

# BRAGANTIA

*Boletim Técnico da Divisão de Experimentação e Pesquisas*  
INSTITUTO AGRONÔMICO

Vel. 4

Campinas, Dezembro de 1944

N.º 12

## OBSERVAÇÕES CITOLÓGICAS EM COFFEA

### VIII — POLIEMBRIONIA

Antônio J. T. Mendes

#### I — Introdução

#### II — No gênero Coffea

1. Tipos de poliembrionia.
2. Frequência da poliembrionia verdadeira.
3. Ocorrência de sementes sem embrião.
4. Número de cromossômios nas plantas gêmeas e trigêmeas.
5. Investigações sobre as causas da poliembrionia verdadeira.
  - a) Sacos embrionários duplos.
  - b) Frequência e origem dos sacos embrionários duplos.
  - c) Consequência do fenômeno.

#### III — Discussão e conclusões

Sumário

Summary

Literatura citada

Descrição das figuras

#### I — INTRODUÇÃO

A ocorrência de sementes com mais de um embrião tem sido constatada num grande número de plantas tanto entre ginospermas como angiospermas, tendo sido publicada há poucos anos (Webber, 29) uma revisão dos trabalhos sobre esse assunto. Apesar de constatado em muitas espécies pertencentes às mais variadas famílias, o fenômeno não é, em geral, frequente.

Citemos, por exemplo, o arroz, no qual vários autores já fizeram observações sobre a poliembrionia. Rodrigo (23) observara uma semente di-embriônica em uma de suas sementeiras em que não havia anotado o total de sementes; tendo-se interessado pela questão, fez diversas

outras sementeiras, verificando então o aparecimento de mais um único par de plantas gêmeas, num total de 214.000 sementes. Namikawa e Kawakami (21), por outro lado, observaram 29 pares de gêmeas em arroz, tendo verificado que elas ocorriam bem mais frequentemente, isto é, numa percentagem de 0,05%. Também no trigo e no centeio a frequência da poliembrião foi anotada (Kostoff, 12), tendo sido constatado o aparecimento de 4 pares de gêmeas entre 18.275 "seedlings" de trigo (0,02%) e de 5 pares de gêmeas e uma trigêmea entre 20.393 "seedlings" de centeio (0,03%); entre 39.606 "seedlings" de tipos derivados de um cruzamento entre *Secale cereale* e *S. Montanum*, o mesmo autor encontrou 32 pares de gêmeas (0,08%).

Há gêneros de plantas em que a poliembrião é um fenômeno frequente: *Mangifera*, *Myrciaria*, *Eugenia* e *Citrus*. Juliano e Cuevas (8) verificaram que em *Mangifera* quase toda semente é poliembriônica, sendo que até aproximadamente 30 embriões foram encontrados numa única semente. Traub (28) observou que a poliembrião é uma ocorrência normal em *Myrciaria*. Johnson (7) encontrou em *Eugenia Hockery* sementes com desde 2 até 21 embriões, sendo frequentes os casos de 6, 10 e 15 embriões. Bacchi (1) e outros têm constatado intensa poliembrião em *Citrus*; neste gênero ela é um dos fenômenos mais interessantes; estudos detalhados (1) foram feitos sobre as suas causas citológicas.

O estudo citológico das plantas originárias das sementes diembriônicas tem revelado (Webber, 29) que, em geral, ambas têm o mesmo número de cromossomos que a planta das quais se originaram. Todavia, têm sido constatadas também as seguintes combinações: a) haplóide-haplóide; b) haplóide-diplóide; c) haplóide-triplóide; d) diplóide-diplóide; e) diplóide-triplóide; f) diplóide-tetraplóide; g) triplóide-triplóide e h) casos em que o número de cromossomos de uma ou ambas as plantas é aneuplóide. Sementes com 3 embriões, também têm sido encontradas; os "triplets" estudados em *Triticum* (Yamamoto, 30) e *Poa* (Muentzing, 20) eram de constituição, respectivamente, triplóide-triplóide-diplóide e diplóide-diplóide-triplóide.

Outro fenômeno que tem sido constatado, embora com bastante raridade, é o da ocorrência de sementes desprovidas de embrião; encontra-se referência ao mesmo nos seguintes gêneros: *Brassica* (Howard, 6), *Hordeum* (Harlan e Pope, 5), *Oryza* — 0,01 a 0,02% (Kondo e Isshiki, 11), *Triticum* — 0,1% (Lyon, 15 e Stevens, 26), *Ricinus* — 0,18% (Pristupa, 22) e *Zea* (Demerec, 3). Recentemente, Flemion (4)

verificou que certa notória deficiência de germinação das sementes de *Anethum graveolens* L. se deve à falta de embrião, tendo encontrado em alguns casos até 60% de sementes desprovidas de embrião.

Além destes dois fenômenos, conhece-se um terceiro pelo nome de "poliembriõnia falsa", que se refere à ocorrência de sementes aparentemente providas de mais de um embrião, mas que, na realidade, possuem apenas um embrião bifurcado ou ainda dois ou mais embriões localizados em endospermas separados (duas ou mais sementes juxtapostas dando a impressão de constituírem apenas uma). Kiesebach (9) estudou a "poliembriõnia falsa" como ocasionalmente se constata no milho: sementes cujo embrião tem múltiplas plúmulas e raízes primárias e apenas um cotilédone, dando origem a dois ou mais caules.

Sobre a origem dos embriões extraordinários, Webber (29) reúne os resultados colhidos por um grande número de autores; verifica-se que eles tanto podem originar-se de um único saco embrionário, como de **sacos embrionários extras**; a formação destes tem sido atribuída (Webber, 29) a: 1) desenvolvimento de macrosporocitos extras; 2) desenvolvimento de macrosporos irmãos; 3) aposporia (desenvolvimento de um gametófito a partir de célula outra que não o macrosporo).

