

# BRAGANTIA

Boletim Técnico da Divisão de Experimentação e Pesquisas  
INSTITUTO AGRONÔMICO

Vol. 6

Campinas, Junho de 1946

N.º 6

## GENÉTICA DE COFFEA

IX — Observações preliminares sôbre quimeras genéticas em *Coffea arabica* L. (\*).

A. Carvalho

e

C. A. Krug

### I — INTRODUÇÃO

Vários têm sido os estudos realizados em tôrno de quimeras vegetais. Estas são constituídas pela íntima associação de tecidos pertencentes a dois ou mais genótipos diferentes, possuindo o mesmo ou um número diferente de cromossômios. Em alguns casos, os seus caracteres vegetativos são intermediários entre os dois tipos que se acham associados, e a propagação de tôdas só pode ser efetuada por via vegetativa. As quimeras se têm originado, espontâneamente, na natureza, mas também podem ser obtidas artificialmente. Quando autógenas, podem se originar seja por mutação somática dos fatores genéticos (quimeras genéticas), seja pela alteração espontânea do número ou distribuição dos cromossômios (1, 5.) (quimeras citológicas). Essas modificações podem afetar a planta tôda ou apenas parte dos tecidos. A obtenção de quimeras artificiais se deve primeiramente a Winkler que, em 1907, as obteve por enxertia, denominando-as híbridos de enxerto (Propfbastarde) (9, 13). Êstes híbridos de enxerto, criados, principalmente, com algumas espécies de Solanáceas, são obtidos enxertando, sôbre uma dada espécie, um garfo de outra espécie diferente. Pegado o enxerto, êste é cortado na região da união dos tecidos das duas espécies distintas. Algumas das gemas adventícias, que aí se originam, podem se

(\*) Trabalho apresentado à Primeira Reunião Conjunta das Sociedades de Biologia do Brasil, em 2-6 Set.-1946.

desenvolver em quimeras de vários tipos, isto é, periclinais, sectoriais, mericlinais ou em hiperquimeras, ou mixoquimeras (mistura irregular de tecidos genéticamente diferentes) (1, 9). Mais recentemente, Blakeslee e seus colaboradores (2) e depois Satina e outros (9, 10, 11, 12) desenvolveram um outro processo de obtenção de quimeras artificiais em *Datura stramonium*, pela aplicação da colchicina em determinada fase do desenvolvimento da planta. Essas quimeras, do tipo periclinal, se caracterizam pela associação de camadas celulares com números diferentes de cromossômios, múltiplos de número somático. O estudo detalhado dessas quimeras permitiu a Satina e Blakeslee determinar, para a espécie *Datura stramonium*, com bastante precisão, o número de camadas geradoras responsáveis pela formação dos vários órgãos da planta e, particularmente, qual a camada que mais ativamente coopera para a formação dos diferentes tecidos de cada um desses órgãos (9, 10, 11, 12). Seria desnecessário acentuar a importância da aplicação dessas quimeras nos estudos modernos de histogênese.

Em casos de acentuada instabilidade de certos gens em tecido somático tem-se obtido verdadeiros mosaicos de plantas ou partes de plantas, que foram também classificadas como quimeras, por não passarem de uma associação irregular de tecidos genéticamente diferentes (hiperquimeras).

Cumprе notar que esta íntima associação de tecidos genotipicamente diferentes, encontrados nos diferentes tipos de quimeras, não resulta numa "contaminação" mútua, pois cada um deles continua mantendo, estritamente, a sua individualidade. Por esse motivo, a propagação sexuada de quimeras não tem sido possível, porquanto os seus gametos, que nas plantas superiores se originam de uma só determinada camada geradora (camada subepidérmica ou segunda camada geradora), no geral são constituídos por um só dos genótipos associados (9).

No presente trabalho são apresentados os resultados preliminares obtidos com a análise de quatro quimeras genéticas encontradas em *Coffea arabica* L. e que se originaram como consequência da instabilidade dos alelos *Na na*, manifestada em algumas plantas em observação (4). Apesar de não se conhecer o número de camadas geradoras existentes nesta espécie, são propostas algumas hipóteses sobre a provável constituição destas quimeras.

