

# OBSERVAÇÕES CITOLÓGICAS EM *COFFEA*

## XII — UMA NOVA FORMA TETRAPLÓIDE (1)

A. J. T. MENDES

Engenheiro agrônomo, Secção de Citologia, Instituto Agronômico de Campinas

### 1—INTRODUÇÃO

As variedades de *Coffea arabica* L. em cultura no Estado de São Paulo têm  $2n = 44$  e são chamadas tetraplóides, uma vez que são conhecidas diversas outras espécies diplóides, tais como : *Coffea canephora* Pierre ex Frochner e *Coffea Dewevrei* De Wild. et Th. Dur. com  $2n = 22$  cromossômios. Em uma propriedade agrícola foi encontrado, há alguns anos, um cafeeiro visivelmente diferente das variedades ali cultivadas, produzindo grande quantidade de frutos e apresentando evidências de grande rusticidade. Este exemplar e sua descendência, bem como numerosos híbridos entre êle e outras variedades, têm sido objeto de extensos estudos por parte das Secções de Genética e de Café, no Instituto Agronômico (3). O presente comunicado versará sôbre a citologia desta planta, fichada com o número "387", pela Secção de Genética.

### 2—NÚMERO DE CROMOSSÔMIOS

Para a determinação do número de cromossômios, utilizaram-se raízes obtidas de estacas, sendo a fixação feita em "Craf" e os cortes do material, incluído em parafina, coloridos pela hematoxilina. Verificou-se o número somático  $2n = 44$  cromossômios (fig. 1—A).

### 3—MICROSPOROGÊNESE E ESTUDO DO PÓLEN

O estudo da microsporogênese foi realizado em botões obtidos de enxertos da planta "387" e que vêm florescendo com regularidade em Campinas. Os botões foram colhidos em uma mistura de álcool absoluto e ácido acético na proporção de 3 : 1 e conservados em refrigerador. Do fixador, as anteras foram passadas diretamente para uma lâmina e coloridas pelo carmin acético.

Os estados iniciais da prófase não foram analisados em detalhe. Em diaquinese (est. 1—A) os cromossômios apresentam o aspecto característico, já verificado em outras espécies e híbridos de *Coffea* (1, 4, 5, 6), isto é, uma parte é bem colorida, enquanto uma ou as duas extremidades se colorem tão fracamente que, muitas vêzes, se perdem de vista. Na zona bem colorida situa-se o centrômero e os cromossômios repelem-se nessa região. Os

(1) Trabalho apresentado à Segunda Semana de Genética, realizada em Piracicaba, em fevereiro de 1949.

quiasmas se dão na parte pouco colorida e muitas vêzes passam despercebidos; é possível, nessa fase, analisar o pareamento dos cromossômios, porém a falta de coloração, em uma ou nas duas extremidades, faz com que muitas vêzes se contem univalentes onde, na realidade, há bivalentes. Em três células fizemos a seguinte observação sobre o pareamento (quadro 1):

QUADRO 1.—Pareamento dos cromossômios em diaquinese no Café "387"