Morinaga e Fukushima (19) encontraram, entre outros casos anormais de sacos embrionários de *Oryza*, um caso em que o saco embrionário era composto de dois sacos secundários, cada um contendo um grande número de células ou núcleos nus. Sharma (24) encontrou sacos embrionários duplos em *Tamarix ericoides*; eles se juxtapunham de tal forma a sugerir que se derivavam de duas células arquesporais situadas lado a lado. Tinney (27) encontrou, com certa frequência, em *Poa pratensis* dois sacos embrionários em desenvolvimento em óvulos jovens; se bem que não tivesse observado a célula inicial do saco extraordinário, achou muito provável que ambos se desenvolvessem independentemente a partir de duas células nucelares diferenciadas; não encontrou evidências para a formação de embriões por "brotamento esporófitico" do nucelo. Em *Lilium*, Kirch (10) encontrou sacos embrionários gêmeos, resultantes da divisão da célula-mãe do megasporo; encontrou também um saco embrionário triplo. Bacchi (1) encontrou, em *Citrus*, casos de formação de dois sacos embrionários juxtapostos que, segundo investigações ainda não publicadas do mesmo autor, provêm provavelmente de dois macrosporocitos.

II — NO GÊNERO *COFFEA*

Os fenômenos da **falsa** e da **verdadeira poliembrionia** (Figs. 1-10) assim como a formação de **sementes sem embrião** ocorrem em **Café**.

1) **Tipos de poliembrionia**

A "poliembrionia falsa", que em Café se origina pelo desenvolvimento de dois óvulos numa mesma loja do ovário, ocorre neste gênero com regular frequência -- até 27,5% (Krug e Mendes, 13).

A "poliembrionia verdadeira" tem sido constatada mais raramente; uma única semente possuindo dois embriões na mesma massa de endosperma foi encontrada pelos autores citados (Krug e Mendes, 13); anteriormente, também um único caso havia sido mencionado (Lambers, 14), sendo que, porém, o próprio autor tinha dúvida sobre a exatidão da observação. Mayne (16) fazendo dissecção de sementes imaturas de café encontrou também um caso de poliembrionia verdadeira.

2) **Frequência da poliembrionia verdadeira.**

Observamos um total de 180 sementes poliembrionicas de café, sendo de notar que 175 tinham 2 embriões e 5 tinham 3. O fato de termos encontrado um número tão grande de sementes poliembrionicas não quer dizer que o fenômeno seja frequente. As primeiras 141 sementes poliembrionicas (137 de *Coffea arabica*, 4 de *C. canephora* e 1 de *C. excelsa*) foram obtidas em diferentes ocasiões de várias sementeiras cujo total de sementes não havia sido anotado; depois, para que pudéssemos ter uma idéia precisa sobre a frequência do fenômeno, um certo número de sementes de origens diversas foi semeado, determinando-se nêle a percentagem de poliembrionicas.

As sementes foram semeadas em caixas de Petri, tendo ao fundo um papel-chupão umedecido; à medida que germinavam, eram eliminadas as normais, ao passo que as poliembrionicas eram transplantadas para vasos ou canteiros. O quadro I mostra o resultado obtido nestas sementeiras.

Como se vê no mesmo, num total de 11.379 sementes, encontramos 108 poliembrionicas, representando em geral menos de 1% (justamente onde a percentagem foi maior, o número de sementes examinadas foi pequeno). Numa sementeira comum, em canteiro, o aparecimento de

plantas provenientes de sementes poliembriônicas, no entanto, deve ser bem menos frequente, pois nem tôdas as sementes poliembriônicas germinam normalmente.

QUADRO I

ESPÉCIES E VARIEDADES	TOTAL	ABSOLUTO			PERCENTAGEM		
		Com 1 embrião	Sem embrião	Com 2 e 3 embriões	Com 1 embrião	Sem embrião	Com 2 e 3 embriões
<b>I. COFFEA ARABICA</b>							
a) var. <i>bourbon</i>							
Híbridos 358x355	1.125	1.108	9	8	98.5	0.8	0.7
" 358x359	509	501	4	4	98.4	0.8	0.8
" 358x360	790	777	8	5	98.4	1.0	0.6
" 359x355	422	413	7	2	97.8	1.7	0.5
Planta... 368	453	447	6	0	98.7	1.3	0.0
" 369	1.813	1.771	32	10	97.6	1.8	0.6
" 371	1.027	1.011	7	9	98.4	0.7	0.9
" 2 — 6	1.000	975	10	15	97.5	1.0	1.5
" 2 — 6	688	678	4	6	98.5	0.6	0.9
" 2 — 6	40	39	0	1	97.5	0.0	2.5
" 2 — 6	478	473	4	1	97.1	0.8	2.1
" (1x8)-13	900	855	18	27	95.0	2.0	3.0
" (1x8)-13	208	199	7	2	95.6	3.4	1.0
Total: .....	9.453	8.528	116	79	98.0	1.2	0.8
b) var. <i>typica</i>	56	54	—	2	96.4	—	3.6
c) mistura de sementes	674	665	—	9	98.1	—	1.3
<b>II. COFFEA CANEPHORA</b>							
a) 1.ª amostra .....	280	279	—	1	99.6	—	0.4
b) 2.ª amostra .....	200	200	—	0	100.0	—	0.0
c) 3.ª amostra .....	200	198	—	2	99.0	—	1.0
<b>III. COFFEA EXCELSA</b>							
a) 1.ª amostra .....	280	279	—	1	99.6	—	0.4
b) 2.ª amostra .....	200	199	—	1	99.5	—	0.5
<b>IV. COFFEA LIBERICA</b>							
a) única amostra ....	23	22	—	1	95.7	—	4.3
<b>V. C. ARABICA x C. CANEPHORA</b>							
a) única amostra ....	13	12	—	1	92.3	—	7.7
TOTAL GERAL: .....	11.379	11.155	116	108			

