

BRAGANTIA

Boletim Científico do Instituto Agronômico do Estado de S. Paulo

Vol. 28

Campinas, outubro de 1969

N.º 25

MICROSPOROGENESE EM *COFFEA STENOPHYLLA* G. DON E *C. SALVATRIX* SWYNN ET PHIL (1)

DIXIER M. MEDINA, *engenheira-agrônoma, Seção de Citologia, Instituto Agronômico, e* LUISETE RIJO, *biologista, Centro de Investigações das Ferrugens do Cafeeiro, Oeiras, Portugal*

SINOPSE

Estudou-se a microsporogênese de *Coffea stenophylla*, G. Don e de *C. salvatrix* Swynn et Phil, espécies diplóides de *Coffea*, introduzidas respectivamente da Guatemala e da Colômbia e mantidas em coleção no Instituto Agronômico de Campinas.

O aspecto dos cromossomos é semelhante ao já descrito para outras espécies do gênero. O emparelhamento ocorre em todos os cromossomos, desde os estádios iniciais da prófase até a primeira metáfase; os 11 bivalentes formados separam-se normalmente nas anáfases, e os micrósporos resultantes são haplóides, com $n = 11$ cromossomos. O comportamento cromossômico nas diversas fases da meiose é regular na maioria das células mães.

O número de bivalentes com três, dois e um quiasma é, em média, 1, 4 e 6 para *C. stenophylla* e 1, 3 e 7 para *C. salvatrix*, num total de 16 e 17 quiasmas por célula, respectivamente. Parece haver em *C. stenophylla* variação maior nos tipos de distribuição dos quiasmas pelos bivalentes.

As irregularidades encontradas referem-se principalmente à ocorrência de monovalentes, de retardatários nas anáfases e à distribuição desigual dos cromossomos para os pólos.

Discute-se a possibilidade de formação de gametas com números de cromossomos diferentes de 11 e de gametas com conjuntos não balanceados, além dos haplóides normais.

1 — INTRODUÇÃO

Os estudos citológicos no cafeeiro vêm de longa data, e, apesar dos esforços empregados pelos investigadores de diferen-

(1) Trabalho efetuado em parte durante o estágio que o segundo autor realizou em 1966-1967, em Campinas, através do convênio Brasil-Portugal. Recebido para publicação em 18 de setembro de 1969.

tes partes do mundo, poucas são as espécies estudadas. Um dos fatores limitantes é possivelmente a falta de material vivo em coleção. No que diz respeito ao estudo dos cromossomos meióticos, há ainda a considerar as dificuldades de conservação do material coletado e de coloração dos cromossomos nos estádios iniciais da prófase. Por êsse motivo, os estudos da microsporogênese referem-se mais ao comportamento meiótico do que à morfologia dos cromossomos, como seria também desejável.

Assim, pois, das observações feitas em diferentes plantas da coleção dêste Instituto, sabe-se que a espécie *C. arabica* L., apesar de tetraplóide em relação ao número básico $x=11$, comporta-se como diplóide e que o processo da microsporogênese apresenta poucas irregularidades (8, 16). A meiose, nas formas monosperma (17) e *bullata* (6) de *C. arabica*, revelou as alterações do processo normal da meiose decorrentes da haploidia ou da poliploidia, respectivamente, dentro da mesma espécie. Meiose normal também ocorre nas espécies diplóides *C. congensis* Froehner, *C. Dewevrei* De Wild. et Th. Dur. e *C. canephora* Pierre ex Froehner (3, 9, 18).

As observações sôbre a microsporogênese em *C. stenophylla* e *C. salvatrix*, relatadas no presente trabalho, representam mais uma contribuição, com a qual se acrescentam novas informações ao conhecimento da citologia do gênero *Coffea*. Muito breve deverão ser publicados dados correspondentes a estudo semelhante, realizado em mais quatro espécies diplóides também pertencentes à Seção *Eucoffea*.

2 — MATERIAL E MÉTODO

As observações foram feitas em plantas existentes em coleção no Instituto Agrônômico de Campinas, na Estação Experimental "Theodoreto de Camargo". A espécie *C. stenophylla* é proveniente de sementes introduzidas da Guatemala, em 1952, registro n.º 14.377. As observações nesta espécie foram feitas em vários enxertos de uma mesma planta, da qual existe material herborizado na Seção de Botânica, dêste Instituto, sob o número IAC 20.246. Em *C. salvatrix*, as observações foram feitas nos dois exemplares que se encontram cultivados em viveiro, provenientes de sementes recebidas da Colômbia (Centro Nacional de fatores limitantes é possivelmente a falta de material vivo em quenhas, de poucos ramos e com floração ainda muito escassa

em 1966; nos dois anos subseqüentes houve sensível desenvolvimento das plantas, o que permitiu a complementação das observações; o material herborizado encontra-se na Seção de Botânica, sob os números IAC 20.244 e IAC 20.245.

Botões florais eram colhidos diretamente das plantas, ou então seu estado de desenvolvimento acompanhado no laboratório, em ramos conservados em água e em ambiente saturado de umidade. Neste último caso, os botões só eram aproveitados para as observações quando alcançavam a meiose no dia imediato ou, no máximo, dois dias após ao da coleta. A fixação foi feita em "Carnoy" 3:1, tendo-se tido o cuidado de, no dia seguinte, renovar a fixador, quando então os botões foram levados ao refrigerador à temperatura de 5-10°C. As observações foram feitas após fixação mínima de 48 h, tendo-se empregado a técnica do esfregaço em carmim acético.