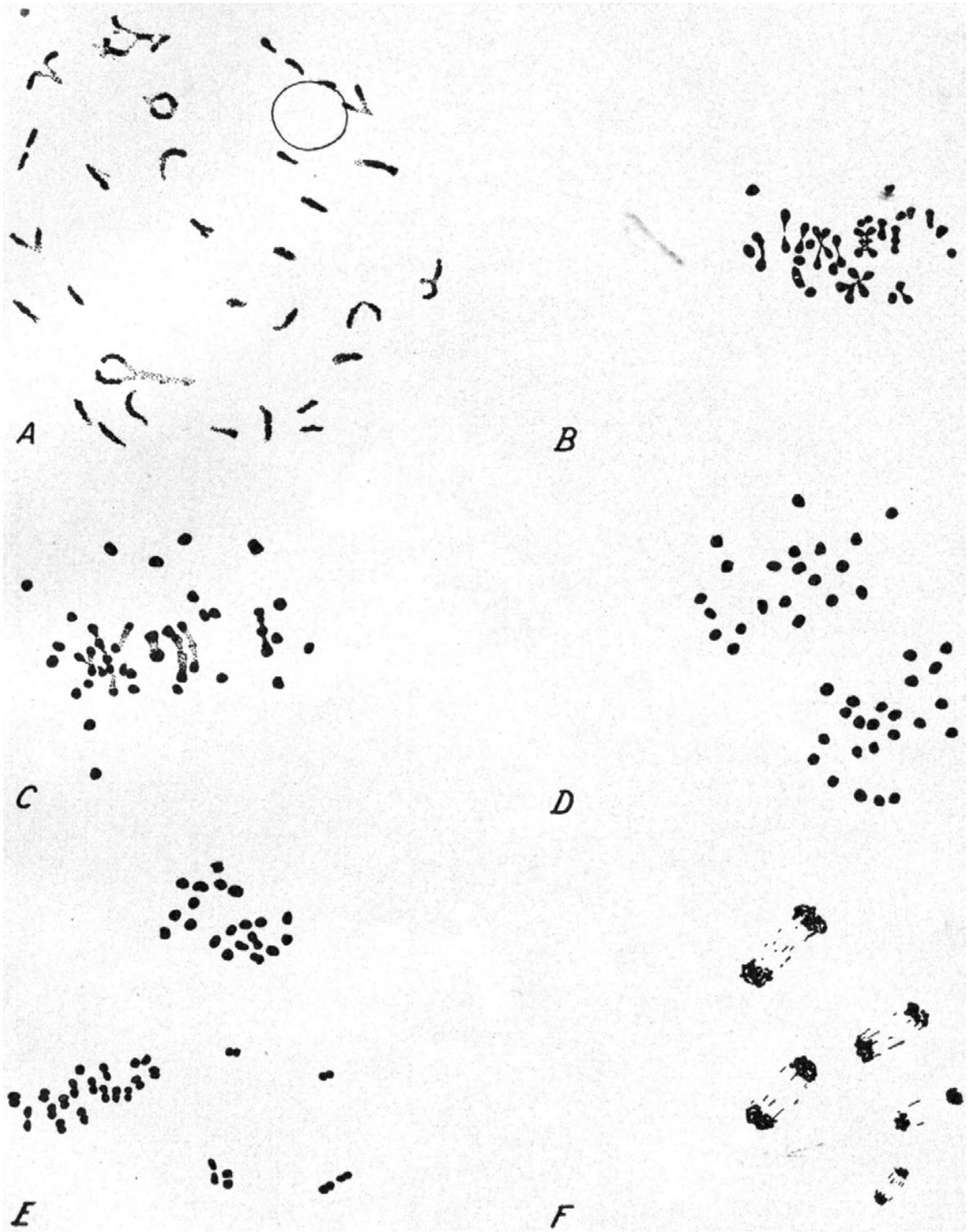
Número de células	Número de cromossômios		
	Univalentes	Bivalentes	Trivalentes
1 .....	15	13	1
1 .....	22	11	...
1 .....	24	10	...

Em doze células, em metáfase I (est. 1—*B*), observamos a seguinte valência dos cromossômios (quadro 2):

QUADRO 2.—Pareamento dos cromossômios em metáfase I no Café "387"

Número de células	Número de cromossômios			
	Univalentes	Bivalentes	Trivalentes	Tetralentes
1 .....	5	18	1	...
1 .....	10	15	0	1
1 .....	11	12	3	...
2 .....	12	16	...	...
3 .....	14	15	...	...
1 .....	16	14	...	...
2 .....	18	13	...	...
1 .....	27	5	1	1

