GENÉTICA DE COFFEA (1)

XII-HEREDITARIEDADE DA CÔR AMARELA DA SEMENTE

A. Carvalho, engenheiro agrônomo, Secção de Genética e C. A. Krug, engenheiro agrônomo, diretor do Instituto Agronômico de Campinas

1—INTRODUÇÃO

As espécies do gênero Coffea se diferenciam por tonalidades diversas na coloração do endosperma das sementes. Algumas apresentam-no de côr amarelada, ao passo que outras o possuem de côr verde. Essas diferenças tornam-se visíveis, com a remoção da película prateada, que corresponde aos escassos resíduos do tegumento e que, às vêzes, adere firmemente ao endosperma. As espécies Coffea liberica Hiern e Coffea Dewevrei De Wild. et Th. Dur. apresentam endosperma amarelo, ao passo que as espécies de maior interêsse econômico, como Coffea arabica L. e Coffea canephora Pierre ex Froehner, se caraterizam por terem sementes com endosperma verde.

Em 1935 foram encontrados, nas localidades paulistas de Américo de Campos e Pompéia, alguns cafeeiros da espécie *C. arabica*, que se caraterizavam por apresentar sementes amarelas, como ocorre em outras espécies de *Coffea*. Essa variação paralela, conhecida por "café cêra", provàvelmente se originou por mutação da var. *typica* (*Coffea arabica* L. var. *typica* Cramer), tendo sido, em 1938, descrita como *Coffea arabica* L. var. *cera* K.M.C. (6), (est. 1–A).

No presente trabalho apresenta-se a análise realizada, a fim de se determinar a constituição genética dêsse caraterístico "cêra", da espécie $C.\ arabica$.

2—ANÁLISE GENÉTICA

2.1—AUTOFECUNDAÇÃO DE PLANTAS "CÊRA"

A primeira amostra de café cêra, recebida pelo Instituto Agronômico, proveio de Américo de Campos e foi encaminhada pelo eng. agr. O. T. Mendes Sobrinho. Tratava-se de frutos secos, que, abertos, revelavam a existência de algumas sementes de côr verde e outras de côr cêra, e tôdas de forma perfeitamente normal. As sementes cêra foram semeadas no viveiro da Estação Experimental Central de Campinas, em janeiro de 1935. Das plantas obtidas, 15 foram plantadas na coleção de variedades, para futuras observações.

A segunda remessa de café cêra foi obtida na Fazenda Brasília, em Pompéia, e era proveniente de plantas cêra com cêrca de 9 anos, existentes

⁽¹⁾ Trabalho apresentado na Primeira Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada em Campinas, de 11 a 15 de outubro de 1949.

no meio de uma plantação de café bourbon (2, 3). Tais cafeeiros receberam os números 226 e 227, da Secção de Genética do Instituto Agronômico. O exame do café também revelou a existência de sementes cêra e verde. As sementes cêra foram semeadas em viveiro, em janeiro de 1936, plantando-se, depois, 20 descendentes de cada um dêsses cafeeiros, no lote de progênies da Secção de Genética, na Estação Experimental Central de Campinas, a fim de se estudar a produtividade.

Em 1937, por ocasião do florescimento dêsses cafeeiros, bem como dos exemplares da coleção, escolheram-se algumas das melhores plantas das progênies 226 e 227, além de quatro outras na coleção (N°s. 482, 483, 484 e 485), a fim de se efetuarem as primeiras autofecundações artificiais.

Posteriormente, novas autofecundações foram realizadas e os resultados obtidos da classificação das sementes colhidas se acham reunidos no quadro 1.

Quadro 1.—Classificação em tipos cêra e verde das sementes obtidas pela autofecundação artificial de cafeeiros provenientes de sementes cêra

Número dos cafeeiros autofecundados	Número de sementes obtidas dos tip		
Trumoro dos carcoros successarios	cêra	verde	
26- 2	81	0	
- 4	51	0	
-11	14	0	
-20	75	0	
27- 9	94	0	
-11	46) o	
-18	63	0	
482	744	0	
483	592	0	
484	93	0	
485	320	0	
TOTAL	2173	0	

Pelos resultados do quadro 1, verifica-se que as plantas cêra, quando autofecundadas, sòmente produzem sementes do tipo cêra.

