

BRAGANTIA

Boletim Técnico do Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo

Vol. 20

Campinas, maio de 1961

N.º 12

VELOCIDADE DE PENETRAÇÃO DO TUBO POLÍNICO EM *COFFEA ARABICA* L. (1)

A. J. T. MENDES, engenheiro-agrônomo, Seção de Citologia, Instituto Agrônomo

RESUMO

Em *Coffea arabica* a cor amarela do endosperma é determinada por um fator genético recessivo *cera* (*ce ce*). Endospermas que trazem uma ou duas doses do dominante *Ce* são de cor verde. Esse fenômeno de xenia foi utilizado para determinar a velocidade de penetração do tubo polínico através do estilete. O método adotado foi o da polinização simultânea ou com horas de intervalo, dos mesmos estigmas com pólen *Ce* e pólen *ce*. Em seguida, de espaços a espaços de tempo eram eliminados os estilos.

Verificou-se que sem a introdução do tubo polínico no interior do ovário não se produz o estímulo para a frutificação. O pólen estranho emite tubos polínicos mais rápidos nos estilos da variedade *cera* do que o próprio pólen. No primeiro caso, os tubos polínicos levam 24 a 48 horas para se introduzir na cavidade ovariana; na autofecundação esse tempo se eleva para 48 a 68 horas. Comparando tais resultados com os obtidos anteriormente nas variedades *typica*, *semperflorens* e no café Mundo Novo, conclui-se que a velocidade do tubo polínico varia também de acordo com a variedade ou com as condições ambientais na ocasião da polinização.

1 — INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da semente e do embrião em *Coffea arabica* L. é um processo normal que se segue à fertilização e que já foi descrito (3). Ocasionalmente, a partenocarpia e a partenogênese também ocorrem nesta espécie: desenvolvimento de frutos sem semente e de embrião sem fertilização, após polinização intra- e interespecífica, quando as plantas diferem em número de cromossomos (4).

Mais recentemente, verificou-se que em *C. arabica* o desenvolvimento de frutos sem semente pode ser determinado por um par de fatores genéticos (*Dd*), como ocorre na variedade Mundo Novo (5).

No presente trabalho procuramos demonstrar que a indução do desenvolvimento do fruto, com ou sem semente, exige não só a polini-

(1) Recebido para publicação em 30 de janeiro de 1961.

zação mas, senão a fertilização, pelo menos a presença do tubo polínico no interior do óvulo; e que a velocidade de crescimento do tubo polínico varia na autofecundação e na polinização cruzada.

2 --- MATERIAL E MÉTODO

Existe uma variedade de café (*C. arabica* L. var. *cera* K.M.C.) cujas sementes são de côr amarelada, em contraste com a côr verde das demais variedades; essa peculiaridade se deve a um fator genético recessivo, *cera* (*ce ce*) (1).

No presente trabalho utilizamo-nos de plantas dessa variedade, pois que ela apresenta a vantagem de revelar, logo na semente, o efeito da polinização própria ou estranha.

Os botões prestes a se abrir eram emasculados e protegidos com saco de papel. Simultaneamente protegiam-se nas mesmas plantas *cera* (*ce ce*) e também em plantas da variedade maragogipe (*Coffea arabica* L. var. *maragogipe* Hort. ex Froehner) de constituição *Ce Ce*, botões prestes a se abrir, que serviriam para fornecer o pólen.

Em geral as flôres não emasculadas das mesmas plantas abriam-se no primeiro ou no segundo dia subsequente às castrações; as primeiras polinizações eram realizadas nessa ocasião. O pólen utilizado provinha de flôres abertas no mesmo dia, se possível, ou de flôres conservadas, após a abertura, em refrigerador doméstico, a cêrca de 5°C, dentro de caixas de petri com cloreto de cálcio, método comumente usado neste laboratório e pelo qual se conserva o poder germinativo do pólen por vários dias.

3 --- RESULTADOS

3.1 — EFEITO DA AUSÊNCIA DE POLINIZAÇÃO

Numerosas flôres emasculadas não foram polinizadas. Em nenhum caso houve formação de frutos: os ovários permaneciam por tempo variável prêsos aos ramos e o exame periódico de amostras colhidas revelou que em nenhum caso houve formação de perisperma ou endosperma.

Segue-se que há absoluta necessidade de polinização para que o fruto se desenvolva.