Verifica-se, desde logo, que o pareamento dos cromossômios é anormal. Irregular também é a anáfase I (est. 1—*C*), onde se observa distribuição não equitativa dos cromossômios para os dois pólos e a existência de cromossômios, em número de 0 a 6, perdidos no citoplasma entre os dois pólos. Consequentemente, em metáfase II (est. 1—*D*), os núcleos se apresentam em geral com números diferentes de cromossômios. O quadro 3 mostra o resultado das contagens realizadas nos dois pólos de 50 células em anáfase I ou metáfase II:



Microsporogênese na planta "387" ( $\times 1070$ ): A — diaquinese; B — metáfase I; C — anáfase I; D — metáfase II, 21 + 23 cromossômios; E — metáfase II, vendo-se "lagers" divididos; F — anáfase II, vendo-se 5 grupos de cromossômios em divisão; esquema obtido sem câmara clara.

QUADRO 3.—Número e frequência de cromossômios nos pólos em anáfase I, metáfase II e em anáfase II, no Café "387"

Número de cromossômios	Frequência	
	Anáfase I e Metáfase II	Anáfase II
15 .....	...	2
16 .....	2	1
17 .....	3	0
18 .....	4	0
19 .....	5	0
20 .....	12	3
21 .....	14	3
22 .....	36	0
23 .....	10	3
24 .....	8	...
25 .....	3	...
26 .....	2	...
27 .....	0	...
28 .....	1	...
Total .....	100	12

Em anáfase II verifica-se ainda, às vezes, a existência de "laggards", porém a tendência é para a distribuição equitativa dos cromossômios (est. 1—E). Quando da anáfase I resulta um número de núcleos superior aos dois normais, nota-se, às vezes, que em todos êles se processa a anáfase II (est. 1—F). Pudemos efetuar contagens em 12 núcleos resultantes da segunda anáfase, obtendo os resultados constantes do quadro 3. Estas contagens mostram que os microsporos são formados com um mínimo de 15 cromossômios e um máximo de 28.

Terminadas as duas divisões, é grande o número de microsporocitos com mais de quatro células, sendo, em geral, quatro células grandes e uma ou mais pequenas (quadro 4) :

QUADRO 4.—Número e percentagem de microsporocitos com diferentes números e tipos de células em 311 contagens feitas na planta "387"

Células		Microsporocitos	
Grandes	Pequenas	Contagens	Percentagem
2 a 3	1 a 4	23	7,3
4	0	123	39,6
4	1 a 4	138	44,4
5 a 6	0 a 1	27	8,7
Total .....		311	100,0

Os grãos de pólen maduros são muito variáveis em tamanho e colorem-se diferentemente pelo carmim acético. Enquanto uns se colorem rapidamente, outros ficam praticamente incolores. Supondo que estes últimos são "anormais" e os primeiros "normais", fizeram-se as seguintes contagens (quadro 5) :

QUADRO 5.—Contagens e percentagens de grãos de pólen "normais" e "anormais" em cinco lâminas no "387"

Grãos de pólen	Lâminas					Total	Percentagem
	1	2	3	4	5		
Normais .....	23	28	29	35	40	155	31
Anormais .....	77	72	71	65	60	345	69
Total .....	100	100	100	100	100	500	100

Os grãos "normais" foram medidos em seis lâminas com o auxílio de uma ocular micrométrica 6x e uma objetiva 40x, de forma que cada divisão da ocular valia 2,3 micra. O quadro 6 mostra como são variáveis, em tamanho, esses grãos de pólen; a frequência maior está entre 15 e 16 divisões da ocular, tendo sido obtido o valor de 15,3 divisões da ocular para a média compensada, correspondente a 35,2 micra.