Em geral, os dois embriões de uma semente di-embriônica germinam ao mesmo tempo; desde início, porém, o desenvolvimento das novas plantas também pode ser bem desigual; às vêzes emergem do endosperma duas radículas da mesma espessura, as quais se desenvolvem igualmente; outras vêzes notam-se, na grossura e no desenvolvimento, diferenças que podem ser muito acentuadas a ponto de uma das plântulas permanecer minúscula por muito tempo, perecendo finalmente. É comum a germinação normal de um embrião, enquanto que o outro,

menor e frequentemente mal formado, não chega a germinar e é empurrado para fora da semente pelo desenvolvimento do maior.

Como dissemos atrás, apenas cinco foram os casos observados de sementes tri-embriônicas; em todos êles notavam-se diferenças no desenvolvimento inicial das 3 plantinhas; em geral, uma delas desenvolvia-se bem e as outras duas mais lentamente.

Num único caso foi observado o aparecimento de uma radícula em cada extremidade da semente; na quase totalidade dos casos, elas surgiam no mesmo ponto, sendo apenas raramente afastadas alguns milímetros uma da outra.

Se a plantinha menos desenvolvida emite algumas raízes e consegue firmar-se num meio de cultura conveniente, ela finalmente toma impulso e chega a igualar-se à sua gêmea; se não emite logo uma boa raiz, ou se seus cotilédones são muito pequenos, ela morre dentro de pouco tempo.

Não se nota diferença morfológica apreciável entre as plantas que chegam ao estado adulto. Um único par de plantas apresenta-se hoje bastante interessante: uma tem fôlhas largas e outra tem fôlhas estreitas.

### 3) Ocorrência de sementes sem embrião.

Quando fizemos as sementeiras em caixas de Petri para a separação das sementes poliembriônicas, eliminamos, como dissemos, tôdas as que germinavam normalmente e, ao mesmo tempo, transplantamos as poliembriônicas; entretanto, restou nas caixas de Petri um certo número de sementes que não germinaram; fazendo uma cuidadosa dissecção das mesmas, verificamos que muitas eram dotadas de embrião aparentemente normal; porém, entre as de *C. arabica* var. *bourbon*, a maior parte era desprovida de embrião. Como se verifica pelo quadro I, entre 9.453 sementes desta variedade, 116 eram assim anormais, o que corresponde a 1,2%, enquanto a frequência das sementes poliembriônicas na mesma variedade foi de 0,8% em média.

Nenhuma referência foi encontrada na literatura sôbre êste assunto em *Coffea*.

### 4) Número de cromossômios nas plantas gêmeas e tri-gêmeas.

Apesar de termos observado algumas sementes poliembriônicas em *C. canephora* e em *C. excelsa*, só levamos a efeito contagens de cromos-

sômios em plantas provindas de sementes poliembriônicas de *Coffea arabica*.

Quase tôdas as variedades desta espécie têm 44 cromossômios somáticos; as sementes poliembriônicas por nós estudadas eram, na maior parte, colhidas em plantas das variedades "bourbon" e "typica", e, em menor escala, de algumas outras, tôdas com  $2n=44$ .

Colhemos raízes de um grande número de plantas gêmeas e trigêmeas; algum material não se prestou para contagem de cromossômios e muitas plantas morreram sem que se pudesse colhêr raízes das mesmas. Realizamos a determinação do número somático de cromossômios em 72 plantas (veja-se o quadro II), incluindo-se neste total 1 terno e 24 pares, ou sejam 3 trigêmeas e 48 gêmeas; as outras 21 plantas eram também de 21 sementes di-embriônicas, mas a contagem foi realizada apenas numa das plantas de cada par.

## QUADRO II

### CONTAGEM DE CROMOSSÔMIOS EM PLANTAS PROVINDAS DE SEMENTES POLIEMBRIÔNICAS

PLANTAS PROVENIENTES DE	TRIGÊMEAS	GÊMEAS		TOTAL
	Tôdas 3 examinadas	Ambas examinadas	1 apenas examinada	
embriões iguais .....	—	16x2	1	33
embriões desiguais .....	1x3	8x2	20	39

Em tôdas as 72 plantas foi determinado o número somático  $2n=44$ .

### 5) Investigações sôbre as causas da poliembrionia verdadeira.

#### a) SACOS EMBRIONÁRIOS DUPLOS.

No decorrer de um estudo sôbre o desenvolvimento do saco embrionário, do embrião e do endosperma em *C. arabica* L. (Mendes, 17), alguns casos interessantes de sacos embrionários duplos foram encontrados. Na literatura não há referência a êste fenômeno em *Coffea*.

Deixamos para o presente trabalho a descrição dos casos mais interessantes encontrados, apontando-os como os prováveis responsáveis pelo aparecimento da poliembrionia em Café.

Várias lâminas examinadas mostraram diferentes fases do desenvolvimento de sacos embrionários duplos; as figuras examinadas podem ser resumidas nos casos seguintes:

**Caso I:** Um gametófito completo juntamente com um outro no estado tetra-nucleado (fig. 11). Duas vezes deparamos com uma figura como esta, em ovários colhidos dois dias após a abertura das flores; não se vê aí qualquer vestígio de fertilização, mas é notável a diferença de estado dos dois gametófitos: um pronto para ser fertilizado e outro ainda no estado tetra-nucleado.

