

CATALINA ROMERO LOPES LONGO
BIOLOGISTA
INSTITUTO AGRONÔMICO - CAMPINAS

ESTUDO DOS PIGMENTOS FLAVONÓIDES E SUA CONTRIBUIÇÃO
À FILOGENIA DO GÊNERO COFFEA

ORIENTADOR: *Prof. Dr. Almiro Blumenschein*

*Tese de doutoramento apresentada
à Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz", da Univer-
sidade de São Paulo.*

PIRACICABA
ESTADO DE SÃO PAULO - BRASIL
1972

À memória de minha mãe

A meu pai

A meus filhos

A meus irmãos

AGRADECIMENTOS

Queremos expressar nossos agradecimentos a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho, particularmente as relacionadas a seguir:

Prof. Dr. Almiro Blumenschein, diretor do Instituto de Genética da ESALQ, pela orientação.

Eng.^a Agr.^a Dixier M. Medina, chefe substituta da Seção de Citologia do Instituto Agronômico de Campinas, pelo apoio e constante estímulo.

Eng.^o Agr.^o Alcides de Carvalho, chefe da Seção de Genética do Instituto Agronômico de Campinas, pelos ensinamentos e permissão para uso de laboratórios e de todo o material.

Dr. Lourival C. Monaco, da Seção de Genética do Instituto Agronômico de Campinas, por ter criado condições que tornaram possível o desenvolvimento deste trabalho, pela orientação e incentivo em todos os momentos e pelas correções e sugestões apresentadas.

Eng.^a Agr.^a Candida Helena T. M. Conagin, pelas sugestões e incentivo.

Sr. Raphael Pompeo de Camargo, desenhista da Seção de Agrogeologia, pela confecção das figuras.

Sr. Aparecido J. P. Camargo, da Seção de Genética, pelo auxílio prestado nos trabalhos de laboratório.

Sra. Ana Martins de Oliveira Evangelista e demais funcionários da Seção de Genética, pelo auxílio na coleta de material.

Sr. José Carlos Teixeira Mendes, do Departamento de Tecnologia Rural, da ESALQ, pela liofilização das amostras.

Srta. Sonia Ap. Quintino de Lima, por trabalhos de datilografia.

Sra. Lígia Abramides Testa, pela revisão do texto e diagramação do trabalho.

Sra. Sancha de Lourdes Lopes De Marco, pela composição do trabalho para publicação.

Sr. Antonio Carlos Micoli, pela parte tipográfica.

Í N D I C E

	página
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Os compostos fenólicos em bioquímica sistemática.....	3
2.2. Estudos sobre híbridos naturais.....	7
2.3. Estudos sobre cultivares de espécies de <i>Coffea</i>	9
2.4. Estudos sobre relações entre espécies de <i>Coffea</i>	9
2.5 Compostos fenólicos em café.....	10
3. MATERIAL.....	12
4. MÉTODOS	19
4.1. Testes realizados.....	19
4.1.1. Testes sobre condições dos frutos..	20
4.1.2. Teste sobre o processo de conserva- ção do material.....	20
4.1.3. Teste de processos de extração.....	21
4.1.4. Conclusão dos testes.....	22

	página
4.2. Método utilizado	22
4.2.1. Coleta e estocagem do material	23
4.2.2. Extração dos pigmentos	23
4.2.3. Separação dos componentes dos extratos	24
a) Cromatografia bidimensional ascendente	24
b) Desenvolvimento dos cromatogramas bidimensionais	24
c) Interpretação dos cromatogramas bidimensionais	25
4.2.4. Determinação do índice de afinidade	26
4.2.5. Gráficos poligonais de Hutchinson	27
5. RESULTADOS	29
5.1. Cromatogramas de cultivares de <i>Coffea arabica</i>	29
5.2. Valores de P.A. e gráficos poligonais refe- rentes aos cultivares de <i>Coffea arabica</i>	31
5.3. Cromatogramas e valores de P.A. referentes aos cultivares de <i>Coffea canephora</i>	33
5.4. Cromatogramas e valores de P.A. referentes aos cultivares de <i>Coffea dewevrei</i>	34
5.5. Cromatogramas das espécies estudadas do gênero <i>Coffea</i>	36
5.6. Valores de P.A. e gráficos poligonais re- ferentes às espécies estudadas do gênero <i>Coffea</i>	37
6. DISCUSSÃO	49
6.1. Relações entre cultivares de <i>Coffea arabica</i>	51
6.2. Relações entre cultivares de <i>Coffea canephora</i> e de <i>Coffea dewevrei</i>	55

	páginas
6.3. Relações entre as espécies estudadas	56
6.4 Relações filogenéticas estabelecidas pelo método do índice de afinidade pareada (P.A.)	60
6.5 Comparação entre os resultados das análises de flavonóides, das hibridações interespecíficas e do pareamento cromossômico de alguns desses híbridos	67
6.6. Sistemática do gênero <i>Coffea</i>	72
6.7. Considerações sobre a origem de <i>Coffea arabica</i>	73
7. RESUMO E CONCLUSÕES	77
8. SUMMARY AND CONCLUSIONS	81
9. BIBLIOGRAFIA	85

Figuras .

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Coffea*, independentemente do valor econômico de algumas de suas espécies, apresenta características especiais que o tornam material extremamente valioso para o estudo de evolução de planta perene nas condições tropicais. Mais de uma centena de espécies descritas estão distribuídas na faixa tropical dos continentes africano e asiático, em condições ecológicas das mais variáveis que vão desde a floresta tropical úmida até regiões quase desérticas em Moçambique.

As espécies diferenciam-se em numerosas características, apresentando variações na cor das flores, dos frutos, que vão desde amarelo até quase negro, no porte, indo desde pequenos arbustos até árvores de mais de dez metros, nos níveis de ploidia, na biologia da reprodução, e diferenças de natureza química, como presença ou ausência de cafeína.

Além das características específicas, a genética da espécie *C. arabica* é bem conhecida, oferecendo condições para análise comparativa do mecanismo de herança de vários dos caracteres. Genes de resistência, para moléstias como a ferrugem alaranjada, existentes nas populações naturais, permitem estabelecer um paralelo entre a diferenciação das populações de café e dos patógenos. Os estudos citogenéticos, embora não tenham sido desenvolvidos mais profundamente, oferecem dados valiosos para uma compreensão dos fenômenos cromossômicos.