QUADRO 6.—Medições dos grãos de pólen em seis lâminas no café "387"

Lâminas	Número de divisões da ocular														Total
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
1	...	1	7	15	16	17	21	8	10	3	1	1	...	...	100
2	...	2	8	12	18	20	14	13	7	3	1	2	...	...	100
3	...	...	...	8	17	31	25	16	2	1	...	...	...	...	100
4	1	4	5	11	19	24	19	8	7	1	...	1	...	...	100
5	...	...	2	6	20	27	30	7	2	1	1	3	...	1	100
6	...	...	...	2	16	26	20	31	3	1	1	...	...	...	100
Total	1	7	22	54	106	145	129	83	31	10	4	7	0	1	600

Os grãos de pólen "normais" são esféricos, apresentando dois núcleos perfeitamente distintos: um esférico (vegetativo) e um fusiforme (reprodutivo).

Em lâminas preparadas com um filme de ágar a 0,5% e 10% ou 15% de sacarose, procedeu-se à sementeação do pólen, conservando-as, a seguir,

em câmara úmida, à temperatura ambiente. Êste é o processo usual para o estudo da germinação de pólen do cafeeiro ; no entanto, não se obteve germinação alguma no presente caso.

#### 4—HIBRIDAÇÕES REALIZADAS

A planta “387” foi utilizada em cruzamentos diversos, ora fornecendo o pólen, ora sendo polinizada por outras. Na suposição de que se tratasse de uma forma tetraplóide de *Coffea Dewevrei*, procurou-se cruzá-la com indivíduos tetraplóides dessa espécie, experimentalmente produzidos. De numerosas flores polinizadas, obteve-se reduzido pegamento e apenas alguns híbridos foram conseguidos.

Tendo-se tentado cruzá-la com um exemplar diplóide ( $2n=22$ ) de *C. Dewevrei*, apenas uma planta foi obtida.

As hibridações com *C. arabica* foram numerosas e o sucesso foi grande ; a Secção de Genética tem, em estudo, muitas centenas de plantas que ali se obtiveram de tais cruzamentos (3).

#### 5—NÚMERO DE CROMOSSÔMIOS NOS HÍBRIDOS E NA PROGÊNIE

A determinação do número de cromossômios, nas plantas, foi feita em pontas de raízes, coloridas pelo método da hematoxilina.

Entre os híbridos do “387” com *C. Dewevrei* tetraplóide, obteve-se uma planta com  $2n=44$  (fig. 1—B), uma com  $2n=33$  (fig. 1—C) e uma com  $2n=43$  cromossômios (quadro 7).

QUADRO 7.—Número somático de cromossômios em híbridos do “387” com *C. Dewevrei* tetraplóide

Plantas cruzadas	Número dos híbridos	Número de cromossômios
387 x Co 234 .....	H. 1405-1	44
387 x Co 234 .....	H. 1538-2	33
387 x Co 239 .....	H. 1406-1	43

O híbrido obtido entre o “387” e *C. Dewevrei* diplóide (63 x 387) recebeu o número H. 476-1, e é triplóide ( $2n=33$ ).

De algumas das hibridações entre o “387” e *C. arabica*, realizadas pela Secção de Genética, verificou-se o número de cromossômios, em 29 plantas, como se vê no quadro 8 :

QUADRO 8.—Número somático de cromossômios em híbridos do "387" com *C. arabica*

Plantas cruzadas	Número dos híbridos	Número de cromossômios
387 enx. 3 x 1-2 ( <i>bourbon</i> )	H 1499-20	43
	-31	43
	-12	44
	-19	44
	-18	45
	-37	45
	-16	46 <sup>(1)</sup>
387 enx. 3 x 33-11 ( <i>laurina</i> )	H 1500-26	43
	-19	44
	-10	45
	-45	45 <sup>(2)</sup>
	-27	45+1 <sup>(3)</sup>
387 enx. 3 x 34-10 ( <i>mokka</i> )	H 1501-19	42
	-35	43
	-12	44
	-51	44
	- 4	46
	-11	46
387 enx. 4 x 300-20 ( <i>maragogipe</i> )	H 1503- 1	45
	- 7	46
387 enx. 4 x 376 ( <i>bourbon</i> )	H 1504- 5	44
	-10	44
	- 1	45
	- 2	45
387 enx. 9 x 376 ( <i>bourbon</i> )	H 1515-12	43
	- 2	44
	-11	44
	-10	45
	- 7	46

(<sup>1</sup>) Ver fig. 1-D; (<sup>2</sup>) ver fig. 1-E; (<sup>3</sup>) 45 cromossômios e mais um fragmento.