**Caso II:** Um gametófito completo juntamente com um outro incompleto (fig. 12). Este caso difere bem do anterior; naquele, um dos gametófitos ainda não estaria completamente constituído; neste, ambos já devem ter passado por tôdas as divisões.

No caso presente, em um dos gametófitos faltam 3 antípodas; no outro há todos os núcleos ou células e ainda uma antípoda extra. Em ambos notam-se oosfera e núcleos polares aparentemente normais.

**Caso III:** Dois gametófitos completos (fig. 13). Em três ovários observamos uma figura como esta.

**Caso IV:** Um gametófito fertilizado ao lado de um outro intacto (fig. 14). Não se nota separação entre as antípodas de ambos e em vez de seis, contam-se sete antípodas. O ovário em que observamos esta figura foi colhido 8 dias após a abertura da flor.

**Outros casos:** Devido à longa série de cortes em que se dispunham as figuras, não pôde ser bem interpretado um número apreciável de outros casos anormais com que deparamos; o fato é que em diversas ocasiões pudemos individualizar, entre outros núcleos situados numa mesma cavidade, oosferas, núcleos polares e antípodas extraordinárias em número; em alguns casos pudemos verificar vestígios de tubo polínico em ambos os sacos de uma mesma cavidade.

#### b) FREQUÊNCIA E ORIGEM DOS SACOS EMBRIONÁRIOS DUPLOS.

Um muito grande número de lâminas teve de ser examinado para o estudo do desenvolvimento normal do saco embrionário, do embrião e do endosperma de Café; à medida que deparávamos com os casos anormais, nós os deixávamos à parte para um estudo posterior que é o que vimos realizando agora; depois de encontrados já vários casos sem anotação sobre o número de óvulos examinados, resolvemos fazer



uma contagem que desse uma idéia da frequência dêste fenômeno : de 128 óvulos colhidos na data da abertura das flores de *C. arabica* var. *bourbon* e *C. arabica* var. *typica*, encontramos 122 contendo, cada um, um único saco embrionário normal, 3 contendo sacos embrionários duplos (2,27%), 2 com sacos embrionários que apresentavam número anormal de células e 1 óvulo sem qualquer sinal de formação ou desintegração de saco embrionário.

Com relação aos sacos embrionários duplos, nota-se que ambos os gametófitos se juxtapõem intimamente, dentro de uma mesma cavidade.

De acôrdo com o que já foi sugerido por outros autores (Webber, 29), dois macrosporocitos ou dois macrosporos irmãos poderiam determinar a formação de dois gametófitos assim unidos ; não há dúvida de que qualquer destas hipóteses poderia ser real no caso de Café, principalmente para os casos apresentados nas figuras 13 e 14. Porém a diferença de estado em que se encontram os gametófitos na figura 11 e o estado incompleto de um dos apresentados na figura 12, sugerem que um dêles pode resultar de divisão de uma das células do outro ; em conexão com esta idéia devemos lembrar que sacos embrionários com número anormal de antípodas foram anteriormente constatados por nós (Mendes, 17) ; uma célula extraordinária verificada num saco embrionário poderia dar origem a um outro gametófito.

#### c) CONSEQUÊNCIA DO FENÔMENO

É fácil imaginar qual a consequência da formação de sacos embrionários duplos ; se ambos os gametófitos são dotados de uma oosfera normal, cada uma delas naturalmente poderá dar origem a um embrião. Sementes com dois embriões podem, portanto, formar-se em tais casos. Se ambas as oosferas estiverem bem localizadas, como nos casos apresentados nas figuras 13 e 14, dois tubos polínicos que penetrem pela micrópila podem perfeitamente fornecer os gametas para fertilizá-las ; dois embriões normais, diplóides, resultarão dêsse processo. Uma das oosferas, entretanto, poderá permanecer intacta e para isso talvez influa uma localização como aquela apresentada na figura 12, em que a oosfera de um dos sacos embrionários está longe da micrópila, mergulhada num outro citoplasma. A fertilização de uma das oosferas, determinando a formação de um embrião diplóide, talvez exerça ainda um estímulo para o desenvolvimento partenogenético de um segundo embrião, que poderá ser haplóide ou diplóide, a partir da segunda oosfera. Sacos embrionários como aquêles representado na figura 12 também podem

ser a causa do aparecimento de duas radículas em pontos opostos ou afastados. No saco embrionário apresentado na figura 14, um dos gametófitos foi fertilizado, ao passo que o outro permanece intacto; como o óvulo que apresentou essa figura foi colhido 8 dias após a polinização, parece evidente que a segunda oosfera não mais seria fertilizada; num tal caso, torna-se possível o desenvolvimento de um embrião sexual e outro assexual. Na figura 11 é notável a diferença de desenvolvimento dos dois sacos embrionários; duas vezes deparamos com uma situação como esta, em que um dos sacos embrionários está pronto para ser fertilizado por ocasião da abertura da flor e o outro está bastante atrasado; em tais casos, é possível que apenas uma oosfera seja fertilizada; a outra, formada após a deiscência das anteras, desenvolver-se-ia partenogeneticamente.

Baseando-nos no número de sacos embrionários duplos encontrados, poderíamos esperar cêrca de 2,27% de sementes poliembriônicas, considerando que todos êles dessem desenvolvimento a dois embriões; como não é de se supor que isto aconteça, a frequência da poliembria deve ser menor. Os dados apresentados em nosso quadro I estão de acôrdo com esta dedução, pois, como se pode verificar alí, encontramos apenas 79 sementes poliembriônicas entre 9.453 sementes de *C. arabica* var *bourbon*, o que corresponde a 0,8%.