Apesar de todas as vantagens oferecidas pelo gênero para os estudos básicos de evolução, alguns setores das pesquisas não têm tido desenvolvimento satisfatório. Entre esses setores a taxonomia não vem recebendo a atenção necessária. Por muito tempo, apenas os estudos de Chevalier foram tomados como base para agrupamento das espécies. Posteriormente, Leroy ampliou sensivelmente o número de espécies existentes na ilha de Madagáscar. Apesar desses estudos, a classificação das espécies baseou-se, às vezes, em critérios morfológicos e, outras, na distribuição geográfica. Por esse motivo, alguns dos agrupamentos são ainda bastante artificiais.

Tentativas têm sido feitas procurando analisar os agrupamentos de espécies através de cruzamentos artificiais. Embora dados significativos tenham sido obtidos em tais estudos, os resultados nem sempre permitem esclarecer, de forma definitiva, a validade dos critérios adotados pelo taxonomista. Além dessas dificuldades, o número de espécies à disposição do geneticista para esses estudos é pequeno, não permitindo conclusões mais gerais.

Em virtude das limitações existentes na taxonomia do gênero *Coffea*, vem-se procurando estudar esse grupo de plantas sob novos ângulos, como a bioquímica sistemática, no sentido de melhor conhecer as espécies e suas afinidades. Dentro dessa metodologia, os flavonóides apresentam características que os tornam de grande valor na estruturação de agrupamentos taxonômicos e para indicar afinidades entre diferentes 'taxon', uma vez que, além de serem compostos secundários, têm enorme distribuição, variabilidade estrutural e complexidade química, estabilidade fisiológica e relativa facilidade de identificação.

O presente trabalho teve por objetivo a análise de algumas espécies do gênero *Coffea* do ponto de vista da bioquímica sistemática, através da análise de flavonóides, com a finalidade de testar sua utilidade para esse grupo de plantas e obter novos informes sobre as afinidades existentes entre essas espécies.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Embora os princípios de bioquímica sistemática tenham sido elaborados por De Candolle no século passado, como discute HEGNAUER (1967), o uso de características químicas como auxiliares em problemas taxonômicos e filogenéticos de plantas só passou a ter maior importância em época relativamente recente. Seu aproveitamento foi feito visando estabelecer novos critérios para grupos taxonomicamente mal definidos, melhor conhecimento da filogenia de grupos geneticamente importantes e estudos genéticos de hibridações interespecíficas.

2.1. OS COMPOSTOS FENÓLICOS EM BIOQUÍMICA SISTEMÁTICA

HARBORNE & SIMMONDS (1964), discutindo a contribuição dos compostos fenólicos em estudos de taxonomia e filogenia de plantas, distribuíram-nos em três grupos:

- 1) metabolitos ativos de ocorrência universal;
- 2) metabolitos com funções definidas em grupos de plantas;
- 3) metabolitos sem funções conhecidas.

Os primeiros não têm qualquer valor para o siste-

mata, uma vez que são de ocorrência universal. Os do segundo grupo são metabolitos significantes, mas não básicos, e as substâncias biossinteticamente ligadas a eles são, provavelmente, associadas em ocorrência com grupos razoavelmente grandes de plantas, refletindo então o metabolismo do grupo como um todo. Quanto aos do terceiro grupo, são metabolitos secundários altamente especializados, que podem, muitas vezes, representar adaptação a funções especializadas dentro da planta ou refletir condições especiais não diretamente relacionadas com as substâncias fenólicas. No primeiro caso, esses compostos têm distribuição restrita a grupos de plantas intimamente relacionadas e, no segundo, têm ocorrência esparsa.

Somente dos processos metabólicos moderadamente especializados, é que se espera a obtenção de produtos finais de interesse para o sistemata. Esses processos poderiam conduzir apenas a estudos taxonômicos superficiais, porém, como os compostos implicados são metabolitos não-essenciais, os produtos finais característicos podem ser diversificados em processos mais ou menos não-usuais, produzindo padrões secundários, que podem ter significância e interesse considerável.

De acordo com esses autores, os compostos flavonóides têm tido maior utilidade em estudos filogenéticos do que em estudos taxonômicos, sendo que a ocorrência correlacionada de caracteres em diferentes grupos indica origem comum, isto é, relações filogenéticas entre esses grupos que têm os caracteres em comum. As características especiais dos compostos flavonóides que os tornam valiosos auxiliares na bioquímica sistemática, são: variabilidade estrutural e complexidade química, estabilidade fisiológica, larga distribuição e relativa facilidade de identificação (HARBORNE, 1967).

Os caracteres químicos apresentam particular utilidade como guias para a classificação correta de certos grupos de plantas sobre os quais haja fundamental desacordo dos taxonomistas, como auxiliares na precisa delimitação de

um grupo taxonômico e na inequívoca identificação de plantas. Entre os fatores limitantes, encontra-se a dificuldade em auxiliar a decidir entre verdadeira convergência e pura analogia e entre verdadeira divergência e casos de definida homologia (HEGNAUER, 1967).

Informações sobre a evolução de espécies foram obtidas em estudos de bioquímica sistemática da família Umbelliferae. Cerca de 300 espécies foram analisadas quanto à presença de compostos fenólicos nas folhas. Com poucas exceções, as espécies puderam ser divididas em dois grupos, um no qual ocorrem flavonas e outro onde ocorrem flavonóis, sendo que os gêneros onde ocorrem as flavonas são considerados mais especializados ou avançados. Esse fato parece indicar que a substituição de flavonóis por flavonas tem um significado especial dentro da família (CROWDEN, HARBORNE & HEYWOOD, 1969).

HARBORNE (1969), pela análise de flavonóides em espécies da tribo Genisteeae, da família Leguminosae, concluiu que os dados bioquímicos reforçam a classificação feita por Rothmaler, que divide a tribo em apenas dois grupos, e não a classificação de Hutchinson, que distribuiu os vários gêneros de Genisteeae em quatro tribos.

Com base na análise de compostos fenólicos em folhas e flores de diversas espécies de *Aquilegia*, TAYLOR & CAMPBELL (1969) propuseram um esquema das relações filogenéticas dentro do gênero, em reforço de outro esquema estabelecido com base em hibridações interespecíficas. Os caracteres bioquímicos contribuíram significativamente, embora certos aspectos ainda permaneçam confusos.

GUPTA & GILLET (1969) analisaram os compostos flavonóides de espécies do gênero *Wiskstroemia*, tendo verificado que espécies morfológicamente semelhantes mostraram padrões bioquímicos semelhantes, enquanto as muito diferentes deram grandes diferenças bioquímicas. Da mesma forma, ASKER & FROST (1969) detectaram diferenças nos compostos

fenólicos encontrados em quatro biótipos da espécie *Potentilla argentea*, demonstrando que as diferenças morfológicas entre os biótipos são acompanhadas por distintas diferenças bioquímicas.