## II — INSTABILIDADE DOS ALELOS *Na na* EM *COFFEA ARABICA* L.

Dos vários fatores hereditários de *C. arabica* L., em estudos na Seção de Genética do Instituto Agrônomico (8), os alelos *Na na* são os únicos que mutam freqüentemente, no tecido somático. Trata-se de um par de fatores que, em estado duplamente dominante, é encontrado na variedade *bourbon* e, em estado duplamente recessivo, na variedade *nana*. A forma heterozigota determina os caracteres principais da variedade (híbrida) *murta* (7). Esses três tipos de plantas são bem distintos quanto aos seus caracteres

morfológicos e as plantas *nana* raras vêzes chegam a florescer e frutificar. Krug (6) descreveu os primeiros casos de mutações somáticas nesses genótipos, verificando a formação de galhos *murta* (*Na na*) em plantas *nana* (*na na*), galhos *bourbon* (*Na Na*) em plantas *murta* (*Na na*), finalmente, um único caso de formação de um galho *murta* (*Na na*) numa planta *bourbon* (*Na Na*). Carvalho (4) ampliou as observações já feitas sobre o assunto, descrevendo, em detalhe, mais três casos de mutações somáticas dêsse par de gens. No primeiro dêles um exemplar da variedade *nana* produziu um brôto ponteiro considerado *bourbon*. A mutação deu-se, aparentemente, da condição duplamente recessiva para a duplamente dominante. Noutro caso, um indivíduo *nana* deu origem a um galho tipicamente *murta* (*Na na*). O exemplar mais interessante era representado por uma planta *nana* que, em épocas diferentes, produziu ramos inteiros das variedades *bourbon* ou *murta*, outras vêzes a mutação abrangendo apenas um par de fôlhas do mesmo nó, uma única fôlha de um nó, a metade de uma lâmina de uma fôlha ou ainda apenas uma pequena área da lâmina foliar. Trata-se, pois, de um verdadeiro mosaico de tecidos de 3 genótipos diferentes. Verificou ainda êsse autor, que a direção mais frequente da mutação é a da condição recessiva para a dominante, tal como é o caso mais frequente entre os gens mutáveis e que, pelo exame de progênies das variedades *murta* e *nana*, se supõe que o par de alelos *Na na* é estável nas células sexuais. Após a publicação dêsse trabalho, várias outras plantas *nana* com ramos mutados *murta* foram encontradas. Cumpre notar que tôdas as mutações somáticas até hoje observadas ocorreram na parte já lenhificada das plantas, em virtude do desenvolvimento de gemas dormentes ou, talvez, adventícias.

### III — ANÁLISES DAS MUTAÇÕES SOMÁTICAS *nana* → *MURTA*

#### 1) Planta n.º 605 (Figs. 1 e 2)

A mutação somática descrita por Carvalho (planta n.º 605) se encontra transplantada em uma barrica de madeira, à meia sombra de um ripado. Trata-se de uma planta *nana* (*na na*), que dera origem, em 1939, a um ramo lateral *murta* (*Na na*). A mutação de um alelo *na* para a condição dominante *Na* constitui uma das explicações para o aparecimento de um ramo dessa natureza. Nestes últimos anos êsse ramo mutado se desenvolveu consideravelmente, tendo mesmo sido podado várias vêzes para que o resto da planta *nana* não percesse. Esta parte *nana* ainda não floresceu, apesar de a planta já ter 10 anos. O mesmo, porém, não ocorreu com o ramo mutado, *murta*, que vem florescendo, abundantemente, desde 1941. Tendo florescido nesse ano resolveu-se proceder à autopolinização artificial de suas flores e efetuar cruzamentos com genótipos conhecidos *Na Na*, *Na na* e *nana*. As classificações das mudas no viveiro, em 1942, derivadas de sementes obtidas dessas polinizações, forneceram os seguintes dados (Quadro I) :