### III -- DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Em *Coffea arabica* constata-se dois fatos que parecem estar ligados entre si: o aparecimento de sacos embrionários anormais, verdadeiros sacos embrionários duplos, com duas oosferas, e o aparecimento de sementes poliembriônicas. Nenhum caso foi observado de formação de dois ou mais sacos embrionários isolados num mesmo óvulo; em todos os casos, êles estavam intimamente ligados, dentro de uma mesma cavidade. Apenas um caso foi observado de existência de dois embriões isolados numa mesma semente; na grande maioria dos casos os embriões apresentavam-se lado a lado, às vezes fundidos um ao outro. Tudo isto leva a crer que são estruturas como aquelas que ocasionalmente encontramos, que dão formação aos embriões super-numerários.

Era de se esperar que, pela localização longínqua de uma das oosferas em relação à micrópila ou pela entrada de um único tubo polínico, apenas uma das oosferas fôsse fertilizada, permanecendo a outra intacta. Um tal acontecimento poderia determinar o desenvolvimento

de um embrião sexual normal e estimular a outra oosfera a se desenvolver partenogeneticamente. Tivemos ocasião de observar um duplo saco embrionário numa flor colhida 8 dias após a polinização, em que apenas uma oosfera estava fertilizada, enquanto a outra permanecia intacta; um embrião com  $2n=22$  poder-se-ia desenvolver partenogeneticamente (partenogênese haplóide) a partir dessa oosfera, ou possuindo  $2n=44$ , no caso da ocorrência de uma duplicação dos cromossômios (partenogênese diplóide).

Entre as 72 plantas examinadas não foi encontrada uma sequer com  $2n=22$ ; tôdas tinham 44 cromossômios somáticos. Porém já é conhecido o fato do aparecimento de plantas haplóides com  $2n=22$  na progênie de plantas com 44 cromossômios somáticos (Mendes e Bacchi, 18). Infelizmente, não foi possível correlacionar o fenômeno da poliembrionia com o aparecimento destas plantas.

As plantas provenientes de sementes poliembrionicas continuam em estudo, pois ainda que tenham 44 cromossômios, não é impossível que algumas delas sejam o resultado de um "partenogênese diplóide".

É curioso que a poliembrionia em café, pelo menos quanto ao material até agora examinado, só produza plantas com o número somático de cromossômios igual ao encontrado na planta-mãe. A explicação parece que se pode encontrar na origem dos embriões super-numerários: em café, como mostramos no presente trabalho, tais embriões devem resultar de sacos embrionários estreitamente ligados, e, portanto, com uma micrópila comum. Aliás, o estudo da própria anatomia do óvulo de café, indicando que êste é dotado de um nucelo rudimentar, mostra que os embriões super-numerários se devem originar de células muito próximas, ou melhor de uma única célula, que é a célula-mãe do arque-spório. As nossas observações sôbre os sacos embrionários duplos estão de acôrdo com o que nos mostra êsse estudo anatômico.

Outras plantas em que o fenômeno da poliembrionia tem sido observado, são dotadas de grande nucelo, como acontece, por exemplo, com o caso de *Citrus*; em casos assim, os sacos embrionários poder-se-iam originar de células nucelares situadas longe umas das outras, e sem ligação com a micrópila, o que, no entanto, parece não acontecer (Bacchi).

A ocorrência de sementes desprovidas de embrião é bastante interessante. Naturalmente se pode imaginar que a formação de sementes assim se deve a um processo de fertilização incompleta, degenerando

a oosfera e desenvolvendo-se apenas o endosperma resultante da "tripla fusão". Em artigo anterior (Mendes, 17) já discutimos esta possibilidade. Uma possibilidade mais remota é que em tais casos a semente não seja dotada de um verdadeiro endosperma, mas de um "perisperma" resultante do desenvolvimento dos integumentos do óvulo.

## SUMÁRIO

Três fenômenos ligados ao desenvolvimento do embrião ocorrem no gênero *Coffea*: **poliembrionia**, **sementes sem embrião** e **sacos embrionários duplos**.

Sementes com dois e três embriões foram encontradas em *C. arabica*, *C. canephora*, *C. excelsa*, *C. liberica* e um híbrido entre *C. arabica* e *C. canephora*. Em *C. arabica* var. *bourbon* verificou-se uma frequência de... 0,8% em 9.453 sementes examinadas.

Sementes sem embrião foram encontradas, numa frequência de 1,2%, somente em *C. arabica* var. *bourbon*.

Vários casos de formação de sacos embrionários duplos foram encontrados em *C. arabica* L., numa frequência de cerca de 2,27%. A poliembrionia deve ser uma consequência deste fenômeno.

O exame citológico feito em 72 plantas provenientes de sementes poliembrionicas de *C. arabica* L., incluindo 3 trigêmeas, 48 gêmeas e 21 outras cujos pares não foram examinados, revelou que tôdas tinham o mesmo número de cromossômios ( $2n=44$ ) que a planta-mãe.

Em trabalho anterior havia sido revelada a ocorrência de plantas com  $2n=22$  na progênie de cafeeiros normalmente tetraplóides ( $2n=44$ ). A presente investigação não conseguiu ligar o aparecimento de tais "di-haplóides" com a ocorrência da poliembrionia.

## SUMMARY

*Polyembryony, embryoless seeds* and *double embryo-sacs* occur in the genus *Coffea*.

Di- and tri-embryonate seeds have been met with in *C. arabica*, *C. canephora*, *C. excelsa*, *C. liberica* and a hybrid between *C. arabica* and *C. canephora*. In the variety *bourbon* the frequency, based on 9.453 seeds examined, was 0.8%.