A análise de compostos flavonóides em espécies do gênero *Bahia* e de outros gêneros relacionados permitiu a ELLISON, ALSTON & TURNER (1962) sugerir que esse gênero é composto de duas séries filéticas, a *Alternifoliae* e a *Oppositifoliae*, e que *Bahia oppositifoliae* deve ser considerada de um gênero diferente, *Picradeniopsis*.

Variações significativas no padrão bioquímico podem ser encontradas dentro de uma mesma espécie. Grupos de variedades de cevada com afinidades diferentes puderam ser determinados por FRÖST & HOLM (1971), através da análise de pigmentos fenólicos em folhas.

BOSE & FRÖST (1967), estudando a variação dos compostos fenólicos de variedades pertencentes a espécies de *Galeopsis*, sugeriram que tais variações são decorrentes de polimorfismo em nível bioquímico, determinado, provavelmente, por cruzamentos ocasionais entre essas espécies.

CLEVINGER (1971), analisando antocianinas em pétalas, sépalas e caule de espécies e variedades de *Impatiens*, determinou uma seqüência evolutiva indicada pelo aumento de complexidade nos pigmentos. As pétalas demonstraram conter as mais complexas combinações de pigmentos e, os caules, as menos complexas. As sépalas petalóides ocuparam uma posição intermediária, porém mais semelhante às das pétalas.

TOSELLO (1969), analisando flavonóis e flavonas em flores de orquídeas de espécies dos gêneros *Cattleya* e *Laelia*, constatou que seus resultados concordaram com os agrupamentos feitos por Brieger, em sua classificação sistemática, permitiram confirmar grande parte dos resultados de Cunha Filho sobre as distâncias morfológicas entre espécies

de *Cyrtolaelia* e também foram concordes com as opiniões de Blumenschein & Vencovshy sobre a origem híbrida de *L. mista* e *L. gloediana*.

2.2. ESTUDOS SOBRE HÍBRIDOS NATURAIS

Grande número de trabalhos têm sido publicados, ultimamente, empregando caracteres químicos para as análises de híbridos interespecíficos. Em alguns a composição dos híbridos foi investigada, a fim de estabelecer os princípios de herança de muitos compostos fenólicos exclusivos às espécies envolvidas, e em outros procurou-se estabelecer a ocorrência de hibridações.

ALSTON (1965), ao fazer uma revisão sobre o assunto, em particular sobre os resultados obtidos em hibridações no gênero *Baptisia*, sugere que o sucesso alcançado em tais estudos dentro desse gênero foi devido à existência de flavonóides incomumente diversificados entre espécies que se cruzam facilmente. Esses resultados permitem o estabelecimento de princípios gerais, como:

- 1) compostos flavonóides similares àqueles encontrados em *Baptisia* são geneticamente controlados, especialmente em seus aspectos qualitativos, sendo comum a dominância mendeliana para flavonóides específicos;

- 2) em geral, como no caso de híbridos de *Baptisia*, há pequena evidência de epistasia;

- 3) uma vez que alguns flavonóides parecem ser valiosos marcadores genéticos, em situações favoráveis poderão ser aplicados na análise de dinâmica de populações ou introgressão.

Em gêneros complexos como o *Baptista*, a ocorrência de compostos químicos marcadores é especialmente valiosa, porque neste gênero é freqüente a ocorrência de combinações

de três e até de quatro espécies, na formação de híbridos, tornando mais complexa a análise. Outra grande vantagem do marcador químico é indicar a presença de um gene marcador da espécie na população.

Os estudos sobre flavonóides nas espécies desse gênero permitiram dividi-lo em três grupos, cada um deles com tipos básicos de pigmentos. Híbridos entre espécies de grupos diferentes são facilmente identificados cromatograficamente, o mesmo não acontecendo a híbridos entre espécies de um mesmo grupo. Alguns dados químicos muito particulares em espécies desse gênero parecem também possibilitar estudos sobre a ocorrência de introgressão.

MacClure, citado por ALSTON (1965), analisando flavonóides nas Lemnaceae, verificou que as espécies dessa família são mais distintas do que as espécies de *Baptisia*, concluindo que seriam excelente material para estudos genéticos se pudessem ser hibridizadas.

Segundo ALSTON (1965), as análises de Cleland em espécies de *Oenothera* revelaram que esse gênero não é favorável a estudos bioquímicos, porque não apresenta variabilidade interespecífica significativa.

Análises realizadas em trinta espécies do gênero *Psoralea* indicaram que hibridação interespecífica natural aparentemente não ocorre e que, com poucas exceções, essas espécies diferem somente nas quantidades relativas de seus flavonóides (OCKENDON, ALSTON e NAIFEH, 1966).

Estudos têm sido realizados visando comparar a presença de compostos flavonóides em populações naturais. Diferenças qualitativas e quantitativas nos flavonóides existentes em espécies do gênero *Tragopogon*, foram encontradas, sendo maiores as variações entre as espécies simpátricas (BREHN & OWNBEY, 1965). Os resultados mostraram o padrão evolutivo dentro do complexo *Tragopogon*, tendo sido possível sugerir que a transferência de fatores genéticos através de espécies diplóides era maior do que o indicado pelos estudos morfológicos e ontogenéticos.

2.3. ESTUDOS SOBRE CULTIVARES DE ESPÉCIES DE *COFFEA*

Diferentes trabalhos são encontrados na literatura, referentes às origens dos cultivares de café, notadamente àqueles pertencentes à espécie *C. arabica*, em virtude do seu maior interesse econômico.

KRUG, MENDES & CARVALHO (1939; 1949) apresentaram detalhado estudo morfológico de *Coffea arabica*, descrevendo os cultivares e formas encontradas no Estado de São Paulo. Fizeram um levantamento histórico sobre as origens dessas populações e a introdução de algumas delas no Brasil. Também CHEVALIER (1940, 1942, 1947), nos estudos sistemáticos sobre o gênero, apresentou a descrição botânica de algumas variedades africanas e suas prováveis distribuições geográficas. Outros poucos trabalhos apresentam detalhes sobre cultivares e sua origem. JONES (1957) relacionou as variedades de *Coffea arabica* existentes em Quênia e discutiu detalhadamente as procedências e possíveis origens dessas variedades, que constam, entre outras, de Mokka, Bourbon, Geisha e K 7.

Observações sobre *Coffea arabica* na Etiópia foram apresentadas por SYLVAIN (1955). Esse autor, após ter vivido um ano nesse país, discutiu sobre os numerosos tipos de café aí existentes, suas condições ecológicas, a ocorrência de café selvagem e a provável região de origem de *Coffea arabica*.