A análise do número de quiasmas e sua distribuição pelos bivalentes em metáfase I e as observações sobre as irregularidades nas diferentes fases da meiose foram feitas em amostras coletadas em diferentes épocas de floração e até mesmo em diferentes anos.

As observações sobre grãos de pólen cheios e vazios foram feitas em cinco preparações com carmim acético, cada uma representando uma flor, nas quais cerca de 200 grãos foram contados ao acaso. Utilizou-se sempre pólen maduro, coletado no dia da antese, de flores previamente protegidas.

As fotomicrografias foram tiradas em Fotomicroscópio Zeiss, e os desenhos executados com câmara clara; as ampliações constam das respectivas figuras e estampas.

A descrição da microsporogênese é feita para as duas espécies em conjunto, uma vez que o processo é essencialmente semelhante. Oportunamente, no decorrer da apresentação das observações, serão especificados os dados de cada espécie em particular.

3 — OBSERVAÇÕES

3.1 — MARCHA GERAL DA MICROSPOROGÊNESE

No zigóteno e no paquíteno são bem evidentes as regiões centroméricas e as espessas concentrações proximais de cromatina, de extensões variadas, fortemente heterocromáticas e inter-

caladas por pequenas regiões eucromáticas. Os cromossomos mostram-se cada vez menos espiralizados em direção às partes distais, o que lhes dá aparência de mais finos e pouco cromáticos, tornando difícil distinguir os filamentos ao longo de todo o seu comprimento (estampas 1-A e 3-A e figura 1-A). Com o prosseguimento do processo, a cromatina vai-se concentrando ainda mais nas regiões proximais, devido naturalmente à maior espiralização. A figura 1-B mostra um microsporócito em que alguns pares se encontram em diplóteno, enquanto outros pares, com os centrômeros bem afastados, estão em diacinese inicial. A medida que a diacinese progride, a condensação da cromatina se torna mais localizada e próxima ao centrômero, enquanto os quiasmas tendem a terminalizar (estampas 1-B e 3-B).

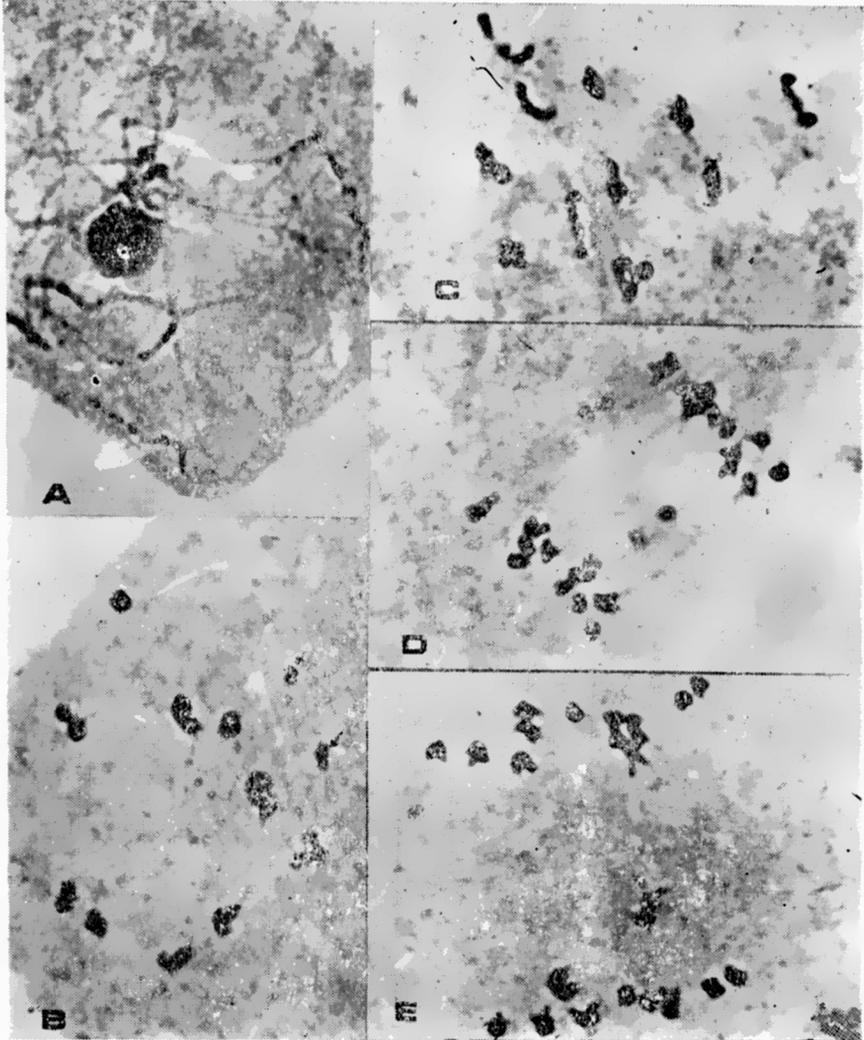
Em geral, há uma só massa nucleolar, à qual um, dois ou mais pares parecem ligados (estampas 1-B e 3-B), sendo possível observar, às vezes, as regiões organizadoras correspondentes. A distribuição dos bivalentes ligados ao nucléolo é variável, como se pode ver na seguinte relação:

Número de bivalentes ligados ao nucléolo	Número de células observadas	
	<i>C. stenophylla</i>	<i>C. salvatrix</i>
1	78	28
2	56	64
3	4	25
4	0	3
TOTAL	138	120