As frequências das plantas com diferentes números, de cromossômios somáticos, que se acham especificadas no quadro 8 são as seguintes:

NÚMERO DE CROMOSSÔMIOS	Frequência
42 .....	1
43 .....	5
44 .....	9
45 .....	8
45+1 f. ....	1
46 .....	5
Total .....	29

Uma única planta proveniente de semente autofecundada artificialmente do "387" foi examinada, verificando-se possuir  $2n = 45$  cromossômios.

## 6—DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A planta "387" difere dos representantes da espécie *C. arabica* em numerosos caraterísticos, sendo de muita importância o fato de ser praticamente auto-estéril, enquanto as variedades de *C. arabica* são autoférteis. Ela se aproxima de *C. arabica* quanto ao número de cromossômios, pois tem  $2n = 44$ , como as variedades desta espécie. Em sua auto-esterilidade se assemelha, entretanto, às espécies diplóides de *Coffea*. Por diversos caraterísticos se aproxima da espécie *C. Dewevrei*, que tem  $2n = 22$  cromossômios. A princípio pensou-se ser o cafeeiro "387" um representante autofértil da espécie *C. liberica* Hiern; mais tarde sugeriu-se que se tratava de uma forma tetraplóide de *C. Dewevrei*.

O estudo da microsporogênese mostrou a rara formação de cromossômios tri- e tetravalentes, os quais deveriam ser esperados, no caso de se tratar de uma planta autotetraplóide. A existência de univalentes, em grande número, sugere, no entanto, tratar-se de um híbrido.

Se os cromossômios de *C. Dewevrei*, no híbrido tetraplóide, estão aí representados pelo seu inteiro complemento diplóide, é de se esperar que formem, nos microsporocitos, 11 bivalentes; os cromossômios de *C. arabica*, representados apenas pelo seu complemento haplóide, formariam univalentes; contar-se-iam, portanto, nos microsporocitos,  $22_I + 11_{II}$ . Porém, já se sabe que no complemento haplóide de *C. arabica* os cromossômios mostram uma certa homologia, pois 0 a 6 bivalentes se formam no haplóide conhecido como *monosperma* (5). É de se esperar, portanto, que nos microsporocitos do "387" apareçam os 11 bivalentes de *C. Dewevrei* mais 0 a 6 bivalentes de *C. arabica*, isto é, encontrar-se-ão 11 a 17 bivalentes e os restantes cromossômios, como univalentes, em número de 22 a 10. Como no *monosperma* são mais frequentes 0, 1 e 2 bivalentes, no "387" devem ser mais frequentes, em ordem decrescente, as configurações de  $22_I + 11_{II}$ ,  $20_I + 12_{II}$  e  $18_I + 13_{II}$ .

Na realidade, dez, das doze células examinadas em metáfase I, apresentam 12 a 16 bivalentes e 18 a 10 univalentes, isto é, uma variação cuja amplitude está dentro da esperada. Não se nota, porém, uma frequência decrescente de bivalentes em número de 11, 12 e 13.

Se fôr certa a hipótese da existência, no "387", de 22 cromossômios *Dewevrei* e 22 *arabica*, deve-se concluir que neste ambiente os cromossômios *arabica* têm uma tendência maior para a auto-sinapse do que no ambiente existente no haplóide de *C. arabica*.