## QUADRO I

RESULTADOS DAS AUTOFECONDAÇÕES E DOS CRUZAMENTOS COM A MUTAÇÃO SOMÁTICA *nana* → *MURTA*

	N.º DE PLANTAS				X <sup>2</sup>	Observações
	<i>nana</i> ( <i>na na</i> )	<i>murta</i> ( <i>Na na</i> )	<i>bourbon</i> ( <i>Na Na</i> )	Totais		
605 (M. s. <i>murta</i> ) auto-fecundado . . . . .	12	35	14	61	1,450	6 plantas não classificadas e 4 falhas
605 (M. s. <i>murta</i> ) x 1 ex( <i>bourbon</i> ) . . . . .	0	42	40	82	0,048	
605 (M. s. <i>murta</i> ) x 21-ex( <i>murta</i> ) . . . . .	16	30	22	68	1,998	5 plantas não classificadas
605 (M. s. <i>murta</i> ) x 21-177 ( <i>nana</i> ) . . . . .	20	25	0	45	0,554	6 plantas não classificadas

X<sup>2</sup> da tabela P-5%  
(3)      nf = 2 (1:2:1) : 6,0  
            nf = 1 (1:1) : 3,8

Verifica-se, pelos resultados obtidos, que as segregações encontradas se ajustam bem às relações esperadas de, respectivamente, 1 *Na Na* : 2 *Na na* : 1 *na na* para os casos de autofecundação e do cruzamento com *murta* e na relação 1 : 1 nos casos de cruzamento com *bourbon* e *nana*.

Dos resultados dessa análise se conclui que a segunda camada geradora (subepidérmica), responsável pela formação dos gâmetos, é, no galho mutado, de constituição *Na na*, pois estes se formam na relação de 50% *Na* e 50% *na*. Pondo de lado a possibilidade de a planta original já ser de constituição quimérica, pode-se formular as seguintes hipóteses sobre a natureza da constituição dos tecidos do ramo mutado:

- a) Todos os seus tecidos foram afetados pela mutação.
- b) Apenas a segunda camada geradora foi alterada. Neste caso dever-se-á supor que esta camada também é responsável pela morfologia das folhas.

Infelizmente, como ocorre com a grande maioria das plantas *nana*, a parte normal da planta n.º 605 ainda não floresceu, o que teria dado ensejo para se verificar se a sua segunda camada geradora também é de constituição *na na* ou, no caso de se tratar de uma quimera, da constituição *Na na*. Neste caso, a mutação ocorrida teria afetado as células de uma outra camada, responsável pela morfologia das folhas. Esta hipótese da constituição quimérica da planta original 605 não é, entretanto, provável, como se deduz do exemplo seguinte :

## 2) Planta 21-201

Este cafeeiro *nana* foi obtido na descendência de uma planta *murta* (n.º 21), em 1934. Trata-se de um exemplar típico da variedade *nana*, que também foi plantado em uma barrica de madeira, afim de ser estudado convenientemente. Como acontece com raras plantas dessa constituição, a de n.º 21-201 floresceu um pouco em 1941, sendo efetuada, nesse ano, a autopolinização artificial de tôdas suas flores. As sementes obtidas foram semeadas em viveiro e, as mudas classificadas, em 1943, deram 8 plantas típicas *nana*. Recentemente, em 1945, a planta 21-201 produziu um ramo lateral do tipo *murta*, tal como aconteceu com a planta 605. Este ramo não floresceu, razão pela qual ainda não o pudemos estudar com detalhes. O que se pode deduzir, porém, desde já, é que, muito provavelmente, a segunda camada geradora da planta original, é, neste caso, de constituição *na na*, produzindo um único tipo de gâmetos. Cumpre notar que as fôlhas da parte *nana* da planta 21-201 são iguais em forma e tamanho às da parte *nana* da planta 605, o que faz supor que esta não seja de constituição quimérica.

## IV — ANÁLISE DA MUTAÇÃO SOMÁTICA *MURTA* → *BOURBON* (*Na na* → *Na Na*)

Dois casos foram encontrados que representam, com grande probabilidade, quimeras periclinais. Trata-se de duas plantas da variedade *murta* (*Na na*) que deram origem a alguns ramos com fôlhas bem típicas da variedade *bourbon* (*Na Na*) (Figs. 3 e 4).