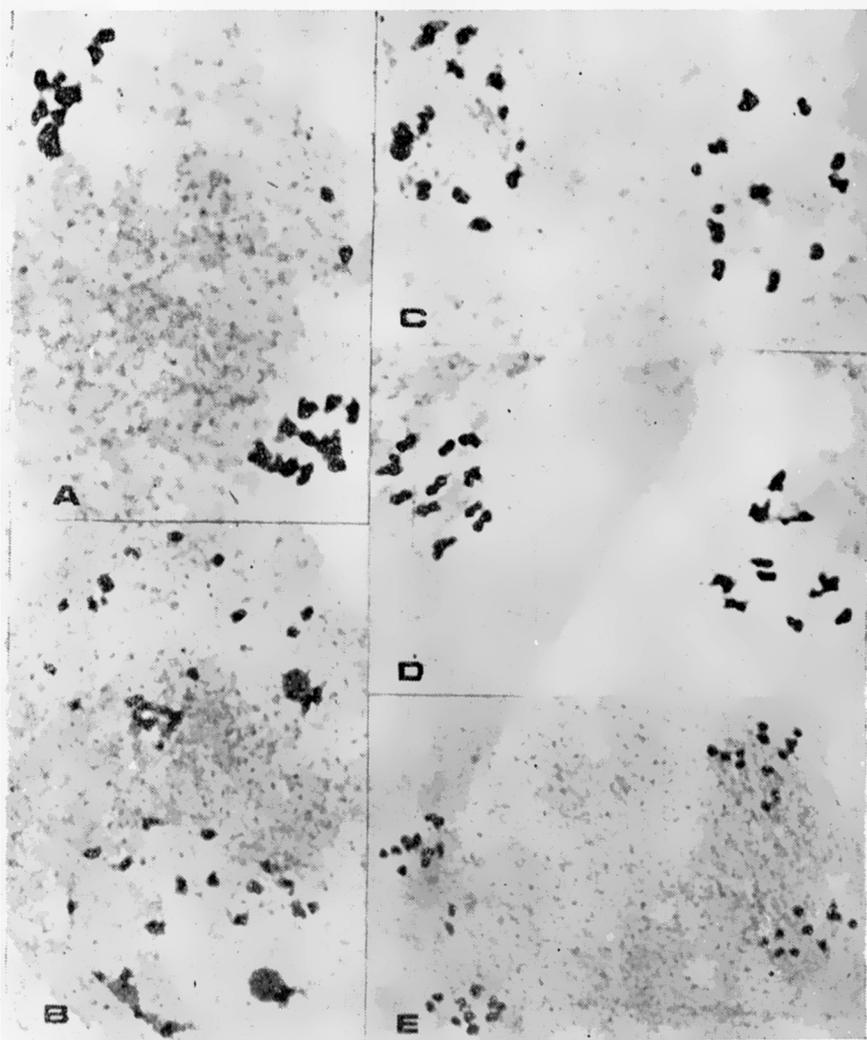
Em *C. stenophylla* predominam as diacineses com apenas um bivalente ligado ao nucléolo, enquanto em *C. salvatrix* o caso comumente observado é o de dois pares ligados. Ocasionalmente foram vistos diversos nucléolos, cada um deles associado a um ou mais bivalentes.

Na maioria das células mães, o emparelhamento se realiza em todos os cromossomos, e os 11 bivalentes são claramente observados a partir da diacinese até a metáfase.

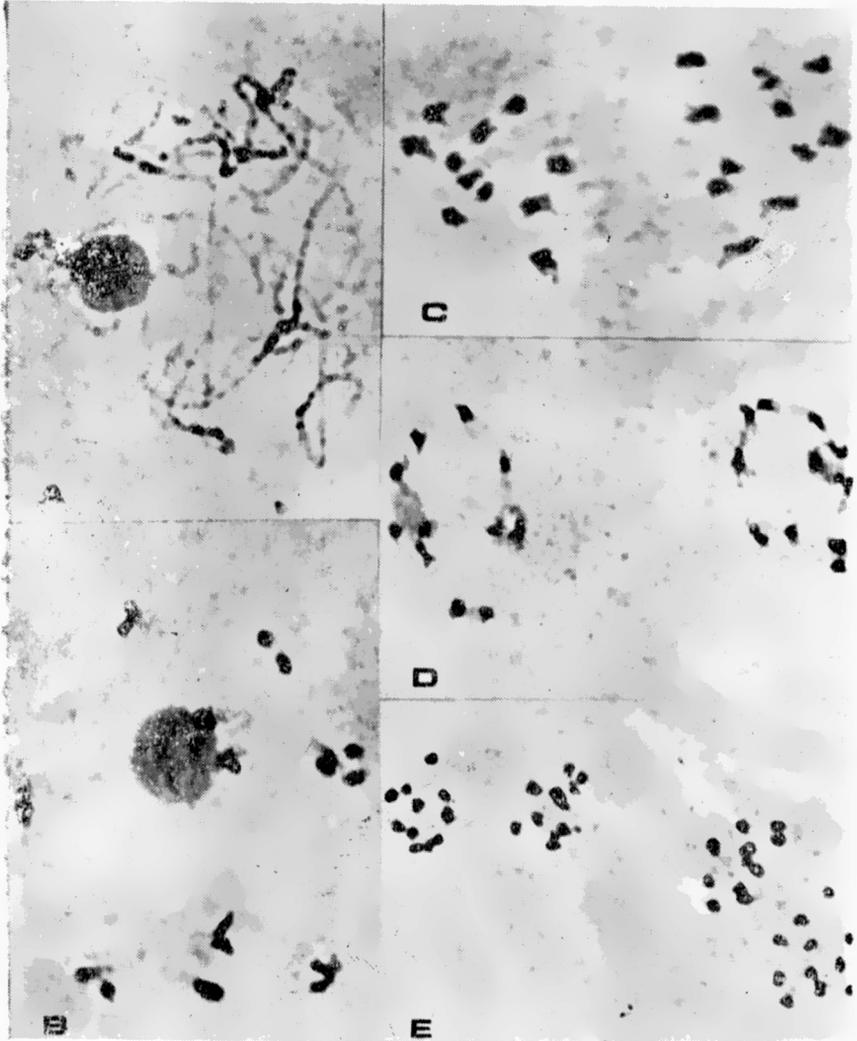
O desaparecimento completo do nucléolo coincide com a aproximação da metáfase. Apesar de os cromossomos já estarem em seu máximo de contração, seu aspecto é dificilmente identificado em vista polar desta fase; os bivalentes são mais facilmente analisáveis depois de orientados para iniciar a sepa-