2.4. ESTUDOS SOBRE RELAÇÕES ENTRE ESPÉCIES DE *COFFEA*

O único trabalho existente, até o momento, envolvendo um número significativo de espécies de café é aquele realizado por CARVALHO & MONACO (1968). Esse trabalho apresenta os resultados dos cruzamentos artificiais realizados entre as dez espécies existentes no Brasil, efetuados

com o propósito de estabelecer as relações genéticas entre elas.

As espécies de uma mesma subseção se cruzaram facilmente, apesar de algumas exceções; *C. kapakata* apresentou boa porcentagem de cruzamentos com espécies da subseção *Erythrocoffea* e os híbridos entre *C. stenophylla* e *C. deuvei* pertencentes a subseções diferentes mostraram-se vigorosos.

Associando os resultados das hibridações interespecíficas e a distribuição geográfica das espécies, os autores verificaram que entre espécies simpátricas foram obtidos híbridos férteis, indicando a existência de mecanismos especiais de isolamento prevenindo a extinção das espécies como unidades; ao mesmo tempo, verificaram que espécies de regiões bem separadas foram capazes de produzir F_1 férteis.

Especial atenção foi dada às relações de *C. arabica* com as espécies de sua própria subseção e apresentaram sugestões sobre quais espécies diplóides teriam participado da formação dessa tetraplóide. Com base nos resultados obtidos, os autores propuseram um novo agrupamento das espécies estudadas.

2.5. COMPOSTOS FENÓLICOS EM CAFÉ

Numerosos trabalhos foram realizados sobre a constituição da semente do café, principalmente com referência ao conteúdo em ácido clorogênico e cafeína. Todavia, análises das polpas para determinar seu conteúdo em flavonóides são praticamente inexistentes.

WILBAUX (1957), após ter obtido um extrato colorido a partir do exocarpo de frutos de café do tipo Robusta obteve um precipitado azul ao tratar esse extrato com subacetato de chumbo. Esse resultado lhe permitiu concluir que esse material continha "antocianosídeos".

FRANCO (1939), usando como reativos FeCl_3 , ácido crômico, KCrO_4 , ácido ósmico e acetato de cobre, constatou a existência de taninos no pericarpo de frutos do cv. Típica de *Coffea arabica*.

Tem surgido, recentemente, maior número de trabalhos sobre compostos fenólicos, com o intuito de determinar suas possíveis implicações nos mecanismos de resistência a doenças. Numa tentativa de estabelecer relações entre presença de certos compostos e resistência à ferrugem, foram identificados alguns compostos fenólicos em folhas dos cultivares Kents e S 795 de *C. arabica*, e S 274 de *C. canephora* (RAMIAH, 1970). Dos compostos identificados, ácidos clorogênico, caféico, hidroxibenzóico, protocatéquico e p-cumárico, apenas foram detectadas diferenças quantitativas em folhas novas e velhas, porém não entre cultivares. Segundo o autor, está em andamento um trabalho de análise de compostos fenólicos em cultivares de *C. arabica* e entre espécies de *Coffea*.

ZULUAGA, VALENCIA & GONZALEZ (1972), a fim de estabelecer uma possível relação entre conteúdo de polifenóis e a resistência à *Ceratocystis fimbriata*, em café, analisaram os compostos fenólicos de alguns cultivares de *C. arabica*, resistentes e suscetíveis, e *C. canephora* e *C. liberica*, imunes à doença. Concluíram que há uma relação entre suscetibilidade ou resistência e o conteúdo de ácidos fenólicos e compostos flavonóides nas folhas. Parece que a resistência está diretamente relacionada com o maior conteúdo de ácidos fenólicos e, a suscetibilidade, com o maior conteúdo de compostos flavonóides.

3. MATERIAL

As análises cromatográficas foram realizadas em extratos de polpas de frutos maduros de cultivares e populações de cafeeiros das espécies existentes em coleção na Seção de Genética do Instituto Agrônomo, Campinas. No presente trabalho, o termo polpa refere-se ao pericarpo e mesocarpo do fruto.

Todas essas populações e cultivares pertencem ao gênero *Coffea*, seção *Eucoffea*, e de acordo com a classificação de CHEVALIER (1947), com modificações apresentadas por CARVALHO & MONACO (1968), distribuem-se pelas seguintes subseções:

Subseção *Erythrocoffea* Chevalier

- *Coffea congensis* Froehner;
- *Coffea canephora* Pierre ex Froehner;
- cultivares*:
 - Robusta;
 - Kouillou;
 - Laurentii;
 - Bukobensis.

* Neste trabalho, o termo cultivar será empregado significando, indiferentemente, cultivares e variedades, conforme LEON (1962).

- *Coffea arabica* Linneu
- cultivares:
 - Típica;
 - Abissínica;
 - Laurina;
 - Mokka;
 - Geisha;
 - K 7;
 - BA 10;
 - Cioiccie;
 - Mundo Novo;
 - X 321;
 - Caturra Vermelho;
 - Caturra Amarelo;
 - Bourbon Vermelho;
 - Bourbon Amarelo.

- *Coffea eugenioides* Moore*

Subseção Pachycoffea Chevalier

- *Coffea liberica* Hiern;
- *Coffea dewevrei* De Wild et Durand;
- cultivares:
 - Dewevrei;
 - Dybowskii;
 - Abeokutae.

Subseção Melanocoffea Chevalier

- *Coffea stenophylla* G. Don.

Subseção Mozambicoffea Chevalier

- *Coffea racemosa* Lour;
- *Coffea salvatrix* Swynn et Phil.;

* Segundo CHEVALIER (1947), a espécie *C. eugenioides* situa-se na subseção Mozambicoffea.

Coffea kapakata Hirsch*.

As dez espécies estudadas são as únicas introduzidas no Brasil, sendo representadas na coleção por muitos exemplares adultos e produtivos. Nove delas são diplóides, com $2n = 22$ cromossomos, e *Coffea arabica* representa a única espécie tetrapóide, com $2n = 44$ cromossomos.

Dos numerosos cultivares de *Coffea arabica* existentes, analisaram-se alguns, dando-se preferência, primeiramente, ao Típica, porque corresponde à variedade *arabica*, tipo da espécie descrita por Lineu. Os cultivares Laurina e Mokka foram escolhidos pela semelhança morfológica que apresentam com a espécie *Coffea eugenioides* e pela sua provável origem (ilha Reunião e Etiópia, respectivamente). Estudaram-se também amostras de café Geisha, Cioiccie e Abissínica, por serem de procedência etíope, semi-silvestres e de mais recente introdução, além de o Abissínica ter sido utilizado por CHEVALIER (1947) como o tipo da espécie, e os cultivares K 7, X 321 e BA 10, por serem originários, respectivamente, de Quênia, Tanzânia e Índia. Dos cultivares plantados nas regiões cafeeiras do Brasil, analisaram-se alguns dos mais difundidos, tais como Mundo Novo, Bourbon Amarelo, Bourbon Vermelho, Caturra Amarelo e Caturra Vermelho.