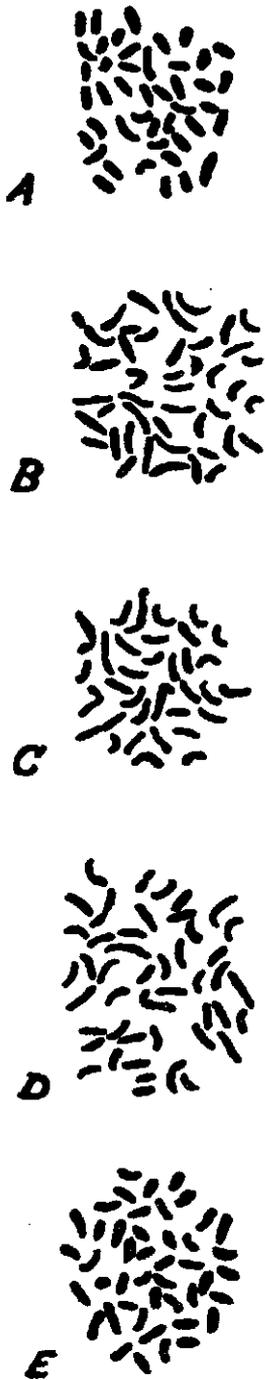


FIGURA 1.—Metáfases somáticas em pontas de raízes ( $\times 2140$ ): A — planta "387",  $2n = 44$ ; B — H 1405-1 (387  $\times$  *C. Dewevrei* tetraplóide),  $2n = 44$ ; C — H 1538-1 (387  $\times$  *C. Dewevrei* tetraplóide),  $2n = 33$ ; D — H 1499-16 (387  $\times$  *C. arabica*),  $2n = 46$ ; E — H 1500-45 (387  $\times$  *C. arabica*),  $2n = 45$ .

As irregularidades meióticas dão, em consequência, a formação de grãos de pólen com 15 a 28 cromossômios e deve-se atribuir a isto a variabilidade do tamanho dos microsporos. Os grãos pequenos e também variáveis que, frequentemente, se formam devem conter os cromossômios que, durante a meiose, não se incluíram nos 4 núcleos principais. Eles naturalmente são estéreis, mas, além desses grãos pequenos, numerosos grãos de tamanho regular deixaram de se colorir pelo carmim acético e foram também considerados como sendo estéreis. Estes últimos, provavelmente, também contêm um menor número de cromossômios.

Se os bivalentes de *Dewevrei* se dividirem normalmente, os grãos de pólen deverão conter sempre 11 cromossômios desta espécie, isto é, o complemento haplóide inteiro. Os restantes cromossômios, em número variável, seriam do complemento *arabica*. Um grão de pólen com 11 cromossômios *Dewevrei* deve ser fértil e, conseqüentemente, pode-se supor que os grãos de pólen com 15 a 28 cromossômios, tendo 11 *Dewevrei* e 4 a 17 *arabica*, sejam férteis, sendo-lhes comunicada esta fertilidade pelo genômio *Dewevrei*, a não ser que este número variável de cromossômios *arabica* determine um desequilíbrio genético.

O fato de não se ter conseguido a germinação do pólen no laboratório, só pode ser explicado por deficiência do meio nutritivo, pois que polinizações em campo deram, muitas vezes, resultados bem satisfatórios.

Examinando o quadro 3, que mostra a contagem de cromossômios nos pólos em anáfase I e em metáfase II, verifica-se que 80% dos núcleos têm 20 a 24 cromossômios e que, do total, 36% têm 22 cromossômios. É então de se esperar que, se o "387" fôr cruzado com uma planta tetraplóide, onde haja normal formação de pólen com  $n = 22$ , a progênie seja constituída de plantas com número somático de cromossômios desde 37 até 50, porém a grande frequência será de plantas com 42 a 46 cromossômios, com predominância das de  $2n = 44$ .