Coffea salvatrix. A — Zigóteno x1100. B — Diacinese bem avançada, com 2^I indicados pelas flechas. x1390. C — Metáfase I, vista lateral. x1410. D — Anáfase I com divisão precoce de 2^I. x1580. E — Anáfase I com separação regular dos cromossomos. x1640.



Coffea salvatrix. **A** — Telófase I com dois cromossomos retardatários. x1640. **B** — Prófase II anormal com 22 cromossomos em cada núcleo. x1100. **C** — Prófase II com 10 cromossomos duplos e dois simples (resultantes da divisão de monovalentes) em cada núcleo. x1320. **D** — Metáfase II aparentemente regular x1170. **E** — Anáfase II com separação desigual em um dos conjuntos (10-12) e dois cromossomos retardatários no outro conjunto. x1030.



***Coffea stenophylla*.** A — Zigóteno, alguns centrômeros visíveis, zonas heterocromáticas proximais. x1690. B — Diacinese com 11 ^{II}, dois ligados ao nucléolo. x1500. C — Anáfase I com separação normal dos cromossomos. x1780. D — Prófase II aparentemente normal com 11 cromossomos duplos em cada pólo. x1320. E — Anáfase II com separação regular dos cromossomos x1320.

ração, ocasião em que evidenciam melhor a posição do centrômero e dos quiasmas (figura 1-C e D e estampa 1-C). As contagens de quiasmas foram feitas em microsporócitos mostrando bivalentes exatamente neste estado, e que costumamos chamar "metanáfase" (quadros 1 e 2).

QUADRO 1. — *Coffea stenophylla*. Número de quiasmas e sua distribuição pelos bivalentes em 114 células em metáfase I

Classes de distribuição dos quiasmas pelos cromossomos	Tipos de bivalentes				Freq. das células	Quiasmas p/ célula
	c/ 3 q.	c/ 2 q.	c/ 1 q.	c/ 0 q.		
	n.º	n.º	n.º	n.º	n.º	n.º
a	2	5	4	0	2	20
b	2	4	5	0	3	19
c	2	3	6	0	3	18
d	2	2	7	0	4	17
e	1	6	4	0	2	19
f	1	5	5	0	20	18
g	1	5	4	1	1	17
h	1	4	6	0	26	17
i	1	3	7	0	31	16
j	1	3	6	1	1	15
l	1	2	8	0	12	15
m	1	2	7	1	3	14
n	1	1	8	0	1	13
o	0	4	7	1	1	15
p	0	4	5	2	1	13
q	0	3	8	0	1	14
r	0	2	9	0	1	13
s	0	2	7	2	1	11
Total	121	402	721	10	114	1888
Média	1,06	3,52	6,32	0,08		16,56

Na primeira anáfase o processo da separação dos homólogos é mais ou menos sincronizado em todos os bivalentes, sendo uma fase favorável para a contagem dos cromossomos, que se dirigem para os polos (estampas 1-E e 3-C). No fim desta fase os cromossomos se aproximam, tornam-se indistinguíveis um do outro, e uma membrana nuclear se forma, evidenciando os dois núcleos