2.2—CRUZAMENTO ENTRE PLANTAS CÊRA DE ORIGENS DIFERENTES

A fim de verificar se o café cêra recebido de Américo de Campos, era o mesmo de Pompéia, efetuou-se o cruzamento entre as plantas 485 e 226-2. As sementes obtidas, em número de 170, revelaram-se tôdas do tipo cêra, o que leva à conclusão de que se trata do mesmo mutante genético.

2.3--F₁ (CÉRA x VERDE)

Em 1938 iniciou-se uma série de cruzamentos entre plantas produtoras de sementes cêra (est. 1-B, a) e plantas pertencentes a outras variedades, com sementes verde (est. 1-B, b). O resultado do exame das sementes híbridas obtidas acha-se reunido no quadro 2.

Quadro 2.—Classificação em tipos cêra e verde das sementes híbridas procedentes do cruzamento (cêra x verde)

Cruzamentos		Número de sementes obtidas por tipos		
Número dos cafeeiros	Variedades	verde	cêra	
82 x 1	cera x bourbon	66	0	
82 x 8	cera x bourbon	6	0	
82 x 10-1	cera x typica	110	0	
82 x 27	cera x polysperma	119	0	
8 2 x 24-1	cera x purpurascens	50	0	
32 x 505	cera x semperflorens	47	0	
85 x 10-20	cera x typica	3	0	
85 x 17-11	cera x maragogipe	53	0	
35 x 566	cera x erecta	52	0	
32 x 452	cera x typica f. xanthocarpa.	28	0	
82 x 619	cera x murta	3	0	
26 x sf. col, 11	cera x semperflorens	55	0	
82 x sf. col. 11	cera x semperflorens	103	0	
27-18-2 x sf. col. 11	cera x semperflorens	31	0	
TOTAL		726	0	

Pelo quadro 2, conclui-se que as próprias sementes híbridas do cruzamento cêra x verde já são tôdas verde, mostrando, por conseguinte, o fenômeno genético de "xênia", isto é, o efeito direto de um fator genético transportado pelo gâmeta masculino, sôbre o tecido do endosperma. Nota-se, portanto, que, para o estudo genético do caraterístico em foco, é suficiente o exame do endosperma das sementes, o que abrevia e facilita a análise.

2.4-F₂ (CÉRA x VERDE)

Várias plantas híbridas, derivadas das sementes mencionadas no quadro 2, foram autofecundadas a partir de 1941, quando entraram em florescimento. As sementes colhidas puderam ser classificadas em cêra e verde, conforme especificado no quadro 3.

Quadro 3.—Classificação em tipos verde e cêra das sementes colhidas nas plantas F_1 (cêra x verde) e os valores de χ^2 calculados, na base da segregação de 3:1, de um par de fatôres genéticos

Número dos cafeeiros autofecundados	Número de sementes obtidas dos tipos			Valores
	verde	cêra	Total	de χ²
482 x 1)- 1	153	52	205	$0,02(^{1})$
- 4		54	254	1,90
- 9		44	174	0,01
182 x 8)- 3		2 6	110	0,11
182 x 10-1)- 5		21	72	0,67
82 x 24-1)- 3	210	76	286	0,38
182 x 27)-'2	57	27	84	2,2 9
- 4		9	33	0,09
-10		48	205	0,28
485 x 566)- 1		14	70	0,93
- 2	74	22	96	0.22
TOTAL	1196	393	1589	0,06

⁽¹⁾ Os valores de χ^2 para os limites de 5 e 1% de probabilidades são, respectivamente, de 3,8 e 6,6.

As sementes verde não se mostram com coloração muito uniforme, o que deu margem a uma tentativa de divisão dessa classe em verde escuro e verde claro. A classificação, porém, é bastante difícil e imprecisa, razão por que não foi continuada nas últimas classificações.

Na hipótese de que as relações especificadas no quadro 3 correspondam à relação de 3 verde: 1 cêra, esperada na base da segregação de um só par de fatôres genéticos principais, calcularam-se os valores parciais de χ^2 , bem como o χ^2 a partir dos dados totais, o que se acha especificado na última coluna dêsse mesmo quadro 3. As relações observadas se aproximam bastante dos valores calculados, o que se nota pelos valores de χ^2 obtidos e que permitem a aceitação da hipótese proposta.