3.2 — EFEITO DA POLINIZAÇÃO, SEGUIDA DE ELIMINAÇÃO DO ESTILO

Em ramos com flôres polinizadas, uns com pólen da própria planta cêra (*ce*) e outros com pólen de maragogipe (*Ce*), procedeu-se à eliminação do estilo, decorridas 24, 41, 48, 68, 72 e 96 horas.

Como se pode verificar pelo quadro 1, não houve frutificação quando a eliminação do estilo foi realizada até 48 horas após a autopolinização; a frutificação, porém, não foi impedida, quando a eliminação do estilo se realizou depois de 68 horas.

No caso de polinização cruzada não houve fertilização quando o estilo era eliminado até 41 horas, porém, a eliminação às 48 horas já não era eficiente.

Torna-se evidente que a polinização é necessária ao desenvolvimento do fruto; e torna-se evidente também que, para isso, não é apenas um estímulo que se conduz do estigma ao ovário, mas sim o próprio tubo polínico; essa evidência é dada pela coloração das sementes, que eram cêra (*ce ce ce*) na autofecundação (2) e verdes (*Ce ce ce*) nos cruzamentos, significando, portanto, a fertilização.

QUADRO 1. — Efeito da eliminação do estilo após a autofecundação de *C. arabica* var. *cera* (*ce x ce*) e após o cruzamento com *C. arabica* var. *maragogipe* (*ce x Ce*)

Horas decorridas da polinização à eliminação do estilo	Autopolinização				Polinização cruzada			
	Flôres	Frutos	Sementes		Frutos	Flôres	Sementes	
			Cêra	Verde			Cêra	Verde
<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>
24	42	0	—	—	34	0	—	—
41	12	0	—	—	24	0	—	—
48	1	0	—	—	34	14	0	13
68	29	12	11	1	28	19	0	21
72	14	5	7	0	14	8	0	10
96	25	13	19	0	26	18	0	33

(2) Uma semente autofecundada era verde e não cêra; possivelmente houve contaminação de pólen.

3.3 — EFEITO DE POLINIZAÇÃO PRÓPRIA E CRUZADA SIMULTÂNEAS

As flôres de cinco ramos foram polinizadas simultaneamente com o próprio pólen (cera, *ce*) e com pólen estranho (maragogipe, *Ce*): 140 flôres deram 94 frutos com 134 sementes, sendo 80 verdes e 54 cêra (quadro 2).

QUADRO 2. — Efeito da autopolinização e da polinização cruzada simultâneas em *C. arabica* var. *cera*. Planta de constituição (*ce ce*) polinizada ao mesmo tempo com seu próprio pólen (*ce*) e com pólen *maragogipe* (*Ce*)

Identificação dos ramos	Flôres	Frutos	Sementes			Autofecundação	Fecundação cruzada
			Cêra	Verde	Total		
	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	%	%
N.º 1	56	27	8	33	41	19,5	81,5
N.º 2	28	24	16	23	39	41,0	59,0
N.º 3	16	15	8	12	20	40,0	60,0
N.º 4	24	15	10	8	18	55,5	45,5
N.º 5	16	13	12	4	16	75,0	25,0
Total	140	94	54	80	134	40,0	60,0

Êste resultado indica que, se bem que nesta variedade haja normalmente menos de 10% de polinização cruzada (1), o próprio pólen não é competitivamente mais eficaz que o pólen estranho; o resultado, aliás, dá uma indicação contrária.

E os dados indicam também que os insetos, o vento e outros vetores são agentes de muito pequena importância na polinização cruzada do cafeeiro, pois que razão não há para que a autopolinização se processe em tão alta escala relativamente à polinização cruzada.

3.4 — EFEITO DA POLINIZAÇÃO SEGUIDA DE NOVA POLINIZAÇÃO

As flôres de plantas cêra foram autopolinizadas e, decorridas 24, 41, 48, 68, 72 e 96 horas, novamente polinizadas com pólen estranho, de plantas maragogipe (*Ce*). Procedeu-se da mesma forma com flôres primeiramente polinizadas com pólen estranho e em seguida com o próprio pólen.

O quadro 3 mostra que o pólen estranho colocado sôbre os estig-

mas até 68 horas após a autopolinização é capaz ainda de determinar a fertilização. Quando se colocou o pólen estranho sobre os estigmas em primeiro lugar, o pólen próprio só foi eficaz quando colocado até 48 horas depois.