Das espécies *C. canephora* e *C. dewevrei*, os principais cultivares existentes na coleção puderam ser analisados; das espécies *C. racemosa*, *C. salvatrix* e *C. kapakata*, não existem cultivares conhecidos, e das espécies *C. liberica*, *C. eugenioides*, *C. congensis* e *C. stenophylla*, não há cultivares em coleção. O estudo de cultivares teve por finalidade identificar variações intra-específicas, possibilitando melhor conhecimento dos limites de variação nos componentes analisados.

*CHEVALIER coloca *C. kapakata* no gênero *Psilanthopsis* como *Psilanthopsis kapakata* (1947).

Para a obtenção de informações sobre as condições do material, utilizaram-se polpas de frutos maduros do cafeeiro 387, também existente na coleção de Campinas e que corresponde a um híbrido interespecífico (*C. arabica* x *C. dewevrei*).

As procedências do material estudado, pertencente à coleção de Campinas, são as seguintes:

Coffea arabica:

cv. Típica - Corresponde à variedade *arabica*, a primeira introduzida no Brasil. Os exemplares existentes pertencem à antiga coleção do Instituto Agronômico, Campinas.

cv. Abissínica - Corresponde à introdução 1161, Tafari-Kela, recebida da Etiópia através do U.S.D.A. Com base nas semelhanças morfológicas com a variedade-tipo usada por CHEVALIER (1947), essa introdução passou a ser designada como cultivar Abissínica.

cv. Laurina - Pertencente à antiga coleção do Instituto Agronômico, Campinas. Obtida da Fazenda Mato Dentro, Campinas, com o nome de café Esmirna. O Presidente Rodrigues Alves recebeu as sementes da Turquia, e doou-as àquela propriedade.

cv. Mokka - Da antiga coleção do Instituto Agronômico, com o nome de Mirteles (Arábia).

cv. Geisha - Introduzida a partir da Tanganica, atual Tanzânia. Originária da Etiópia.

cv. Cioiccie - Proveniente da Etiópia; sementes enviadas por Pierre G. Sylvain, especialista em café. FAO. Adis-Ababa.

- cv. K 7 - Sementes enviadas pela "Coffee Research Station, Department of Agriculture". Ruiru, Quênia.
- cv. X 321 - Sementes remetidas pela "Coffee Research and Experimental Station". Lyamungu, Moshi, Tanzânia.
- cv. BA 10 - Sementes enviadas pela "Coffee Research Station", Balehonnur, Mysore State, Índia.
- cv. Bourbon Vermelho - Importado, em 1864, por Luís Pereira Barreto, para o Rio de Janeiro. Deve ser proveniente da ilha de Reunião.
- cv. Bourbon Amarelo - Parece ter-se originado como produto de segregação do cruzamento natural entre o Bourbon Vermelho e o Amarelo de Botucatu. Foi encontrado pela primeira vez em Pederneiras, SP.
- cv. Caturra Vermelho - Recebido do Estado do Espírito Santo. Encontrado pela primeira vez em Minas Gerais. Mutação simples do Bourbon Vermelho.
- cv. Caturra Amarelo - Recebido do Estado do Espírito Santo. Foi encontrado pela primeira vez em Minas Gerais. Há duas suposições sobre sua origem: pode ser uma mutação do Caturra Vermelho ou um produto de recombinação do híbrido natural entre Bourbon Amarelo e Caturra Vermelho.
- cv. Mundo Novo - Originário da região de Uru-pês, SP. Produto de recombinação do híbrido natural entre o Bourbon Vermelho e o Sumatra.

Coffea eugenioides - Introdução nº 1140. Sementes enviadas pela "Coffee Research and Experimental Station". Lyamungu, Moshi, Tanzânia.

Coffea kapakata - Introdução nº 1102. Procedente de Iangambi, Stanleyville, Congo.

Coffea congensis - Proveniente da coleção de cafeeiros formada por Edmundo Navarro de Andrade, no Horto Florestal da Companhia Paulista, em Rio Claro. Originário de Java, região de Bangelan.

Coffea canephora:

cv. Kouillou - Proveniente do Espírito Santo, onde é cultivado há muitos anos.

cv. Robusta - Procedente do Horto Florestal de Rio Claro.

cv. Laurentii - Oriundo do Horto Florestal de Rio Claro.

cv. Bukobensis - Proveniente do Horto Florestal de Rio Claro.

Coffea liberica - Procedente de Cravinhos, SP. Importada por Luís Pereira Barreto em 1864.

Coffea dewevrei:

cv. Dewevrei - Proveniente do Horto Florestal de Rio Claro.

cv. Dybowskii - Oriundo do Horto Florestal de Rio Claro.

cv. Abeokutae - Procedence do Horto Florestal de Rio Claro.

Coffea racemosa - Procedente de Moçambique, região de Inhambane, Sul de Moçambique.

Coffea salvatrix - Proveniente da Colômbia.

Coffea stenophylla - Procedente da Guatemala.

4. MÉTODOS

Utilizaram-se, para as análises cromatográficas, polpas de frutos de plantas de uma mesma localidade, tendo-se procurado realizar as coletas em ocasiões próximas, a fim de evitar possíveis variações devidas a épocas.

Os compostos analisados cromatograficamente constituem-se de pigmentos flavonóides pertencentes, principalmente, às classes de flavonóis e flavonas e, possivelmente, de outros compostos fenólicos. Essas classes de flavonóides foram escolhidas com base no conhecimento de que esses pigmentos, sobretudo os flavonóis, são largamente difundidos entre plantas lenhosas (BATE-SMITH, 1954), ocorrendo igualmente em diferentes órgãos da planta, independentemente da sua cor, uma vez que funcionam principalmente como co-pigmentos.

4.1. TESTES REALIZADOS

O desconhecimento relativo ao conteúdo de flavonóis e flavonas na polpa do fruto de café, é quase total. Por isso, procurou-se verificar, inicialmente, as possíveis variações determinadas no conteúdo desses pigmentos pelas diversas condições nas quais os frutos são produzidos ou colhidos, e depois a "repetibilidade" dos métodos usuais para esse tipo de análise, nesse material.

4.1.1. Testes sobre as condições dos frutos

Para os testes destinados a estudar a variabilidade dos flavonóides em função do grau de maturação e da posição dos frutos na planta, utilizou-se o cafeeiro 387, o único com frutos em vários graus de maturação na época da execução dos experimentos.