2.5—"BACKCROSSES"

Em 1941 iniciaram-se também os primeiros "backcrosses" de plantas híbridas F₁ com cafeeiros portadores de sementes **verde** e cafeeiros com sementes **cêra**.

Quase todos os dados foram obtidos pela classificação das sementes híbridas colhidas. As sementes dos "backcrosses" realizados em 1942, e que correspondem aos cruzamentos (482 x 1)-9 x 12 (¹), (482 x 1)-9 x 482 e (482 x 27)-10 x 482, não foram classificadas, mas aproveitadas para plantio. As plantas dessas populações, ao florescerem, foram autofecundadas artificialmente, tendo sido devidamente classificadas as sementes obtidas.

⁽¹⁾ A planta 12 pertence à var. typica.

Pelos resultados dessas classificações, pôde-se deduzir a constituição genética das plantas e, consequentemente, das sementes que deram origem a essas plantas.

2.5.1—(CÊRA x VERDE) x VERDE

As classificações das sementes obtidas dos vários "backcrosses" entre plantas híbridas F₁ e plantas com sementes **verde**, deram os resultados indicados no quadro 4, isto é, são tôdas **verde**.

Quadro 4.—Classificação em tipos cêra e verde das sementes obtidas nos "backcrosses" (cêra x verde) x verde

Número dos cafeeiros cruzados	Número de sementes obtidas dos tipos		
	verde	eêra	
(482 x 1)- 1 x 662(1)	306	0	
(482 x 1)- 4 x 1-1	37	0	
(482 x 1)- 4 x 662	54	0	
(482 x 1)~ 9 x 1	5	0	
(482 x 8)- 3 x 1	27	1(3)	
(482 x 10-1)- 5 x 1	3	0	
(482 x 10-1) - 5 x 10-1	1	0	
(482 x 24-1)- 3 x 23(°)	17	0	
(482 x 24-1)- 3 x 24-20	175	0	
(482 x 27) - 2 x 662	74	0	
(482 x 27)- 4 x 662	43	0	
(482 x 27) - 10 x 27	5	0	
(485 x 566)- 1 x 566	41	0	
(485 x 566)- 2 x 566	41	0	
TOTAL	829	l l	

⁽¹⁾ A planta 662 pertence à var. bourbon.

As sementes do cruzamento (482 x 1)— 9 x 12, realizado em 1942, como já se mencionou, não foram classificadas, mas sim aproveitadas para plantio. Das sementes plantadas, obtiveram-se 10 cafeciros que, após florescimento, foram autofecundados artificialmente, dando os seguintes resultados de classificações de sementes (quadro 5).

⁽²⁾ A planta 23 pertence à var. purpurascens.

⁽³⁾ Essa única semente cêra é, provavelmente, resultante de uma contaminação.

Quadro 5.—Classificação em tipos cêra e verde das sementes resultantes da autofecundação artificial em plantas obtidas de sementes de um "backcross" (cêra x verde) x verde

Número dos cafeeiros autofecundados	Número de sementes obtidas dos tipos			Valores
	verde	cêra .	Total	de χ²
[(482 x 1)- 9 x 12]- 1	98	0	98	
- 2		0	59	
~ 3	114	23	137	4,93
~ 4		1	9	0,92
- 5		0	33	
~ 6		0	136	
~ 7		3	29	3,32
~ 8	211	74	285	0,15
- 9		44	158	0,68
-10	1	28	98	0,67

Diante dêsses resultados, pode-se dizer que essas 10 plantas se classificaram em 6 híbridas e 4 normais, uma relação aproximada de 1:1.

2.5.2—(CÉRA x VERDE) x CÉRA

Os resultados das classificações das sementes obtidas nesses "back-crosses" acham-se reunidos no quadro 6.