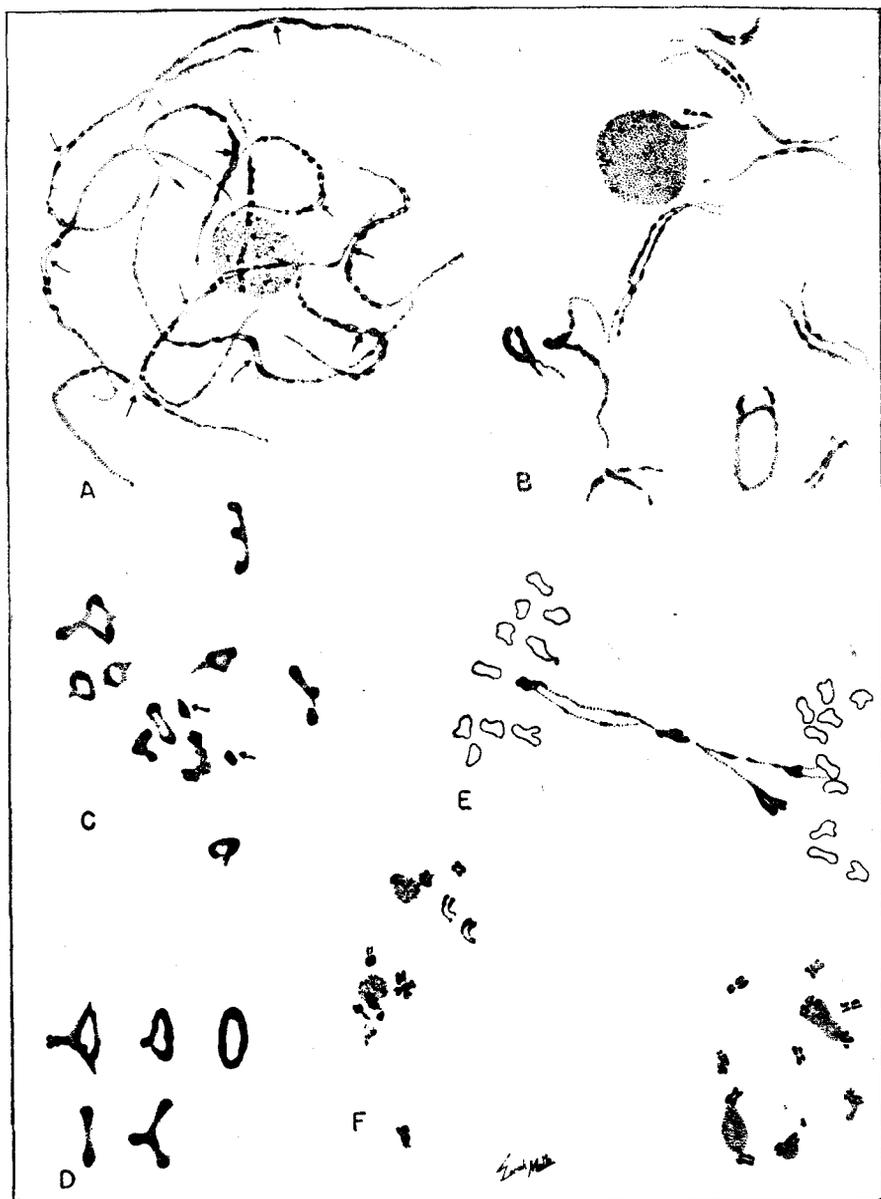


Figura 1. — A, B, E e F — *Coffea stenophylla*. C e D — *C. salvatrix*.
 A — Paquíteno inicial com os 11 cromossomos individualizados, centrômeros visíveis, indicados pelas flechas. x1050. B — Diplóteno, alguns pares com os centrômeros já afastados. x1690. C — Metáfase I mostrando $10 \text{ II} + 2 \text{ I}$ (indicados pelas flechas) x1690. D — Tipos de bivalentes e respectivos quiasmas: três quiasmas, dois quiasmas subterminais, dois quiasmas terminais, um quiasma terminal, dois quiasmas do mesmo lado do centrômero. E — anáfase I, com ponte. x1370. F — Prófase com 10 cromossomos num dos núcleos, 11 no outro e um cromossomo perdido. x1330.

telofásicos. A intercinese é bem mais rápida do que a prófase que se segue, a julgar pela facilidade com que se encontram prófases II; neste estágio da microsporogênese os cromossomos se individualizam novamente, sua duplicidade é bastante visível e um ou mais nucléolos se organizam (figura 1-F e estampa 3-D).

No máximo de sua nova contração, os cromossomos se orientam de novo na placa equatorial (estampa 2-D), e a divisão homeotípica tem lugar de forma regular na maioria das células (estampa 3-E). Os quatro núcleos formados após esta separação constituem-se em uma tétrade de micrósporos, a qual, mais tarde, liberta os grãos de pólen, que em geral têm 11 cromossomos.

3.2 — QUIASMAS

No quadro 1 estão reunidas as observações sobre quiasmas feitas nas plantas de *C. stenophylla*, num total de 114 células analisadas. Em média, seis bivalentes apresentam um quiasma, quatro formam dois quiasmas e apenas um par tem três quiasmas, e o total de quiasmas, por célula, cerca de 17.

As mesmas observações, feitas em 178 células de *C. salvatrix* (quadro 2), deram resultado um pouco diferente, ou seja, o número de bivalentes com um, dois e três quiasmas é respectivamente sete, três e um, o que dá um total de 16 quiasmas por célula, aproximadamente.

Verifica-se haver no complemento de cada uma das espécies, em média, um bivalente maior que os demais, no qual parece possível a existência de três quiasmas, dois de um mesmo lado e um do outro lado do centrômero. O restante é constituído, na sua maioria, de bivalentes abertos, com um só quiasma, e de bivalentes em anel, com dois quiasmas, um de cada lado do centrômero. Bivalentes abertos, com dois quiasmas de um mesmo lado do centrômero, são menos frequentes. Na figura 1-D, estão esquematizados diferentes tipos de bivalentes encontrados em metáfase I das duas espécies estudadas, alguns com quiasmas terminais, outros com quiasmas que não terminalizaram completamente.

3.3 — IRREGULARIDADES

Em alguns microsporócitos, nem todos os cromossomos homólogos estão pareados, e conseqüentemente monovalentes são observados. Observações incluindo diacineses, prometáfases e

QUADRO 2. — *Coffea salvatrix*. Número de quiasmas e sua distribuição pelos bivalentes em 178 células em metáfase I

Classes de distribuição dos quiasmas pelos bivalentes	Tipos de bivalentes				Freq. das células	Quiasmas p/ célula
	c/ 3 q.	c/ 2 q.	c/ 1 q.	c/ 0 q.		
	n.º	n.º	n.º	n.º	n.º	n.º
a	2	4	5	0	5	19
b	2	2	7	0	1	17
c	1	6	4	0	2	19
d	1	5	5	0	12	18
e	1	4	6	0	35	17
f	1	4	5	1	2	16
g	1	3	7	0	53	16
h	1	3	6	1	6	15
i	1	2	8	0	47	15
j	1	2	7	1	8	14
l	1	2	6	2	1	13
m	0	5	6	0	2	16
n	0	3	8	0	4	14
Total	180	533	1208	18	178	2849
Média	1,01	2,99	6,79	0,10	—	16,01

metáfases I de anteras de vários botões indicam que em *C. stenophylla* isso pode acontecer, em média, em 20% das células. Os microsporócitos com dois e até mesmo quatro monovalentes, nos quais os quiasmas do restante da guarnição puderam ser interpretados, constam também dos quadros 1 e 2.