Durante a colheita do material, notaram-se diferenças nas tonalidades dos frutos, e, por esse motivo, procurou-se estudar o efeito de tais variações nas análises cromatográficas. Ainda que os compostos estudados não sejam os principais determinantes da cor, tornou-se necessário saber da obrigatoriedade ou não da utilização dos frutos com a mesma tonalidade.

Três amostras foram analisadas, sendo a primeira composta de frutos não uniformes na cor (melo maduros), apresentando polpas com raras regiões de tonalidades mais claras. A segunda, designada amostra de frutos maduros, era constituída de frutos de um vermelho intenso e uniforme, no estado comumente designado café cereja. A terceira, de frutos muito maduros, incluiu somente frutos vermelho-escuros, porém ainda túrgidos, em fase anterior àquela denominada "passa", onde a cor é idêntica, mas já começou o emurchecimento da polpa.

Para testar se frutos desenvolvidos em condições de luminosidade diferentes apresentam também diferenças qualitativas nas análises cromatográficas, coletaram-se quatro amostras de frutos em um mesmo grau de maturação, situados externamente no cafeeiro e diferentemente expostos à luz do Sol.

Duas outras amostras foram coletadas, sendo uma delas composta de frutos situados na base dos ramos, em condições de sombreamento, e outra de frutos desses mesmos ramos, diretamente expostos ao Sol.

4.1.2. Teste sobre o processo de conservação do material

Na impossibilidade de trabalhar com grande quantidade de material fresco em curto espaço de tempo, decidiu-se empregar a liofilização na preservação das amostras colhidas. A fim de avaliar a viabilidade do emprego desse método ao material coletado, realizou-se um teste analisando-se cromatograficamente polpas de frutos liofilizados e não-liofilizados. A uniformidade dos resultados obtidos indicou não haver inconveniência em seu uso.

Esse processo de desidratação é extremamente vantajoso, pois evita possíveis oxidações enzimáticas e não-enzimáticas (THOMPSON, 1959), mantém condições mais uniformes e possibilita a estocagem, por tempo indefinido, de grande número de amostras, uma vez que, no caso do cafeeiro, a maior parte do material estudado se apresenta com frutos maduros durante um período relativamente curto.

4.1.3. Teste de processos de extração

Os resultados das análises cromatográficas de extratos metanólicos, de amostras que sofreram extrações prévias com éter de petróleo e clorofórmio, comparados com aqueles de amostras exclusivamente extraídas com o metanol, indicaram não ter havido perdas de pigmentos no material que sofreu as pré-extrações. Semelhantes resultados foram observados por THOMAS & MABRY (1968).

Em função de tais resultados, decidiu-se empregar pré-extração com éter de petróleo para retirar compostos lipossolúveis, e com clorofórmio para completar a retirada desses compostos e eliminar as clorofilas. Tal método apresenta a vantagem de permitir a obtenção de extratos metanólicos mais fáceis de serem trabalhados, com menor viscosidade e menos impurezas, como já havia sido observado por MABRY, MARKHAM & THOMAS (1970). De acordo com esses autores, o processo de pré-extração é indispensável a muitos materiais.

4.1.4. Conclusão dos testes

As análises cromatográficas de frutos em três graus de maturação não revelaram diferenças qualitativas maiores do que aquelas encontradas entre repetições de uma mesma amostra.

Resultados semelhantes foram obtidos nas análises cromatográficas de amostras de frutos colhidos em diferentes posições no cafeeiro.

A desidratação do material por liofilização provou não conduzir à alteração dos compostos em estudo, ao dar, nas análises cromatográficas, resultados semelhantes ao material fresco.

Da comparação dos resultados das análises cromatográficas de amostras extraídas com éter de petróleo, clorofórmio e metanol com os das amostras extraídas somente com metanol, concluiu-se que não houve perda dos compostos em estudo nos extratos de éter de petróleo e de clorofórmio.

4.2. MÉTODO UTILIZADO

O método definitivo de trabalho foi escolhido em função dos resultados obtidos nos testes efetuados e das indicações encontradas na literatura.

De cada uma das espécies e cultivares, analisaram-se no mínimo três plantas, utilizando-se amostras de três, quatro e até cinco frutos de cada planta, em vista da insuficiência de concentração do material extraído de menor número de frutos. Adotou-se o critério de trabalhar sempre com polpas de frutos "maduros" e "muito maduros", desidratados por liofilização.

4.2.1. Coleta e estocagem do material

As amostras de frutos colhidos foram manualmente despulpadas, ainda no campo, e as polpas, imediatamente, colocadas em gelo seco (-80° C) e, nessas condições, transportadas para o laboratório.

A secagem do material foi feita por liofilização, empregando-se o aparelho *Virtis*.

O tempo de liofilização foi de, aproximadamente, nove horas, suficiente para que as amostras atingissem 2 a 3% de umidade. Cada amostra liofilizada foi estocada em atmosfera de nitrogênio em temperatura ambiente.

4.2.2. Extração dos pigmentos

A extração dos pigmentos foi efetuada em aparelhos tipo Soxhlet, empregando-se uma série eluotrópica de três solventes, tendo-se iniciado com um solvente não-polar e concluído com um polar ou hidrófilo. O primeiro solvente adotado foi o éter de petróleo (30-65° C), seguindo-se o clorofórmio e, finalmente, o metanol 80%, sendo o tempo de extração, para cada solvente, de cerca de 24 horas.

O emprego de metanol justificou-se por seu ponto de ebulição mais baixo do que outros álcoois, evitando, assim, superaquecimento das amostras e permitindo uma redução mais rápida do volume do extrato (SWAIN, 1965). Em virtude de se utilizar material liofilizado e de os principais flavonóides serem solúveis em água, adicionou-se 20% de água ao metanol (MABRY et al, 1970).

O emprego de água ou de solventes predominate-mente aquosos leva à extração de outras substâncias, sobretudo aquelas de alto peso molecular, difíceis de serem separadas dos flavonóides e que interferem nas análises posteriores. Além disso, o extrato aquoso é muito mais difícil de ser reduzido a pequeno volume (SWAIN, 1965).

Os extratos metanólicos foram concentrados a

vácuo e guardados em geladeira dentro de frascos onde se injetou nitrogênio gasoso.