Quadro 6.—Classificação em tipos cêra e verde das sementes obtidas nos "backcrosses" (cêra x verde) x cêra e os resultados de χ², na hipótese de se tratar da segregação de um só par de fatôres genéticos principais

Número dos cafeeiros cruzados	Número de sementes obtidas dos tipos			Valores
	verde	cêra	Total	de χ^2
(482 x 1)- 1 x 482	165	146	311	1,16 (¹)
(482 x 1)- 4 x 482	59	47	106	1,36
(482 x 1)- 9 x 483- 1	5	4	9	0,12
482 x 1)- 9 x 484		5	13	0,70
482 x 24-1)- 3 x 482	9	9	18	0,00
482 x 27)- 2 x 482	72	61	133	0,90
482 x 27)-10 x 227- 5	2	0	2	
485 x 566)-1 x 485		82	150	1,30
485 x 566)-2 x 485	43	48	91	0,28
TOTAL	431	402	833	1,00

⁽¹⁾ Os limites de χ^2 para 1 grau de liberdade são de 3,8 e 6,6 para os limites de 5 c 1% de probabilidade.

Os resultados do quadro 6 confirmam a hipótese de ser o caraterístico cêra controlado por um par de fatôres genéticos principais, que, nesses "backcrosses", segregam na relação teórica de 1:1.

As sementes dos "backcrosses" (482 x 1)- 9 x 482 e (482 x 27)- 10 x 482, realizados em 1942, foram semeadas, obtendo-se um total de 44 plantas para o primeiro caso e 6 para o segundo.

As classificações das sementes autofecundadas dessas plantas se acham indicadas no quadro 7, do que se poderá deduzir a constituição genética das sementes plantadas.

Quadro 7.—Classificação em tipos cêra e verde das sementes resultantes da autofecundação artificial em plantas obtidas a partir de sementes do "backcross" (cêra x verde) x cêra

Número dos cafeeiros	Número de s	Número de sementes obtidas dos tipos $\frac{1}{1}$		
autofecundados	verde	eêra -	Total	Valore: de χ^2
82 x 1)- 9 x 482] - 1	0	67	67	
-2	46	18	$^{+}$ $^{-64}$ $^{+}$	0,33
- 3	41	5	46	4,89
- 4	69	$3\overline{2}$	101	2,40
- 6	0	49	49	-,
- 7	0	5	5	
- 8	58	20	78	0,01
- 9	19	7	26	0,05
-10	0	54	54	
-11	0	62	62	
-12	0	82	82	
-13	40	, 15	55	0,15
-14	78	21	99	0.76
-15	7	4	J1	0,76
-16	30	7	37	0.73
-17	87	24	111	0,68
-18	0	72	72	
-19	9	5	1.4	0.85
-20	0	145	145	
–21	9	2	11	$0,\!27$
-22	21	8	29	0,11
-23	27	1.1	41	1.83
-24	12	. 2	14	0,85
-25	0	4	4	
-26	0	15	15	
-27	0	56	56	
-28	0	59	59	0.09
-29	3-11	125	466	0,83
-31	$\frac{1}{0}$	$\frac{169}{15}$	170 15	
$-32 \dots \\ -33 \dots \dots$	$\frac{0}{76}$	$\frac{13}{23}$	99	0,14
-34 · · · · · ·	12	4	16	0,00
$-35 \dots$	43	17	60	0,36
9-	43	. 13	56	0,09
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	0	88	88	0,00
-39	1	. Ĩ	1 1	,
-40	Ō	$2\overline{4}$	24	
-41	$\overset{\circ}{43}$	10	53	1,07
-42	3	ĭ	.1	-,
-43	Õ	100	100	
-14	0	54	54	
$82 \times 27 - 10 \times 482 - 1 \dots$	0	66	66	
-2	0	13	13	
- 4	63	· 16	79	0,95
- 6	153	50	208	0,11

Do exame do quadro 7, verifica-se que, do "backeross" (482 x 1)-9 x 482, vinte e duas plantas produziram sementes verde e cêra, na proporção de 3:1 e dezoito deram apenas sementes cêra. A relação 22:18 se aproxima, bastante, da relação teórica 1:1. No "backeross" (482 x 27)-10 x 482, duas plantas segregaram sementes verde e cêra na relação 3:1 e duas deram apenas sementes cêra.

3—CRUZAMENTOS INTERESPECÍFICOS

Os cruzamentos de cafeeiros cêra com representantes de outras espécies de *Coffea*, portadoras também de sementes amareladas, têm fornecido sementes apenas de coloração amarelada.