Ambas se acham localizadas num dos lotes de seleção de café em Campinas. A de n.º RP 101-19 apresenta, atualmente, a parte mutada (*bourbon*) bem desenvolvida, ao passo que, na planta RP 103-17, o ramo *bourbon* foi, por descuido, parcialmente destruído.

Para explicar a origem desses ramos *bourbon* em planta *murta*, várias hipóteses poderiam ser feitas, tais como a de mutação somática do fator *na* para *Na*, a de uma segregação somática ou, ainda, da ocorrência de uma outra anomalia citológica (deficiência, etc.). A primeira delas é, sem dúvida, a mais aceitável, por se ter já verificado vários outros casos de instabilidade desse fator genético nos tecidos somáticos.

A análise genética dessa mutação somática foi iniciada em 1939, realizando-se, em 1942, novas autofecundações artificiais e hibridações, com o fim de confirmar os resultados obtidos na classificação das mudas derivadas das primeiras polinizações.

### 1) Resultados das autofecundações

Durante as floradas de 1939 a 1942, as flores de vários ramos, tanto da parte normal (*murta*) como dos ramos mutados (*bourbon*), dos cafeeiros

RP 101-19 e RP 103-17, foram protegidos com sacos de papel para garantir a autopolinização. Plantadas as sementes assim obtidas, respectivamente, em 1940 e 1943, realizaram-se, a seguir, as classificações das mudas no viveiro, obtendo-se os seguintes resultados (soma das duas gerações) :

### QUADRO II

#### RESULTADOS DA AUTOFECUNDAÇÃO DE RAMOS NORMAIS (*MURTA*) E MUTADOS (*BOURBON*)

		N.º DE PLANTAS				X <sup>2</sup>
		<i>nana</i> ( <i>na na</i> )	<i>murta</i> ( <i>Na na</i> )	<i>bourbon</i> ( <i>Na Na</i> )	Totais	
R.P.101-19	Parte normal ( <i>murta</i> ) . . .	32	71	34	137	0,24
	Ramos mutados ( <i>bourbon</i> ). . .	37	50	30	117	3,30
R.P.103-17	Parte normal ( <i>murta</i> ) . . .	18	32	20	70	0,63
	Ramos mutados ( <i>bourbon</i> ). . .	6	11	5	22	0,09

$$X^2 \text{ da tabela para } nf = 2 \left\{ \begin{array}{l} 5\% \dots 6,0 \\ 1\% \dots 9,2 \end{array} \right.$$

Verificou-se, pois, com surpresa, que também as sementes colhidas nos ramos mutados, com toda aparência de *bourbon*, forneceram populações que segregaram, em plantas *bourbon*, *murta* e *nana*, na proporção de 1 : 2 : 1, exatamente como aconteceu com os lotes derivados de sementes colhidas na parte normal (*murta*) das plantas.

#### 2) Resultados de cruzamentos entre galhos normais e mutados da mesma planta

Ao mesmo tempo que se autofecundaram artificialmente as flores destas duas plantas, foram efetuados, na florada de 1942, alguns cruzamentos recíprocos, na planta RP 101-19, entre galhos normais e mutados. Os resultados foram os seguintes :

### QUADRO III

#### RESULTADOS DOS CRUZAMENTOS ENTRE RAMOS NORMAIS (*MURTA*) E MUTADOS (*BOURBON*)

	N.º DE PLANTAS				X <sup>2</sup>
	<i>nana</i> ( <i>na na</i> )	<i>murta</i> ( <i>Na na</i> )	<i>bourbon</i> ( <i>Na Na</i> )	Totais	
<b>RP 101-19</b>					
1) Ramos <i>murta</i> x Ramos <i>bourbon</i> . . .	16	44	22	82	1,32
2) Ramos <i>bourbon</i> x Ramos <i>murta</i> . . .	3	13	7	23	1,77

Ao invés de aparecerem nestes cruzamentos apenas duas classes (*murta* e *bourbon*), verificou-se que as mudas se separaram em três classes, aproximadamente, na proporção de 1:2:1, como seria esperado em caso de autofecundações da var. *murta*.