4.2.3. Separação dos componentes dos extratos

Empregou-se a técnica recomendada na literatura (HARBORNE, 1958, 1959; SEIKEL, 1962, e ALSTON, 1958) como a de melhor resolução na análise de compostos fenólicos e flavonóides em geral, tratando-se da cromatografia bidimensional ascendente, em papel Whatman nº 1. Através dela, obteve-se boa separação dos componentes dos extratos. Os cromatogramas foram desenvolvidos em câmaras de vidro, medindo 30 cm de diâmetro por 60 cm de altura.

a) Cromatografia bidimensional ascendente

A fim de que as manchas fossem suficientemente visíveis após a separação, conforme o material estudado, quantidades diferentes de extratos foram aplicadas num dos ângulos do papel, a 4 cm das margens. Em média, a quantidade empregada foi de 40-50 microlitros. Em certos casos, houve necessidade de obtenção de extratos mais concentrados para permitir melhor identificação das manchas. A secagem do extrato no papel foi feita com o auxílio de jatos de ar frio.

b) Desenvolvimento dos cromatogramas bidimensionais

Os cromatogramas foram desenvolvidos em sala com temperatura mantida a 22º C, aproximadamente, por meio de condicionador de ar.

Os cromatogramas foram deixados por uma hora dentro das cubas, sem tocar o solvente, para entrar em equilíbrio e, só então, foram abaixados até imersão das bordas inferiores.

Para o desenvolvimento na primeira direção foi utilizada a fase superior, obtida pela mistura dos solventes n-butanol:ácido acético:água, nas proporções de 4:1:5; volume por volume (GEISSMAN, 1955; HARBORNE, 1959, e TOSELLO, 1969). O cromatograma foi mantido no solvente por cerca de 24 horas, tempo suficiente para que este atingisse 30 cm de linha de frente.

A mistura foi sempre efetuada 24 horas antes do uso, sendo então sua fase superior colocada na câmara cromatográfica para saturação desta, e, sua renovação, feita de oito em oito dias.

Para segunda direção, utilizou-se como solvente o ácido acético a 2%, sendo de, aproximadamente, três horas o tempo necessário para atingir 30 cm de linha de frente.

Após o término do desenvolvimento na primeira direção, os cromatogramas foram deixados a secar naturalmente, em geral de um dia para o outro, e somente então foram preparados para a segunda direção.

Para detecção das manchas, marcação das respectivas cores e delimitação dos seus contornos e das frentes atingidas pelos solventes, os cromatogramas foram observados sob luz ultravioleta curta e longa após exposição a vapores de amônia. Os Rfs para cada composto foram calculados, dividindo a distância, em centímetros, do ponto de aplicação do extrato ao centro da mancha correspondente, pela distância do ponto de aplicação até a frente do solvente.

e) Interpretação dos cromatogramas bidimensionais

Uma vez individualizadas, as manchas foram numeradas, tendo-se o cuidado de que manchas semelhantes recebessem sempre o mesmo número. A numeração foi iniciada com as manchas mais frequentes, terminando com as restritas a uma só espécie ou cultivar.

Testes com soluções de NaOH e com H₂SO₄ concentrado, foram feitos sobre manchas de algumas espécies que permitiam dúvidas sobre sua caracterização. Tais testes não visavam à identificação de classes de compostos, mas a verificação da igualdade do composto presente.

Os resultados das análises cromatográficas dos cultivares de *C. arabica*, *C. canephora* e *C. dewevrei* foram reunidos nos quadros 1, 3 e 5, respectivamente. Para a análise comparativa das espécies, compôs-se o quadro 7, incluindo, no caso de *C. arabica*, *C. dewevrei* e *C. canephora*, os cultivares correspondentes às variedades consideradas tipo dessas espécies: Típica e Abissínic, Dewevrei e Kouillou, respectivamente, além do cultivar Robusta, de *C. canephora*.

Nesses quadros, estão relacionadas as manchas, suas cores, observadas em luz U.V., após a exposição a vapores de amônia, e os valores de R_f de cada mancha nos dois solventes utilizados.

Manchas iguais em quadros diferentes só podem ser detectadas pelos valores de R_f e pela cor.

4.2.4. Determinação do índice de afinidade

Nas pesquisas de bioquímica sistemática, ao se procurar elucidar relações filogenéticas, têm-se utilizado diferentes representações esquemáticas para demonstrar tais relações. Uma dessas representações é baseada no índice de afinidade pareada (P.A.), apresentado por ELLISON, ALSTON & TURNER (1962), num trabalho sobre o gênero *Bahia*, e utilizado por TOSELLO (1969) em orquídeas. O mesmo método, com o nome de índice de similaridade (SOKAL & SNEATH, 1963, e SOKAL, 1966, citado por TAYLOR & CAMPBELL, 1969), e citados por TAYLOR & CAMPBELL (1969) para estudos filogenéticos no gênero *Aquilegia*.

O grau de afinidade entre duas espécies, com

base em resultados das análises cromatográficas, é calculado pela fórmula:

$$P.A. = \frac{\text{manchas comuns às espécies A + B}}{\text{total de manchas em A + B}} \cdot 100$$

Com a aplicação dessa fórmula, foram obtidos valores de 0 a 100, de acordo com o menor ou maior número de manchas em comum entre duas espécies ou cultivares e, portanto, menor ou maior afinidade. Da mesma forma, também foram calculados os valores de P.A. entre subseções, colocando-se no numerador a soma de manchas em comum a duas subseções e, no denominador, a soma total das manchas.

4.2.5. Gráficos poligonais de Hutchinson

De acordo com ELLISON *et al.* (1962), os índices de P.A. são melhor ilustrados quando dispostos na forma de gráficos poligonais (HUTCHINSON, 1936, citado por ELLISON *et al.*, 1962), que possibilitam a visualização das afinidades bioquímicas das várias espécies. Seguindo o mesmo processo, procurou-se também representar os valores de P.A. obtidos para as espécies estudadas de *Coffea*.

No presente caso, os gráficos poligonais consistem em círculos com 30 mm de raio, subdivididos em 10 ou 14 partes iguais, representando, cada raio, respectivamente, as espécies ou cultivares estudados. (Fig. 13)

Os valores de P.A. iguais a zero foram colocados no centro e, os iguais a 100, na periferia do círculo. Os valores intermediários foram distribuídos ao longo dos raios correspondentes. Cada valor de P.A. foi multiplicado por 0,3, a fim de ser reduzido à escala do raio (30 mm), e colocado sobre o raio correspondente, na forma de um ponto. Desse modo, num gráfico poligonal, para dada espécie, o valor de P.A. é igual a 100 no ponto referente a essa espé-

cie, e os demais valores são colocados de acordo com os diferentes graus de afinidade que têm em relação a ela. Juntando os pontos marcados, um em cada raio, através de retas, temos o gráfico poligonal, que pode ser interpretado quanto à forma e à área.

5. RESULTADOS

Na apresentação dos resultados, procurou-se, inicialmente, analisar as informações fornecidas pelos cromatogramas, individualmente; a seguir, foram apresentados os valores de P.A. obtidos entre espécies e cultivares dentro de uma espécie.