Essas sementes, no geral, se apresentam com formas e tamanhos irregulares, dada a natureza cromosômica anormal, pois, enquanto o cêra apresenta 44 cromosômios, as demais espécies apresentam apenas 22 cromosômios somáticos. Dos cruzamentos entre as plantas da variedade cera, números 482 e 485 com o cafeeiro número 63, da espécie C. Dewevrei, obtiveram-se 37 sementes, tôdas do tipo cêra. Do cruzamento entre a planta 482 e o cafeeiro número RP254 da espécie C. liberica, apenas 5 sementes foram obtidas, tôdas elas também de coloração cêra.

Convém salientar que êsses cruzamentos são particularmente difíceis de ser feitos, obtendo-se, geralmente, percentagem baixa de frutificação e de fecundação (percentagem de sementes em relação ao número de óvulos nas flores) (1).

4—APROVEITAMENTO DA VARIEDADE CERA EM OUTRAS PESQUISAS

4.1—ENDOSPERMA EM C. ARABICA

A existência de endosperma verdadeiro em *C. arabica* era, até 1939, uma questão discutida pelos investigadores que trabalhavam com café. Enquanto alguns supunham que a massa da semente era constituída por verdadeiro endosperma, outros consideravam-na como tecido materno, resultante do desenvolvimento do nucelo (perisperma) ou dos tegumentos (7).

Os primeiros resultados obtidos com a autopolinização da variedade cera e dos cruzamentos artificiais entre cêra e plantas portadores de sementes verde, normais, deram uma prova de que as sementes do café cêra eram, realmente, constituídas de verdadeiro endosperma (4). As próprias sementes híbridas, do cruzamento cêra x verde, sendo já verde, indicaram a existência do fenômeno genético de "xênia", no qual um gen para coloração verde era dominante sôbre duas doses do gen para cêra.

4.2—BIOLOGIA DA FLOR

A particularidade de a própria semente do cruzamento cêra x verde já se apresentar de coloração verde, fêz com que se projetassem novos estudos sôbre a biologia da flor do Coffea arabica, usando-se o cêra como

novo indicador genético. O caráter recessivo purpurascens, anteriormente usado para a determinação do papel desempenhado pelo vento, insetos e gravidade como agentes de fecundação, apresentava a desvantagem de ser muito diferente da variedade typica, quer quanto ao número de flores produzidas, quer pela coloração geral. Além disso, as sementes obtidas no campo precisavam ser semeadas em viveiro, para se determinar a percentagem de flores que tinham sido fertilizadas por pólen estranho. Os dados assim obtidos deram um excesso de plantas híbridas, provàvelmente devido à deficiência da classe purpurascens, cujas sementes não germinavam ou cujas mudas não se desenvolviam tão bem quanto as plantas híbridas, morrendo muitas, logo após a germinação.

Os cafeeiros cêra, empregados nesses estudos, permitiram tirar conclusões bem mais precisas quanto ao efeito dêsses agentes, tanto na autofecundação como na fecundação estranha.

Os dados obtidos indicaram que na espécie C. arabica, ao contrário do que se julgava, é muito mais geral a autofecundação, variando a percentagem de sementes híbridas, obtidas, entre 7,3 a 9,0%, apenas (1).

5—RESUMO E CONCLUSÕES

Não se pode dizer, com exatidão, em que local do Estado de São Paulo apareceu o mutante cêra, pela primeira vez. Grupos de cafeeiros cêra, já em plena produção, foram encontrados, simultâneamente, em Américo de Campos, zona Araraquarense, e Pompéia, zona Alta Paulista, não tendo sido possível averiguar se as sementes aí plantadas eram da mesma procedência. Dada a semelhança existente entre as plantas cêra e as da variedade typica (café nacional), quanto aos caraterísticos morfológicos e de produção, é natural que elas tenham sido multiplicadas, ao acaso, nessas plantações.

Sem mistura com outras sementes verdes, o café cêra se apresenta com aspecto muito favorável, não só porque as sementes têm uma bonita côr amarela, como também porque produz bebida de boa qualidade. Quando, porém, o cêra aparece em mistura com o café comum (verde), a qualidade do produto é depreciada em sua aparência (2).