Os resultados obtidos foram os seguintes:

a) Na hibridação do "387" com *C. Dewevrei* tetraplóide ( $2n = 44$ ), duas plantas têm 43 e 44 cromossômios e, portanto, se situam dentro dos limites acima; uma terceira, porém, é triplóide ( $2n = 33$ )

e sua origem pode ser explicada pela união de um gâmeta com  $n=22$  do "387" e um gâmeta duplamente reduzido ( $n=11$ ) do *Dewevrei* tetraplóide, ou vice-versa.

b) Na hibridação do "387" com *C. Dewevrei* diplóide ( $2n=22$ ), o híbrido é triplóide ( $2n=33$ ), como se deve esperar da união de um gâmeta com  $n=22$  do "387" com gâmeta normal ( $n=22$ ) do *Dewevrei* diplóide.

c) Na hibridação do "387" com *C. arabica*, esta deve ter sempre contribuído com pólen de  $n=22$ ; no entanto, os 29 híbridos apresentam 42 a 46 cromossômios, com predominância dos de  $2n=44$  e  $2n=45$ .

Os dados destas três hibridações referem-se quase que exclusivamente a casos em que o "387" serviu como planta-mãe. Êstes dados, e mais o fato de se ter verificado  $2n=45$  em uma planta de semente autofecundada do "387", vêm confirmar, plenamente, os dados citológicos obtidos no estudo da microsporogênese: a planta produz gâmetas férteis com  $n=20$  a 24 cromossômios, sem excluir a possibilidade de serem férteis também os gâmetas com outros números de cromossômios.

O exame do pólen revelou que 31% dos grãos são anormais e, aparentemente, estéreis. Do lado feminino, tendo-se verificado que devem existir as mesmas anomalias, aproximadamente 31% das oosferas também serão estéreis. Consequentemente, uma grande parte dos óvulos deve abortar, reduzindo a produção e determinando a formação de frutos com uma única semente.

Como foi assinalado na introdução, a produção de frutos no "387" é alta; êstes, porém, são muitas vezes desprovidos de sementes e, portanto, partenocárpicos e frequentemente têm uma única semente do tipo "moca", confirmando a referida suposição.

## 7—SUMÁRIO

Um cafeeiro muito rústico e altamente produtivo, encontrado em uma propriedade agrícola do Estado de São Paulo, revelou ser tetraplóide ( $2n=44$ ). Neste particular êle se assemelha à espécie *C. arabica*; porém, em sua auto-esterilidade, se aproxima das espécies diplóides ( $2n=22$ ) de café. Imaginou-se, a princípio, que se tratava de uma forma tetraplóide espontânea de *C. liberica* ou de *C. Dewevrei*. O estudo aqui apresentado, porém, conduz à conclusão de que se deve tratar de um híbrido entre *C. arabica* e *C. Dewevrei*.

No estudo da microsporogênese verificou-se a formação de uni— e bivalentes e mais raramente de tri— e tetravalentes. Supondo que o complemento cromossômico desta planta seja constituído de 22 cromossômios *arabica* haplóides e 22 cromossômios *Dewevrei* diplóides, e sabendo-se que: a) os cromossômios de *C. arabica* num indivíduo di-haplóide ( $2n=22$ ) formam 0 a 6 bivalentes; e b) os cromossômios de *C. Dewevrei* formam normalmente 11 bivalentes, infere-se que a planta em estudo deve apresentar 11 a 17 bivalentes. Os bivalentes encontrados mais comumente, na realidade, variavam de 12 a 16 e, portanto, dentro daqueles limites. Isto justifica a hipótese de se tratar de um híbrido entre *C. arabica* e *C. Dewevrei*.

A distribuição anafásica dos cromossômios é irregular, havendo for-

mação de grãos de pólen com  $n=15$  a 28 cromossômios ; mais frequentes, porém, (cêrca de 80%), são os grãos com  $n=20$  a 24.