Os monovalentes são facilmente notados já em diacinese (estampa 1-B) ou em metáfase I, próximo à placa equatorial (figura 1-C). Algumas vezes constata-se sua divisão precoce, enquanto o restante da guarnição está ainda em anáfase I (estampa 1-D) ou mesmo em telófase I, da mesma maneira como foi relatado para híbridos interespecíficos de *Coffea* (10 e 20). A divisão precoce foi também inferida do aspecto apresentado por certas células em prófase II, fase em que também é fácil distinguir na guarnição cromossômica os elementos duplos daqueles que são simples, menores portanto, provindos da divisão dos monovalentes (estampa 2-C). Devido às dificuldades de coloração e especialmente ao pequeno tamanho dos cromossomos, é impossível dizer se essa divisão, embora precoce, se faz de forma normal, se é do tipo chamado 'misdivision', ou se ambos os processos ocorrem.

QUADRO 3. — *Coffea stenophylla* e *C. salvatrix*. Porcentagens de células com irregularidades nas separações anafásicas

Espécie	Anáfase I		Anáfase II	
	c/ "laggards"	c/ distribuição diferente de 11-11	c/ "laggards"	c/ distribuição diferente de 11-11 — 11-11
	%	%	%	%
<i>C. stenophylla</i>	9,7	21,3	12,6	29,3
<i>C. salvatrix</i>	12,5	17,6	8,3	34,5

A primeira anáfase se processa algumas vezes de modo irregular, seja pela formação de agrupamentos com 10 (estampa 2-A) e com 12 cromossomos, seja pela perda de cromossomos retardatários, provenientes principalmente dos monovalentes. Este conjunto de irregularidades ocorre em média em 22,2% dos microsporócitos em *C. stenophylla* e em 17,6% em *C. salvatrix*. As

observações feitas levando em conta apenas a existência ou não de retardatários ("laggards") revelaram uma porcentagem bem mais baixa, ou seja, 9,6% e 12,5%, respectivamente para as duas espécies (quadro 3).

Igualmente, na segunda anáfase, alguns cromossomos se retardam e permanecem no citoplasma (estampa 2-E). Outras vezes há somente uma distribuição desigual dos elementos pelos pólos. Nas observações feitas para esse fim, encontraram-se as porcentagens médias, de 29,3% para *C. stenophylla* e 34,5% para *C. salvatrix*, de células cuja separação anafásica diferia do padrão 11-11 — 11-11. Quando as observações se limitaram a determinar segundas anáfases, com ou sem perda de cromossomos, essas porcentagens se reduziram respectivamente a 12,6% e 8,3% (quadro 3).

As observações sobre as tétrades de micrósporos e pólen maduro encontram-se resumidas no quadro 4. Num total de mil tétrades analisadas para cada uma das espécies, apenas oito eram anormais em *C. stenophylla* e 54 em *C. salvatrix*. As anormalidades referem-se especialmente a tétrades com número de micrósporos diferente de quatro, ou com micrócitos, ou com ambos. Quanto ao pólen, há apenas uma pequena porcentagem de grãos vazios, que é em média próximo de 10%.

QUADRO 4. — *Coffea stenophylla* e *C. salvatrix*. Número de tétrades normais e anormais e de grãos de pólen cheios e vazios

Espécies	Tétrades de micrósporos			Grãos de pólen		
	Normais	Anormais		Cheios	Vazios	
	n.º	n.º	%	n.º	n.º	%
<i>C. stenophylla</i>	992	8	0,8	1676	183	9,9
<i>C. salvatrix</i>	946	54	5,4	1904	200	9,5

Ainda com relação às irregularidades encontradas, tem-se a formação de pontes anafásicas (figura 1-E), tanto na espécie *C. stenophylla* com em *C. salvatrix*, as quais podem ocasionar a perda de segmentos cromossômicos. Nesta última espécie uma célula foi observada, e que, no estado de prófase II, não apresentava redução no número dos cromossomos (estampa 2-B).

Constatou-se, também, embora em raros casos, o fenômeno da citomixia, observado entre duas células em anáfase I, na espécie *C. stenophylla*, e em uma tétrade de micrósporos em *C. salvatrix*.

4 — DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Nas espécies *C. stenophylla* e *C. salvatrix*, o comportamento dos cromossomos nas diversas fases da meiose é bem semelhante ao das outras espécies já estudadas (3, 8, 9, 13, 16, 18). Assim, pois, o emparelhamento ocorre de maneira normal, e 11 bivalentes são observados na maior parte das células mães em diacinese ou em metáfase I. Seguem-se separações anafásicas regulares, conduzindo finalmente à formação de micrósporos haplóides com $n=11$ cromossomos.

A ocorrência de cromossomos monovalentes poderia indicar diferenças estruturais dentro do genômio dessas plantas, o que estaria de acôrdo com a sua freqüente observação nos híbridos interespecíficos já estudados (7, 10, 20). Isso, porém, não excluiria a possibilidade de serem êsses mesmos univalentes resultado de influências externas ocasionais.