Sendo a primeira vez que se encontrava na espécie arábica um representante com sementes de coloração idêntica à das de outras espécies do gênero *Coffea*, iniciou-se, desde logo, a análise, para averiguar a natureza genética dêsse mutante.

Os resultados das autofecundações de plantas cêra mostraram que os cafeeiros usados eram homozigotos para êsse caraterístico e os cruzamentos de cêra com plantas de sementes verde, produzindo já sementes verde, indicaram a ocorrência do fenômeno genético de "xênia". Este foi de grande utilidade na determinação da natureza do tecido que forma a semente e nos estudos da biologia da flor de C. arabica.

Os dados obtidos dos "backcrosses" e das populações F₂, do cruzamento de cêra com verde, demonstraram que o caraterístico cêra é determinado por um só par de fatôres genéticos principais, recessivos. Consoante já se propôs no Oitavo Congresso Internacional de Genética (5), o símbolo

para êsse fator genético cêra é ce, sendo o seu alelo normal Ce. Assim, as plantas que produzem sementes cêra, são de constituição cece e as plantas com sementes verde, CeCe. As plantas híbridas Cece, se autofecundadas. produzem sementes verde e cêra, na proporção teórica de 3:1, pois os endospermas de constituição CeCece e Cecece são igualmente verdes, tal como o de constituição CeCeCe.

SUMMARY

The known species of Coffee can be grouped into two categories according to the color of their endosperm which is either green or yellow. The commercially cultivated varieties of Coffee arabica L. and Coffee canephora Pierre ex Froehner are well known for the green color of their seed while the less known varieties of Coffea liberica Hiern and Coffee Dewevrei De Wild. et Th. Dur. have yellow seed. In 1935, however, a yellow seeded type of C. arabica was found in Brazil and has been described as Coffea arabica L. var. cera K.M.C.; it is believed to have originated by mutation from Coffea arabica L. var. typica Cramer.

In this paper the authors present the results of a genetic study of the yellow seeded mutant known as "cera". It has been found that in C. arabica, yellow endosperm is controlled by one pair of recessive factors cece. Hybrid seeds containing a Cece embryo were green (xenia), their endosperm being either Cecece or CeCece.

Cera is a tetraploid variety and when it was crossed with diploid Coffee species

having yellow endosperm, it was found to produce only yellow hybrid seeds.

The cera, which is a yellow seeded mutant has been useful not only for definitely showing that the bulk of the coffee seed is true endosperm, but it has also proved useful is study of the biology of the coffee flower.

LITERATURA CITADA

- 1. Carvalho, A. e C. A. Krug. Biologia da flor do cafeciro (C. arabica L.). Ciência e Cultura 1: 35-38, 1949,
- 2. Krug, C. A. O café cêra (Coffea arabica L. var. cera). Revista do Instituto do Café do Estado de São Paulo 25: 546-548, fig. 1, 1939.
- 3. Krug, C. A. Melhoramento do cafeeiro. Doze anos (1933-1944) de pesquisas básicas e aplicadas realizadas nas Secções de Genética, Café e Citologia do Instituto Agronômico. Bol. da Super. dos Serv. do Café de São Paulo 20: 863-872, 959-962, 1945.
- 4. Krug, C. A. e A. Carvalho. Genetical Proof of the Existence of Coffee endosperm. Nature 144: 515. 1939.
- 5. Krug, C. A. e A. Carvalho. The Genetics of Coffea. Proceedings of the Eighth International Congress of Genetics. Hereditas Supp. Vol. 611-612, 1949.
- 6. Krug, C. A., J. E. T. Mendes e A. Carvalho. Taxonomia de Coffea arabica L. Descrição das variedades e formas encontradas no Estado de São Paulo. Bol. Técn. do Instituto Agronômico 62: 9-57, figs. 1-122. 1938.
- 7. Mendes, A. J. T. Cytological observations in Coffee VI — Embryo and endosperm development in Coffee arabica L. American Journal of Botany 28: 784-789. 1941.

ESTAMPA 1





A—Cafeeiro da variedade cera, da coleção da Estação Experimental Central, em Campinas; B—sementes sem pergaminho; a—sementes normais, de côr verde; b—sementes "cêra".