem de grãos de pólen não reduzidos.

O aparecimento das plantas diplóides poderá ser melhor explicado de uma das seguintes maneiras: a) pela fertilização de uma oosfera normal ($n=11$) por um gameto masculino duplamente reduzido; b) pelo desenvolvimento de um embrião a partir de uma oosfera não reduzida ou de uma oosfera normal com subsequente duplicação dos cromossômios (**partenogênese**), e c) pelo desenvolvimento de um embrião a partir de um núcleo masculino normal (**androgênese**).

V — CONCLUSÕES

A existência de mutações somáticas citológicas, isto é, a duplicação e redução dos cromossômios tem sido constatada várias vezes em *Coffea arabica* L. (4).

Os dados aqui apresentados mostram que também no processo da reprodução sexuada ocorrem em *Coffea arabica* certos fenômenos que conduzem à formação de indivíduos com número diferente de cromossômios do que era de se esperar.

Mostram mais estes dados que tais fenômenos ocorrem talvez ainda com maior frequência em cruzamentos interespecíficos em que as espécies diferem em número de cromossômios (*C. arabica*, $2n=44$ e *C. canephora*, $2n=22$).

Constata-se, além disso, que, dentro de uma mesma espécie (*C. canephora*), quando se cruzam indivíduos **di** — e **tetraplóides**, também ocorrem os mesmos fenômenos.

Em vários casos chega-se à conclusão lógica de que só um processo de partenogênese poderia explicar a formação de determinados embriões. Não fôsse o nosso conhecimento da constituição genética de várias das plantas usadas no presente estudo e poderíamos chegar à conclusão errônea de que um grande número de outros indivíduos por nós obtidos são de origem partenogenética.

Fica claro, no entanto, que dentro das duas espécies referidas e em seus cruzamentos, ocorrem processos citológicos não usuais, que eventualmente resultam no desenvolvimento de embriões **partenogenéticos** ou **de fertilização**, porém com número de cromossômios diferente do que era de se esperar.

Em um caso — o cruzamento de duas formas de *C. canephora* (diplóide e tetraplóide), — o pólen da forma tetraplóide, além de determinar o **desenvolvimento partenogenético** dos poucos embriões obtidos, ainda determinou o **desenvolvimento partenocárpico** de grande número de frutos. É possível que, em casos como êsse, os gametos masculinos sejam

eliminados já no interior do saco embrionário por qualquer razão, a entrada do tubo polínico determinando um estímulo para o desenvolvimento do embrião partenogenético ou do fruto partenocárpico.

Se bem que tenhamos podido, em várias ocasiões, desprovar a ocorrência de partenogênese pelo conhecimento da constituição genética e citológica das plantas cruzadas, fica claro que no gênero *Coffea*, em cruzamentos interespecíficos e mesmo intraespecíficos, ocorrem a partenogênese, a partenocarpia e casos de fertilização de gametas não reduzidos, além de duplicação de cromossômios após uma fertilização normal.

VI — RESUMO

A espécie *C. arabica* L. é tetraplóide ($2n=44$); em suas sementeiras, porém ocorrem ocasionalmente plantas di-haplóides ($2n=22$), hexaplóides ($2n=66$) e octoplóides ($2n=88$). A origem das primeiras é atribuída à partenogênese; as duas últimas devem-se formar pela união de gametas não reduzidos ou por processos de duplicação de cromossômios.

A polinização dos tetraplóides pelos hexaplóides produziu somente plantas tetraplóides, sugerindo um processo partenogenético.

Quando se cruzam as espécies *C. arabica* ($2n=44$) e *C. canephora* ($2n=22$) obtêm-se, além dos híbridos triplóides, indivíduos com o mesmo número de cromossômios que a planta mãe; em vários casos essa ocorrência é atribuída à partenogênese.

Dentro da espécie *C. canephora* verificou-se a ocorrência de partenocarpia e de partenogênese, quando se polinizou um indivíduo diplóide ($2n=22$) com pólen de um tetraplóide ($2n=44$).

Assim, tanto em cruzamentos interespecíficos como intraespecíficos de *Coffea*, a diferença de número de cromossômios das plantas cruzadas determina, às vezes, a partenocarpia e a partenogênese, observando-se ainda outros fenômenos como a união de gametas não reduzidos e a duplicação dos cromossômios de oosferas normalmente constituídas.

SUMMARY

The species *C. arabica* L. is tetraploid ($2n=44$): among its progenie plants are found which are di-haploid ($2n=22$), hexaploid ($2n=66$) and octoploid ($2n=88$). The origin of the first ones is attributed to parthenogenesis; the last two must be formed by the the union of unreduced gametes or through processes of chromosome doubling.

A parthenogenetic process is also attributed to the formation of tetraploids when the tetraploid plants are pollinated by the hexaploids.

The cross *C. arabica* ($2n=44$) x *C. canephora* ($2n=22$) gives besides the expected triploids, individuals with the same number of chromosomes as the seed parent; in various instances this occurrence is attributed to parthenogenesis.

Parthenocarpic fruits and parthenogenetic embryos have been formed in a cross of diploid and tetraploid individuals of *C. canephora*.

These observations show that in both interspecific and intraspecific crosses of *Coffea*, a difference in number of chromosomes determines sometimes parthenogenesis, parthenocarpy and other phenomena such as the union of unreduced gametes and the doubling of the chromosomes of normal egg cells.

LITERATURA CITADA

1. Chiarugi, A. La partenogenesi nelle piante superiori e la sua importanza per le indagini sulla loro costituzione genetica. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 9: 1182-1207. 1934. Cit. em The Experimental Production of Haploids and Polyploids. Imperial Bureau of Plant Genetics. 28 pgs. 1936.
2. Gustaffson, Ake. Studies on the mechanism of parthenogenesis. Hereditas XXI (1): 1-118. 1935.
3. Krug, C. A. Variações somáticas em *Coffea arabica* L. Rev. de Agr. 12 (3-4): 101-109. 1937.
4. Krug, C. A. Cytological Observations in *Coffea*. — III. Jour. Genet. 34: 399-414. 1937.
5. Mendes, A. J. T. e Oswaldo Bacchi. Observações citológicas em *Coffea*. V. — Uma variedade haplóide ("di-haplóide") de *C. arabica* L. Jornal de Agronomia 3 (3): 183-206. 1940.
6. Mendes, A. J. T. Observações citológicas em *Coffea*. VIII — Poliembrionia. Bragantia 4 (12): 693-708. 1944.
7. Stebbins Jr., G. L. Apomixis in the Angiosperms. — The Bot. Rev. 7 (10): 507-542. 1941.