A determinação do número de cromossômios em híbridos dêsse cafeeiro com *C. arabica* ( $2n=44$ ), *C. Dewevrei* ( $2n=22$ ) e *C. Dewevrei* ( $2n=44$ ), como fornecedores de pólen, mostrou que também da macrosporogênese resultam oosferas férteis com  $n=20$  a 24 cromossômios.

Cêrca de 31% dos grãos de pólen são estéreis. Se na macrosporogênese as mesmas anormalidades ocorrem, é de se esperar que muitos óvulos degererem. Isto acontece realmente, havendo grande número de frutos sem sementes ou providos de uma única semente em vez de duas.

### SUMMARY

A very vigorous and productive coffee plant found in a plantation in the State of São Paulo was studied and found to be a tetraploid ( $2n=44$ ). In this respect it appeared to be similar to the species *C. arabica* but in its self-sterility it seemed to be more like the diploid types ( $2n=22$ ) of coffee. It was at first thought that this plant could be a tetraploid form of a diploid species such as *C. liberica*, or *C. Dewevrei*. The study presented herein, however, reaches the conclusion that this coffee plant is more likely to be the result of hybridization between *C. arabica* and *C. Dewevrei*.

In a study of microsporogenesis it was observed that uni — and bivalents and less frequently tri — and tetravalent chromosomes were formed. If one assumes that the somatic complement of this plant is made up of the 22 haploid *arabica* chromosomes plus the 22 diploid *Dewevrei* chromosomes, then it can be estimated that the *arabica* chromosomes will form 0 to 6 bivalents as is known from the study of a haploid plant of *C. arabica* ; and if the *Dewevrei* chromosomes form 11 bivalents, then in the microsporocytes of the hybrid one would expect to find 11 to 17 bivalents ; in the present study we found most frequently 12 to 16 bivalents which is within these limits. This, then, supports the hypothesis that the plant studied is a hybrid between *C. arabica* and *C. Dewevrei*.

Study has shown that anaphasic distribution of the chromosomes is irregular and that pollen grains are formed with  $n=15$  to 28 chromosomes ; most frequently (ca. 80%) the grains have  $n=20$  to 24.

Controlled hybrids were made using this plant as the mother tree and *C. arabica* ( $2n=44$ ), *C. Dewevrei* ( $2n=22$ ) and *C. Dewevrei* ( $2n=44$ ), as sources of pollen. A study of the chromosome numbers in these hybrids showed that fertile eggs were formed with  $n=20$  to 24 chromosomes.

In the plant studied approximately 31% of the pollen grains were observed to be sterile. It was also observed that some ovules do not develop and one frequently encounters empty or only-one-seeded fruits. It is suggested that the sterility of the ovule and pollen grains may be due to the same factors.

### LITERATURA CITADA

1. Krug, C. A. e A. J. T. Mendes. Cytological Observations in *Coffea*. IV. Jour. of Gen. 39 : 189-203. 1940.
2. Krug, C. A. e A. J. T. Mendes. Conhecimentos gerais sôbre a Genética e a Citologia do gênero *Coffea*. Rev. de Agric. de Piracicaba 18 : 399-408. 1943.
3. Krug, C. A., J. E. T. Mendes, A. Carvalho e A. J. T. Mendes. Uma nova forma de *Coffea*. Bragantia (no prelo).
4. Medina, D. M. Observações citológicas em *Coffea* : XVI. Microsporogênese e estudo do pólen em *C. arabica* L. var. *rugosa*. Bragantia (no prelo).
5. Mendes, A. J. T. e Osvaldo Bacchi. Observações citológicas em *Coffea*. V. Uma variedade haplóide ("di-haplóide") de *C. arabica* L. Jor. de Agron. de Piracicaba 3 : 183-206. 1940.
6. Mendes, C. H. T. Observações citológicas em *Coffea* : XIV. Microsporogênese em *C. canephora*. Bragantia (no prelo).