Embryoless seeds were seen in *C. arabica* var. *bourbon*, only; their frequency was 1.2%.

Various cases of formation of double embryo-sacs were found in *C. arabica* L., with a frequency of 2.27%. Polyembryony here is probably a consequence of this phenomenon.

A cytological examination of 72 seedlings raised from polyembryonic seeds of *C. arabica* L., including 3 triplets, 48 twins and 21 others whose mates were not examined, showed that all them had  $2n=44$ , this being the somatic number of the species.

Seedlings with half the number ( $2n=22$ ) of chromosomes of *C. arabica* L. were found and studied recently. Through the present investigation the author has not succeeded in linking the occurrence of such "di-haploids" with the occurrence of polyembryony.

#### LITERATURA CITADA

1. **Bacchi, Osvaldo.** Cytological Observations in *Citrus*. III — Megasporogenesis, fertilization and polyembryony. Bot. Gaz. **105** (2): 221-225. 1943.
2. **Cooper, D. C.** Haploid-diploid twin embryos in *Lilium* and *Nicotiana*. Amer. Jour. Bot. **30** (6): 408-413. 1943.
3. **Demerec, M.** Heritable characters of maize. XV — Germless seeds. Jour. Hered. **14**: 297-300. 1923.
4. **Flemion, Florence** and **Elizabeth Waterbury.** Embryoless dill seeds. Contr. Boyce Thomp. Inst. **12** (2): 157-161. 1941.
5. **Harlan, H. V.** and **M. N. Pope.** Some cases of apparent single fertilization in barley. Amer. Jour. Bot. **12**: 50-53. 1925.
6. **Howard, H. W.** The size of seeds in diploid and autotetraploid *Brassica oleracea* L. Jour. Gen. **38** (1-2): 325-340. 1939.
7. **Johnson, Arthur M.** Polyembryony in *Eugenia Hockery*. Amer. Jour. Bot. **23** (2): 83-88. 1936.
8. **Juliano, José B.** and **Cuevas, Numeriano L.** Floral morphology of the mango (*Mangifera indica* L.) with special reference to the pico variety from the Philippines. Phil. Agr. **21**: 449-472. 1932.
9. **Kiessebalch, T. A.** False Polyembryony in Maize. Amer. Jour. Bot. **13**: 33-34. 1926.
10. **Kirch, Sister M. Hyacynth.** Some abnormalities in the development of the embryo sac of *Lilium longiflorum*. Bull. Torr. Bot. Club **63**: 383-396. 1936.
11. **Kondo, M.** and **S. Isshiki.** The occurrence of abnormal rice grains possessing either no embryos or two. Ber. Ohara Inst. **6**: 515-524. 1935. Cit. em Pl. Breed. Abstr. **6** (1): 190. 1935.
12. **Kostoff, D.** The frequency of polyembryony and chlorophyll deficiency in Rye. Current Science **8** (8): 356-358. 1939.
13. **Krug, C. A.** e **J. E. T. Mendes.** A chamada poliembria em *Coffea*. Rev. de Agric. (Piracicaba) **10** (1-2): 43-48. 1935.
14. **Lambers, M. Hille Ris.** Polyembryonie en Polyspermie bij koffie. Mededeelingen van het Proefstation Malang n. 74. 1930. (Cit. por Krug e Mendes, 1935).
15. **Lyon, Mildred E.** The occurrence and behavior of embryoless wheat seeds. Jour. Agr. Res. **36**: 631-637. 1928.
16. **Mayne, W. W.** Annual Report Coffee Scientific Officer 1935-1936. Mysore Coffee Exp. Sta. Bull. 14. Bangalore, 1936.
17. **Mendes, A. J. T.** Cytological Observations in *Coffea*. VI — Embryo and endosperm development in *Coffea arabica* L. Amer. Jour. Bot. **28** (9): 784-789. 1941. Bragantia **2** (4): 115-128. 1942.
18. **Mendes, A. J. T.** e **Osvaldo Bacchi.** Observações Citológicas em *Coffea*. V. — Uma variedade haplóide ("di-haplóide") de *C. arabica* L. Journ. de Agron. **3** (3): 183-206. 1940.
19. **Morinaga, Toshitaro** and **Eiji Fukushima.** Cytogenetical studies on *Oryza sativa* L. III — Spontaneous autotetraploid mutants in *Oryza sativa* Jap. Jour. Bot. **9** (1): 71-94. 1937.

20. **Muntzing, Arne.** Polyploid from twin seedlings. *Cytologia*, Jubilee Vol.: 211-227. 1937.
21. **Namikawa, S. and J. Kawakami.** On the occurrence of the haploid, triploid and tetraploid plants in twin seedlings of common wheat. *Proc. Imp. Acad. Japan* **10**: 668-671. 1934.
22. **Pristupa, A. A.** Embryoless seeds in castor-oil plants. *Compt. Rend. Acad. Sci. U. R. S. S.* **28**: 657-659. 1940 (Cit. por Flemion, 1941).
23. **Rodrigo, P. A.** A case of polyembryony in rice. *Philippine Agriculturist* **14**: 629-630. 1926.
24. **Sharma, Y. M. L.** Gametogenesis and embryogeny of *Tamarix ericoides* Rottl. *Annals of Bot.* **3** (12): 861-870. 1939.
25. **Skovsted, A.** Cytological studies in twin plants. *C. R. Lab. Carlsber, Copenhagen* 1939. 22.<sup>a</sup> ser. *Physiol.*: 427-446. (Cit. em *Pl. Breed. Abstr.* **10** (2): 362. 1940).
26. **Stevens, O. A.** Wheat Grains without Embryos. — *Science* **97** (2508): 91. 1943.
27. **Tinney, Fred W.** Cytology of Parthenogenesis in *Poa pratensis*. *Jour. Agr. Res.* **60** (5): 351-360. 1940.
28. **Traub, Hamilton P.** Polyembryony in *Myrciaria cauliflora*. *Bot. Gaz.* **101** (1): 233-234. 1939.
29. **Webber, J. M.** Polyembryony. *Bot. Rev.* **6** (11): 575-598. 1940.
30. **Yamamoto, Y.** Ein Haplo-diploides Zwillingspaar bei *Triticum vulgare* Vill. *Bot. Mag. (Tokyo)* **50**: 573-581. 1936. (Cit. em *Pl. Br. Abs.* **7** (3): 304. 1937).

### DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

Fig. 1 — Sementes de café em germinação apresentando a poliembrionia verdadeira.

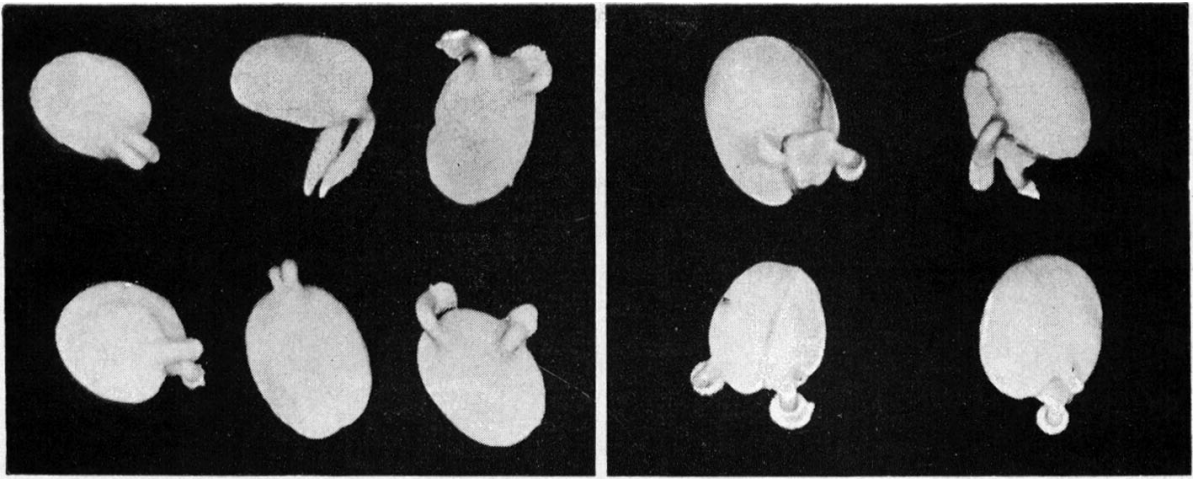
Fig. 2 — Sementes de café em germinação apresentando a poliembrionia falsa.

Fig. 3 — Semente de café em germinação apresentando as duas formas de poliembrionia: a falsa e a verdadeira.

Figs. 4 a 7 — Sementes de café em germinação apresentando a poliembrionia verdadeira: **4** — duas radículas normais; **5** — duas radículas desiguais; **6** — três radículas normais; **7** — duas radículas normais e um pequeno embrião expulso do endosperma.

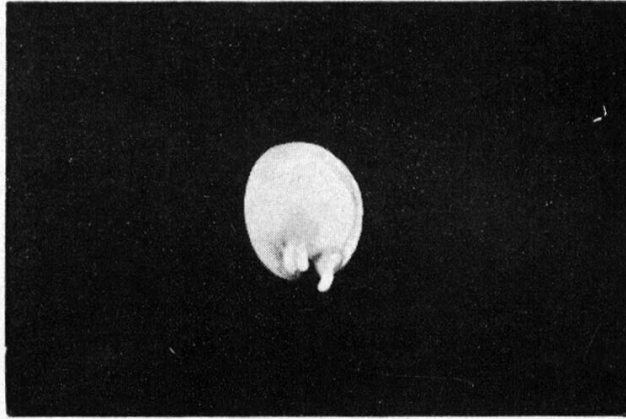
Figs. 8 e 9 — Sementes de café em germinação apresentando a poliembrionia falsa: **8** — duas massas de endosperma; **9** — três massas de endosperma.

Figs. 11 a 14 — Sacos embrionários anormais em *C. arabica* L.: **11** — Um gametófito completo e outro ainda no estado tetra-nucleado, em ovário colhido dois dias após a abertura da flor. **12** — Um gametófito completo (com quatro antípodas) e um incompleto (sem antípodas). **13** — Dois gametófitos completos, em ovário colhido dois dias após a abertura da flor. **14** — Um gametófito fertilizado ao lado de outro intacto, em ovário colhido 8 dias após a abertura da flor.