As observações sôbre os quiasmas parecem indicar, em *C. stenophylla*, maior variação na sua distribuição pelos bivalentes: 18 classes diferentes foram observadas enquanto em *C. salvatrix* há apenas 13 (quadros 1 e 2). Apesar da tendência para maior número de bivalentes com três quiasmas que se observa em *C. stenophylla*, a média permaneceu ao redor de um bivalente apenas (quadro 1), possivelmente devido ao maior número de casos em que se constataram univalentes.

Que o número e distribuição de quiasmas estão sob o contrôle genotípico, foi amplamente discutido na revisão feita por Rees, em 1961 (22). Por outro lado, sabe-se que causas externas, como altas temperaturas (4, 5), maior ou menor distribuição de nutrientes modificando o meio interno da antera (23), podem influenciar o comportamento cromossômico, alterar o número, tipo e distribuição dos quiasmas e mesmo conduzir os cromossomos à completa asinapse em algumas plantas. Os univalentes constatados em certo número de casos poderiam ser, pois, o resultado de influências externas.

Os dados aqui apresentados, reunidos de observações feitas em vários botões colhidos em épocas diferentes, devem exprimir o resultado de uma interação dêsses fatôres, sendo impossível

estabelecer, no momento, a contribuição de cada um deles. De qualquer maneira, porém, os dados devem representar o comportamento meiótico dessas espécies nas nossas condições.

A existência de um bivalente aparentemente maior que os outros da guarnição e com três quiasmas foi constatada em *C. canephora* (18) e em *C. Dewevrei* (9), e se confirmou também nas espécies *C. eugenioides* Moore, *C. liberica* Bull ex Hiern, *C. racemosa* Lour. e *C. kapakata* Hirshfeldt (13), estudadas mais recentemente e cujos dados ainda não foram publicados. Esse fato está também de acordo com a morfologia dos cromossomos somáticos apresentada por Bouharmont (2); nos idiogramas por ele estabelecidos, um cromossomo é bem mais longo que os demais e parece corresponder, portanto, ao bivalente com três quiasmas, constantemente observado.

Com relação à divisão precoce de cromossomos monovalentes, é impossível esclarecer se ela se efetua sempre da maneira usual, como fazem os outros cromossomos na segunda anáfase, ou se às vezes é do tipo "misdivision" (24). De qualquer forma, se tais cromossomos se perderem, espera-se que se formem agrupamentos normais, com 11 cromossomos, assim como agrupamentos com n diferente de 11, dependendo naturalmente do número de monovalentes. Se, no entanto, forem eles recuperados e incluídos em parte nos núcleos filhos, guarnições com 11 elementos, mas com deficiências, duplicações ou ambas, além daquelas com n diferente de 11, poder-se-ão formar.

Outra fonte provável de deficiências e duplicações está no fenômeno de citomixia, também constatado no material em estudo e considerado como um efeito de anormalidades pré-meióticas espontâneas (19).

A ocorrência de uma célula mãe com dois núcleos em prófase II, com 22 cromossomos cada um, poderia ser explicada por endomitose após a primeira separação anafásica. A multiplicação dos cromossomos sem a subsequente divisão do núcleo é um fenômeno comumente observado em tecidos vegetais, como seja, nas raízes e no tapete da antera (1, 25), tendo sido também constatado no endosperma do milho (21) e no endosperma de diferentes espécies de *Coffea* (11, 12). Tal célula conduziria, provavelmente, à formação de gametas diplóides com $n=22$ cromossomos; aliás a formação de gametas não reduzidos é um fato já admitido através dos resultados de certos cruzamentos interespecíficos (14), realizados dentro do gênero *Coffea*.

Uma vez observado que a porcentagem de tétrades irregulares é bem mais baixa que a de pólen vazio encontrado (quadro 4), pode-se supor que, mesmo nas tétrades de quatro micrósporos, uma parte seja constituída de guarnições cromossômicas não balanceadas, que não evoluem para um pólen normal, sendo pois responsáveis por uma parte do pólen vazio. Por outro lado, as porcentagens de pólos com 11 cromossomos encontrados nos diferentes tipos de segundas separações anafásicas, sejam estas regulares ou irregulares, são da ordem de 80%; as porcentagens de pólen vazio, esperadas na base de que todo micrósporo com 11 cromossomos daria um grão de pólen normal, são bem mais altas do que as realmente encontradas no exame direto do pólen (quadro 5). Outros micrósporos, portanto, talvez aqueles com pequenas deficiências ou com número de cromossomos próximo de 11, devem produzir também pólen aparentemente normal, com citoplasma que se colore pelo carmin acético.

As separações anafásicas irregulares indicam, como já se referiu, a provável existência de pólen com 10 e 12 cromossomos, além daquele normal, com 11. Ocorrendo o mesmo fenômeno do lado feminino, no qual há maior chance de viabilidade para os gametas deficientes, plantas aneuplóides poderiam ser esperadas entre os descendentes, mesmo na suposição da viabilidade apenas do pólen com $n=11$. Entretanto, observações feitas em progênies das espécies diplóides não permitiram identificar plantas aneuplóides até o presente. É possível que plantas aneuplóides se formem realmente, mas sejam eliminadas devido à pequena viabilidade, ou então que os embriões aneuplóides produzidos sejam eliminados na forma de endospermas mal desenvolvidos, presentes nos frutos.