QUADRO 3. — Efeito de polinizações sucessivas da mesma flor de *C. arabica* var. *cera*. Autopolinização (*ce x ce*) seguida de polinização cruzada (*ce x Ce*) e vice-versa

Horas decorridas após a 1. ^a polinização	Autopolinização (<i>ce x ce</i>) seguida de polinização cruzada (<i>ce x Ce</i>)					Polinização cruzada (<i>ce x Ce</i>) seguida de autopolinização (<i>ce x ce</i>)				
	Flôres	Frutos	Sementes		Taxa de cruzamentos	Flôres	Frutos	Sementes		Taxa de autofecundação
			Cêra	Verde				Cêra	Verde	
	<i>n.^o</i>	<i>n.^o</i>	<i>n.^o</i>	<i>n.^o</i>	%	<i>n.^o</i>	<i>n.^o</i>	<i>n.^o</i>	<i>n.^o</i>	%
24	45	19	21	5	19	38	18	1	16	6
41	19	5	2	3	60	22	11	0	11	0
48	50	—	—	—	—	38	29	5	40	11
68	8	6	6	2	25	19	5	0	7	0
72	43	17	24	0	0	20	0	—	—	—
96	31	7	11	0	0	39	5	0	6	0

Em qualquer dos casos, verifica-se que a nova polinização é ineficaz, quando efetuada 72 horas após a primeira.

3.5 — COMPETIÇÃO DE TUBOS POLINICOS

Tendo os dois itens anteriores dado uma indicação de que o pólen estranho é no mínimo tão eficaz como o próprio pólen, senão mais eficaz, é interessante verificarmos, a seguir, que essa mesma indicação é obtida quando o pólen estranho é de outras variedades além da maragogipe.

As flôres foram autopolinizadas e, 24 horas depois, receberam pólen de uma das variedades indicadas no quadro 4. Outras flôres foram, em primeiro lugar, polinizadas com pólen estranho e 24 horas depois com o próprio pólen.

No primeiro caso verifica-se que com o pólen estranho ainda houve 24% de fertilização, tendo sido colocado sobre os estigmas com 24

horas de atraso. No segundo caso, o pólen próprio deu apenas 6% de fertilização, em idênticas condições.

QUADRO 4. — Eficácia da autopolinização seguida, 24 horas após, pela polinização cruzada e vice-versa em *C. arabica* var. *cera*

Procedência do pólen	Autopolinização seguida de polinização cruzada					Polinização cruzada seguida de autopolinização				
	Flôres	Frutos	Sementes		Taxa de cruzamento	Flôres	Frutos	Sementes		Taxa de autofecundação
			Cêra	Verde				Cêra	Verde	
	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	%	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	<i>n.º</i>	%
Caturra ..	41	23	28	3	90	26	3	0	4	0
Nacional ..	42	18	21	2	91	18	1	—	—	—
Amarelo ..	73	32	29	20	59	10	1	0	1	0
Bourbon ..	53	32	32	14	70	30	7	1	7	13
Erecta ..	23	11	12	2	86	19	1	0	2	0
Maragogipe (1) ..	45	19	21	5	81	38	18	1	16	6
Total ..	277	135	143	46	76	141	31	2	30	19

(1) Os dados relativos a Maragogipe são os mesmos do quadro 2.

É interessante verificar, de passagem, a menor frutificação quando em primeiro lugar foi feita a polinização cruzada, o que não pode ser atribuído à viabilidade do pólen, uma vez que o mesmo foi usado 24 horas depois, na outra série de polinizações, determinando um bom número de frutificações.

4 — DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O aparecimento de frutos sem semente em *Coffea* foi constatado anteriormente, em seguida a polinizações envolvendo cafeeiros com números diferentes de cromossomos e também devido à ação de determinado fator genético recessivo. Neste último caso, constatou-se mais que o endosperma chega a iniciar o desenvolvimento, que muito cedo se paralisa (5).

Trabalhando com as variedades *typica* (*Coffea arabica* L. var. *typica* Cramer) e *semperflorens* (*C. arabica* L. var. *semperflorens* K.M.C.) já havíamos verificado que o tubo polínico penetra no saco embrionário no mesmo dia da polinização (3). Mais recentemente (6)

constatáramos, no café Mundo Novo (*C. arabica* «Mundo Novo»), um interregno de cinco dias entre a polinização e a fertilização.