## V — DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Nos capítulos anteriores foram apresentados os resultados preliminares da análise genética de 4 mutações somáticas. Nos dois primeiros casos (plantas ns. 605 e 21-201), as plantas *nana* produziram ramos com folhas típicas da variedade *murta* (*Na na*). Como já foi dito atrás, a hipótese mais provável é que o ramo mutado seja inteiramente da constituição *Na na*, ou que represente uma quimera periclinal, apenas possuindo, por exemplo, uma segunda camada geradora da constituição *Na na*. Nesse último caso, esta camada também seria responsável pela morfologia das folhas, como acontece com *Datura stramonium*, onde essa camada é responsável pela maior parte dos tecidos das folhas. Poder-se-á também aventar a hipótese da planta original 605 ser uma quimera periclinal, cuja segunda camada apenas ou todos os tecidos internos fóssem de constituição *Na na*; no primeiro caso, a segunda camada não influiria na morfologia das folhas e, no segundo, o ramo mutado seria todo êle da constituição *Na na* e teria se originado, no tecido lenhoso, de uma gema adventícia ou derivada do tecido interno (*Na na*). Esta última hipótese não é provável, porquanto em outros exemplos (5) tem sido provado que os tecidos internos são responsáveis pelo porte das plantas. Nesse caso, a planta original apresentaria um porte mais elevado.

As dúvidas surgidas na interpretação dêstes dois primeiros casos são, em parte, dissipadas pelo exame dos outros dois exemplos de mutação somática (Plantas ns. RP 101-19 e RP 103-17), nos quais 2 plantas *murta* (*Na na*) deram origem a ramos com folhas típicas de *bourbon* (*Na Na*). A análise genética provou que aqui a mutação não afetou a segunda camada geradora responsável pela formação de gâmetos. As flores dos ramos mutados de *bourbon*, quando autofecundadas ou quando cruzadas com o *murta* primitivo, mostraram que os seus gâmetos segregaram nitidamente em 50% de *Na* e 50% de *na*, daí resultando a obtenção de populações que segregavam na proporção de 1 *bourbon* : 2 *murta* : 1 *nana*, como se espera da autofecundação de uma planta *murta* normal. Se é fato que a morfologia das folhas sofreu uma profunda modificação e se a segunda camada geradora em café **não** sofreu alteração, como o demonstrou a análise genética, conclui-se que esta camada não é, em *Coffea arabica*, a principal responsável pela morfologia das folhas. Uma outra camada geradora, cuja natureza ainda continua desconhecida, é que sofreu a mutação, alterando a forma e o tamanho das folhas. Comparando agora êstes resultados com a mutação somática ocorrida na planta n.º 605, chega-se à conclusão de que nesta, pelo menos, **duas** camadas foram alteradas, a segunda e uma outra (ou outra) que modificaram a morfologia das folhas.

## VI — RESUMO

Após uma discussão geral sobre a natureza das quimeras vegetais, esclareceu-se a ação dos alelos *Na na* em *Coffea arabica* L., chamando a atenção para diversos casos de mutações somáticas ocorridas com estes fatores, o que demonstra a sua instabilidade em determinados ambientes genéticos. A seguir, apresentam-se os resultados de diversas análises, com o fim de esclarecer a natureza genética de quatro dessas mutações somáticas. No primeiro caso (planta 605), o ramo *murta* (*Na na*) produzido numa planta *nana* (*na na*) revelou ser inteiramente da constituição *Na na* ou possuir, pelo menos, duas camadas de células geradoras mutadas, entre as quais a segunda, responsável pela origem dos gametas. Em duas outras plantas examinadas (RP 101-91 e RP 103-17), de constituição *Na na* (*murta*) e que produziram ramos com folhagem típica de *bourbon* (*Na Na*) a mutação, entretanto, não atingiu a segunda camada geradora, constituindo os ramos mutados prováveis quimeras genéticas periclinais. Não se conhece a estrutura exata dessas quimeras, porquanto não se sabe ainda quantas camadas geradoras existem em *Coffea arabica* L., e qual ou quais delas influenciam a forma das folhas. Apenas se conclui que a segunda camada geradora, aparentemente, não é a principal responsável por esse caráterístico.