QUADRO 5. — *Coffea stenophylla* e *C. salvatrix*. Comparação entre a quantidade de pólen vazio diretamente observada e a esperada da análise de segundas anáfases

Espécies	Anáfase II			Pólen vazio	
	Total de pólos analisados	Pólos c/ 11 cromossomos		Esperado	Observado
	n.º	n.º	%	%	%
<i>C. stenophylla</i>	696	552	80,3	19,7	9,9
<i>C. salvatrix</i>	336	274	81,5	18,5	10,2

MICROSPOROGENESIS IN *COFFEA STENOPHYLLA* G. DON AND
C. SALVATRIX SWYNN ET. PHIL.

SUMMARY

Studies on the microsporogenesis in *Coffea stenophylla* and *C. salvatrix* demonstrated that the meiotic chromosomes of both species resemble those of the other diploid species of the genus *Coffea*. Complete chromosome pairing was observed from early prophase till first metaphase, with 11 bivalents being formed in most of the cells. These bivalents fall apart in a quite regular manner at the two anaphases.

The average numbers of bivalents with three, two and one chiasma at first metaphase are 1, 4 and 6 for *C. stenophylla* and 1, 3 and 7 for *C. salvatrix*, the mean number of chiasmata per cell being 17 and 16 respectively. Despite of the very similar numbers of chiasmata per cell, there is a greater variation in the chiasmata distribution to the bivalents in *C. stenophylla* than in *C. salvatrix*.

The irregularities observed are concerned principally to the occurrence of univalents, chromosomes lagging and unequal chromosome distribution to the poles at both anaphases. The possibility of the formation of gametes either with odd chromosome numbers or unbalanced chromosome set, besides the haploid and normal ones, is discussed.

LITERATURA CITADA

1. BERGER, C. A. Reinvestigation of polysomaty in *Spinacia*. Bot. Gaz. 102:759-769, 1941.
2. BOUHARMONT, J. Recherches sur les affinités chromosomiques dans le genre *Coffea*. Bruxelles, Institut National pour l'Étude Agronomique du Congo Belge, 1959. 94p. (Série Scientifique 77)
3. CONAGIN, C. H. T. M. Microsporogênese, incompatibilidade e esterilidade masculina em *Coffea congensis* Froehner. Bragantia 20:669-677, 1961.
4. DOWRICK, G. J. The influence of temperature on meiosis. Heredity 11:37-49, 1957.
5. JAIN, H. K. The effect of high temperature on meiosis of *Lolium*: nucleolar inactivation. Heredity 11:23-36, 1957.
6. KRUG, C. A. Observações citológicas em *Coffea*. III. Campinas, Instituto Agronômico, 1937. 19p. (Boletim técnico 27)
7. ——— & MENDES, A. J. T. Observações citológicas em *Coffea*. IV. Bragantia 1:467-482, 1941.

8. MEDINA, D. M. Observações citológicas em *Coffea*. XIV. Microsporogênese em *C. arabica* L. var. *rugosa* K. M. C. *Bragantia* 10:61-66, 1950.
9. ————. Observações citológicas em *Coffea*. XIX. Microsporogênese em *Coffea Dewevrei* De Wild et Th. Dur. *Bragantia* 19:767-784, 1960.
10. ————. Microsporogênese em um híbrido triplóide de *Coffea racemosa* Lour. × *C. arabica* L. *Bragantia* 22:299-318, 1963.
11. ————. O endosperma de café como material para estudos citológicos. *Bragantia* 23:179-186, 1964.
12. ————. Novas observações citológicas no endosperma do café. *Bragantia* 24:369-384, 1965.
13. ————; CONAGIN, C. H. T. M. & CRUZ, N. D. Microsporogênese em *Coffea liberica* Hiern, *C. racemosa* Lour, *C. eugenioides* S. Moore e *C. kapakata* Hirsh. (Em preparo)
14. MENDES, A. J. T. Partenogênese, partenocarpia e casos anormais de fertilização em *Coffea*. *Bragantia* 6:265-274, 1946.
15. ————. Observações citológicas em *Coffea*. XII. Uma nova forma tetraplóide. *Bragantia* 9:25-34, 1949.
16. ————. Observações citológicas em *Coffea*. XV. Microsporogênese em *C. arabica* L. *Bragantia* 10:79-87, 1950.
17. MENDES, A. J. T. & BACCHI, O. Observações citológicas em *Coffea*. V. Uma variedade haplóide ("di-haplóide") de *C. arabica* L. Campinas, Instituto Agrônômico, 1940. 26p. (Boletim técnico 77)
18. MENDES, C. H. T. Observações citológicas em *Coffea*. XVI. Microsporogênese em *Coffea canephora* Pierre ex Froehner. *Bragantia* 10:97-104, 1950.
19. MENDES, E. J. & RIJO, L. A new interpretation for "cytomixis". *Port. Acta biol., Série A*, 3:211-218, 1951.
20. MÓNACO, L. C. & MEDINA, D. M. Híbridões entre *Coffea arabica* e *C. kapakata*. Análise citológica de um híbrido triplóide. *Bragantia* 24:192-201, 1965.
21. PUNNET, H. H. Cytological evidence of hexaploid cells in maize endosperm. *J. Hered.* 44:257-259, 1953.
22. REES, H. Genotypic control of chromosome form and behaviour. *Bot. Rev.* 27:288-318, 1961.
23. ———— & NAYLOR, B. Developmental variation in chromosome behaviour. *Heredity* 15:17-27, 1960.
24. SEARS, E. R. Misdivision of univalents in common wheat. *Chromosoma* 4:535-550, 1952.
25. WITKUS, E. R. Endomitotic tapetal cell divisions in *Spinacia*. *Am. J. Bot.* 32:326-330, 1945.