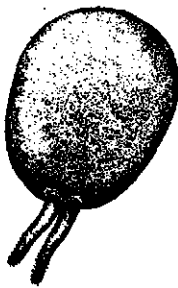


1

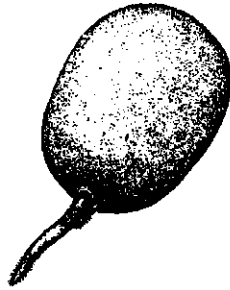
2



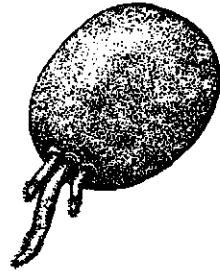
3



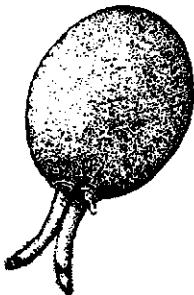
4



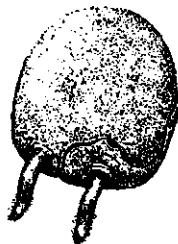
5



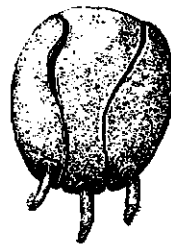
6



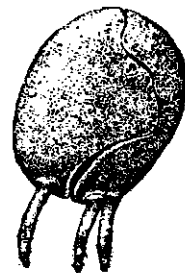
7



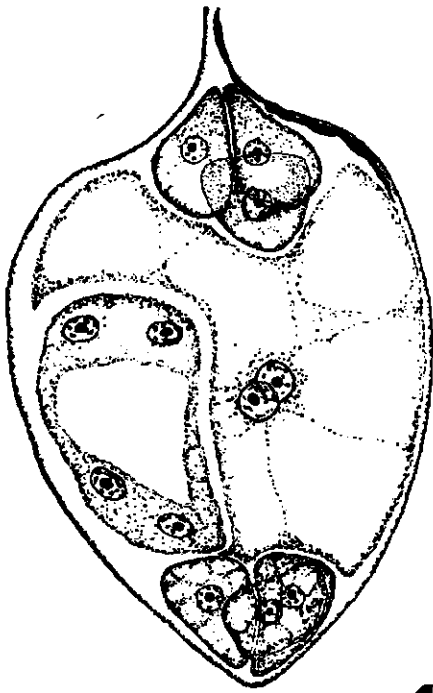
8



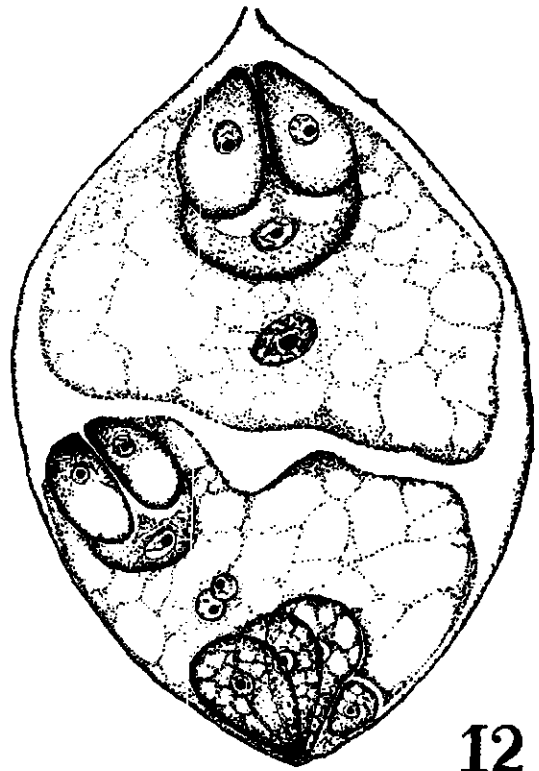
9



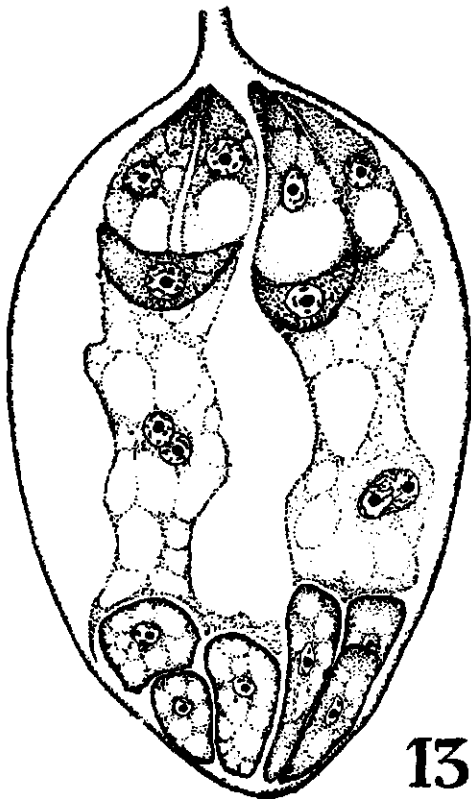
10



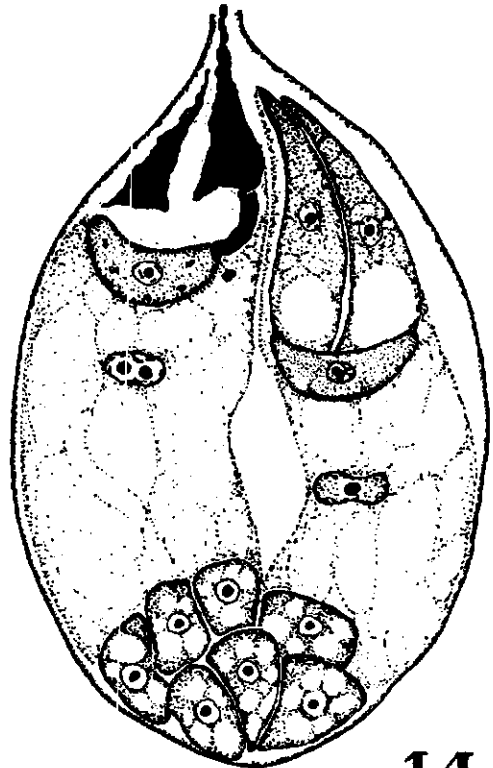
11



12



13



14