## SUMMARY

After a short discussion on plant chimeras, the effects of the *Na na* alleles in *Coffea arabica* L. are presented and attention is called to the frequent appearance of somatic mutations of these genes, which are very unstable under the influence of certain genetic backgrounds. The analysis of some of these somatic mutants is then presented in detail. The first case deals with a *nana* plant (*na na*), which produced a *murta* branch (*Na na*); the results of selfing and crossing seemed to indicate that at least the second germ layer, which produces the gametes, was affected by the mutation.

Two *murta* plants (*Na na*) produced *bourbon* (*Na Na*) branches, which proved to be of a chimerical nature, as their second germ layer was not affected by the mutation, maintaining its original genetic constitution (*Na na*). The exact structure of these chimerical branches has not been established, as it is not known yet how many germ layers exist in *Coffea arabica* L. and which of them are responsible for the morphology of the leaf. It is however concluded from the analysis of the above mentioned cases, that the second germ layer takes no essential part in determining leaf morphology. Combining the results of the 3 analysis, it is concluded that the first of the above mentioned plants must therefore have at least two modified germ layers.

## LITERATURA CITADA

1. **Babcok, E. B. and R. E. Clausen:** *Em Genetics in Relation to Agriculture*: McGraw-Hill Book Company, Inc. New York and London: XXX: 356-371. 1927.
2. **Blakeslee, A. F., Sophia Satina and A. G. Avery:** Utilization of induced periclinal chimeras in determining the constitution of organs and their origin from the three germ layers in *Datura*. *Science* 91: 423. 1940.
3. **Brieger, F. G.** Tábuas e Fórmulas para Estatística. pg. 1-46 (Tábuas 2 e 7). Cia. Melhoramentos de São Paulo. São Paulo. 1937.



4. **Carvalho, Alcides.** Genética de *Coffea* : IV. Instabilidade do par de alelos *Nana* de *Coffea arabica* L. *Bragantia* 1: 453-466. figs. 1-9. 1941.
5. **Frost, H. B. and C. A. Krug.** Diploid-tetraploid periclinal chimeras as bud variants in *Citrus*. *Genetics* 27: 619-634. 1942. Trad. em *Bragantia* 4: 449-474. 1944.
6. **Krug, C. A.** Variações somáticas em *Coffea arabica* L. *Bol. Técn. Inst. Agr. Estado de São Paulo* 20: 1-10. figs. 1-6. 1937.
7. **Krug, C. A.** The Genetics of *Coffea* Part I. The inheritance of a dwarf type *nana*. *Journal of Genetics* 37: 41-50. 1938. Trad. *Bol. Técn. Inst. Agr. do Estado de São Paulo* n.º 47 : 1-13. figs. 1-4. 1939.
8. **Krug, C. A. e A. J. T. Mendes.** Conhecimentos gerais sôbre a genética e a citologia do gênero *Coffea*. *Rev. Agric. Piracicaba* 18: 399-408. 1943.
9. **Satina, S., A. F. Blakeslee and Amos G. Avery.** Demonstration of the three Germ Layers in the Shoot Apex of *Datura* by Means of Induced Polyploidy in Periclinal Chimeras. *Am. Jour. of Botany* 27: 895-905. 1940.
10. **Satina, S. and A. F. Blakeslee.** Periclinal Chimeras in *Datura stramonium* in Relation to Development of Leaf and Flower. *Am. Jour. of Botany* : 28: 862-871. 1941.
11. **Satina, S. and A. F. Blakeslee.** Periclinal Chimeras in *Datura* in relation to the development of the carpel. *American Journal of Botany* : 30 (7) : 453-462. 1943.
12. **Satina, Sophia.** Periclinal chimeras in *Datura* in relation to the development and structure (A) of the style and stigma (B) of calix and corola. *American Jour. of Botany* 31 (8) : 493-502. 1944.
13. **Winkler, H.** *Em* Strassburger et al.: *Lehrbuch der Botanik für Hochschulen* : 268-271. Jena Verlag Gustav Fischer, 15. Auflage 1921.