No presente trabalho verificamos que a introdução do tubo polínico no interior do ovário se deu, no caso de polinização cruzada, decorridas 24 a 48 horas; no caso da autopolinização ela se deu entre 48 e 68 horas. Há, portanto, uma variação grande de resultados, podendo-se concluir que a velocidade de penetração do tubo polínico depende da variedade, das condições de ambiente e de se tratar do próprio pólen ou de pólen estranho.

Quando a polinização se fêz simultâneamente com pólen da própria planta e pólen estranho, formaram-se mais sementes híbridas que autofecundadas. Quando se polinizaram flôres com pólen estranho, 24 horas após a autopolinização, ainda se formaram 24% de sementes híbridas. Em processo inverso, isto é, quando a auto-polinização se realizou 24 horas após a polinização cruzada, houve formação de apenas 6% de sementes autofecundadas. O método da eliminação dos estilos a diferentes espaços de tempo após a polinização, aliado a estas últimas observações, conduz à conclusão de que na variedade cêra a velocidade de crescimento dos tubos polínicos emitidos por pólen estranho é maior do que a dos tubos emitidos pelo próprio pólen. Esta reação favorável ao cruzamento teria, a nosso ver, qualquer relação com a fisiologia da heterose.

Carvalho e Krug (1) haviam verificado que na variedade cêra há menos de 10% de polinização cruzada, e que a porcentagem de fertilização resultante de autopolinização era maior que a de polinização cruzada. Se bem que pareçam contraditórios êsses resultados e os nossos, devemos lembrar que no estudo realizado por aquêles autores a polinização cruzada foi atribuída aos agentes comuns de polinização, podendo-se concluir que, no cafeeiro, os mecanismos que favorecem a polinização cruzada (principalmente o vento e os insetos) são altamente ineficientes.

Não há dúvida de que é necessária a introdução do tubo polínico no ovário para que um estímulo se produza e o fruto se desenvolva, mesmo sem a formação da semente. No entanto, falta ainda provar que tal introdução é não só necessária, mas suficiente; é possível que o tubo polínico desperte no óvulo o início da produção das auxinas encontradas no fruto maduro; porém, não fica provado se êsse estímulo se produz independente da fertilização. Em tal caso, a simples introdução do tubo polínico seria necessária, mas não suficiente.

SPEED OF POLLEN TUBE PENETRATION IN *COFFEA ARABICA*

SUMMARY

Yellow endosperm in *Coffea arabica* is determined by recessive gene (*cc ce*); single, double and triple doses of the dominante *Cc* determine the normal green color. Such a xenia mechanism has been used in this investigation to determine the speed of pollen tube penetration through the style. The stigmata of protected flowers were pollinated simultaneously, or at intervals of hours with both *Cc* and *cc* pollen. The styles were eliminated after a certain time had elapsed.

It has been found that, even though seedless fruits are formed in coffee, fruit development is not stimulated if the pollen tube does not penetrate into the ovary. Pollen tubes from foreign pollen grew faster through the *cera* styles than proper *cera* pollen tubes. In the first case, 24 to 48 hours elapsed between pollination and pollen tube penetration into the ovary; in selfing this process took 48 to 68 hours. Comparing these results with those previously obtained for the varieties *typica*, *semperflorens* and *Mundo Novo*, it can also be concluded that speed of pollen tube penetration varies according to the variety and environmental conditions.

LITERATURA CITADA

1. CARVALHO, A. & KRUG, C. A. Genética de *Coffea*. XII — Hereditabilidade da côr amarela da semente. *Bragantia* 9:[193]-202. 1949.
2. ——— Genetical proof of the existence of coffee endosperm. *Nature* 144:515. 1939.
3. MENDES, A. J. T. Cytological observations in *Coffea*. VI — Embryo and endosperm development in *Coffea arabica* L. *Amer. J. Bot.* 28:784-789. 1941.
4. ——— Partenogênese, partenocarpia e casos anormais de fertilização em *Coffea*. *Bragantia* 6:[263]-274. 1946.
5. ——— & MEDINA, DIXIER M. Contrôlo genético dos frutos chochos no café «Mundo Novo». *Bragantia* 14:[87]-99. 1955.
6. ———, MEDINA, DIXIER M. & CONAGIN, C. H. T. MENDES. Citologia do desenvolvimento dos frutos sem sementes no café «Mundo Novo». *Bragantia* 13:[257]-279. 1954.