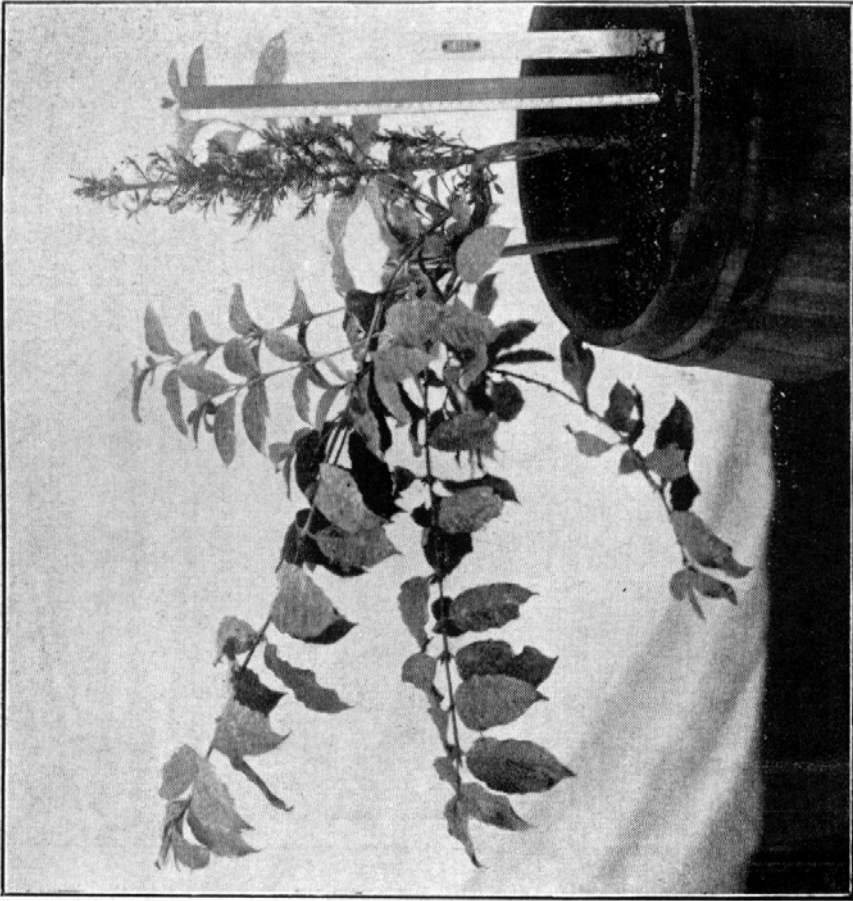


Fig. 2

A mesma planta fotografada em agosto de 1941.

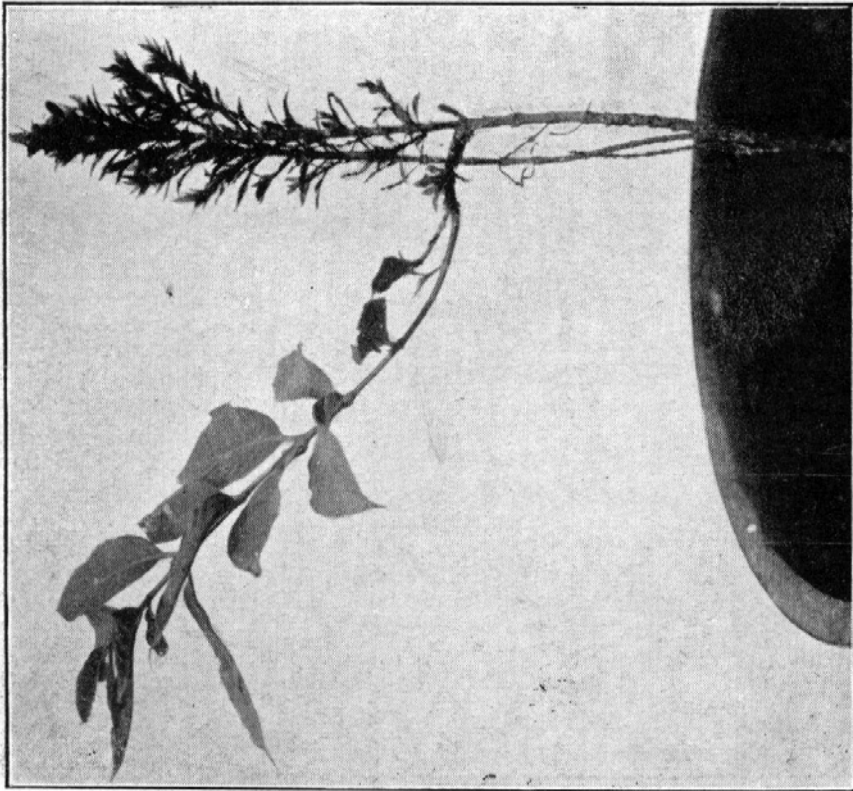


Fig. 1

Planta *nana* n.º 605 com um ramo de murta (*Na na*). Foto. agosto 1940.

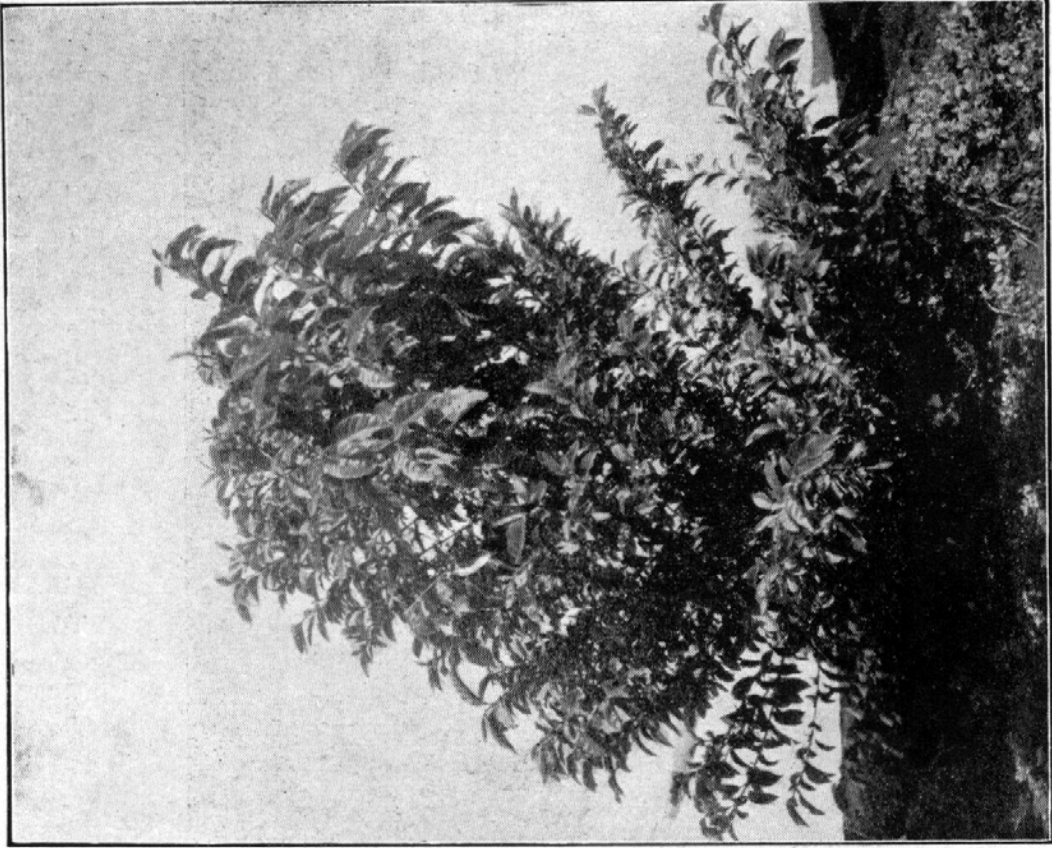


Fig. 4

Planta murta (*Na na*) n.º RP 103-17 com ramos de *bourbon* (*Na Na*).



Fig. 3

Planta murta (*Na na*) n.º RP 101-19 com ramos de *bourbon* (*Na Na*). Foto abril 1939.