5.1. CROMATOGRAMAS DE CULTIVARES DE *COFFEA ARABICA*

Os resultados das análises cromatográficas dos extratos de polpas de frutos maduros dos catorze cultivares de *Coffea arabica* estão dispostos no quadro 1.

Foram detectadas quarenta e sete manchas. As de números um a treze são comuns a todos os cultivares estudados, predominando, entre elas, as de cor azul-esverdeada. Entre as amarelas as de números 8 a 11 são especialmente características, pela intensidade e tonalidade da cor.

Três manchas ocorrem em treze cultivares, três em doze, quatro em onze e duas em dez. Verifica-se, portanto, que 53% das manchas são altamente frequentes nos cultivares estudados. As demais ocorreram em frequência cada vez menor, havendo aquelas que só foram encontradas em determi-

QUADRO 1.- Relação das manchas encontradas nas análises cromatográficas dos extratos de polpas de frutos maduros de cultivares de *C. arabica*

Mancha				Cultivares													
Número	Cor ⁽¹⁾	Rf		típica	Mundo Novo	B. vermelho	B. amarelo	Cat. vermelho	Cat. amarelo	Laurina	Roxa	Abissínic	Geisha	Ciocote	X 321	K 7	BA 10
		B.A.M. ⁽²⁾	HO-Ac ⁽³⁾														
1	Azul-esc.	80	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Azul	78	59	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	Azul-esc.	78	22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	Lilás	78	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	Azul-esc.-esc.	76	76	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	Azul-esc.-esc.	68	75	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	Azul-esc.-esc.	64	55	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	Amar.-dourada	55	20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	Azul-esc.	53	76	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	Azul-esc. fl.	53	61	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	Amar.-cast.	51	31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	Amar. pálida	19	68	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	Amar.-azulada	17	14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	Cast.-dourada	64	12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	Amarela	33	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	Cinza	10	81	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	Roxa	83	83	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	Roxa	40	64	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	Amar. pálida	19	53	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	Azul-roxa	84	70	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	Lilás	66	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22	Amarela	86	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23	Cinza	9	87	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24	Amarela	7	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25	Roxa	41	77	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26	Cinza	98	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	Amarela	22	67	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28	Azul-roxa	82	28	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29	Amar.-cast.	54	38	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30	Amar.-dourada	33	7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31	Lilás	27	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32	Amarela	17	51	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
33	Amarela	23	46	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34	Cinza	17	87	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35	Azul	76	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
36	Azul int. fl.	92	33	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37	Amarela	29	58	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
38	Amar.-dourada	38	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
39	Amar.-dourada	48	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40	Cinza	23	88	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
41	Azulada	64	29	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
42	Amarela	13	25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43	Azul	25	66	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
44	Roxa	25	76	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45	Amar.-dourada	12	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
46	Azul-esc.	75	40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
47	Amarela	75	8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(¹) Cor em U.V. após exposição a vapores de anilina; amar. = amarela; averm. = avermelhada; cast. = castanha; esc. = escura; sev. = esverdeada; fl. = fluorescente; int. = intensa.

(²) n-Butanol:ácido acético:água (4:1:5).

(³) Solução aquosa de ácido acético a 2%.

nado cultivar, como a de número 42, exclusiva do café Abissínica; as de números 43, 44 e 45, exclusivas do Cioiccie; a de número 46, exclusiva do X 321, e a de número 47, exclusiva do Geisha.

Das quarenta e sete manchas detectadas, trinta e quatro ocorrem também entre as outras espécies e treze são exclusivas dos cultivares de *C. arabica*.

Essas treze manchas exclusivas são as de números 11, 24, 27, 29, 32, 33, 37, 38, 39, 42, 43, 44 e 45, sendo que onze são de diferentes tonalidades de amarelo, uma é azul e, outra, roxa, quando observadas em luz U.V., após exposição a vapores de amônia. Em Típica, Mundo Novo, Bourbon Amarelo, Laurina, X 321 e BA 10, ocorrem diferentes grupos de quatro dessas treze manchas e, em Bourbon Vermelho, Caturra Amarelo, Mokka, Geisha e K7 ocorrem diferentes grupos de três. No Caturra Vermelho, foram detectadas cinco dessas manchas, no Cioiccie, seis e, no Abissínica, um grupo de oito das treze manchas.

Pode-se verificar que as manchas exclusivas aos cultivares estudados de *C. arabica* ocorrem com maior frequência no Abissínica e, depois, no Cioiccie, ambos semi-silvestres.

Todas as representantes desse grupo de treze manchas, presentes em Típica, Mundo Novo, Bourbon Vermelho, Bourbon Amarelo, Caturra Vermelho, Laurina, Geisha, K 7 e BA 10, também ocorrem no café Abissínica. O X 321 apresenta três dessas manchas comuns ao Abissínica e uma exclusiva; o cultivar Cioiccie apresenta três delas comuns ao Abissínica e três exclusivas, e o Mokka e o Caturra Amarelo possuem duas em comum com o Abissínica e uma exclusiva.

Dessas treze manchas, apenas a de número 11 é comum às catorze variedades estudadas; a de número 24 ocorre em dez variedades, e, as demais, são menos frequentes.

Do total de quarenta e sete manchas presentes nos cultivares estudados, vinte e sete formam um grupo de manchas azuis, roxas e cinzas, e as vinte restantes, um de manchas amarelas.

À exceção do Abissínica, em todos os cultivares, há sempre predominância das manchas azuis, roxas e cinzas, sendo que a maior freqüência delas é encontrada em Típica, Mundo Novo, Bourbon Vermelho, Bourbon Amarelo, Caturra Vermelho, Caturra Amarelo, Mokka, K 7 e BA 10.

Quanto às manchas amarelas, a maior freqüência ocorre nos cultivares Geisha, Cioiccie e Abissínica, sendo este último o que maior número apresenta. A predominância de manchas amarelas nesses cultivares parece ser muito significativa, ao se notar que são as únicas populações semi-silvestres estudadas.

O Típica é o que apresenta o maior número total de manchas, trinta e três, seguindo-se o Mundo Novo e o Mokka, com trinta e uma mancha cada um. O cultivar Geisha tem um total de trinta manchas, Caturra Amarelo e Abissínica, vinte e nove manchas, e Bourbon Vermelho, Bourbon Amarelo, Caturra Vermelho, Laurina, Cioiccie e K 7 apresentam todos vinte e oito manchas. No café BA 10 ocorrem vinte e sete manchas e, no X 321, apenas vinte e quatro.

5.2. VALORES DE P.A. E GRÁFICOS POLIGONAIS REFERENTES AOS CULTIVARES DE *COFFEA ARABICA*

Numa tentativa de visualizar mais objetivamente as relações de afinidade dentro de *C. arabica*, foram calculados, para cada par de cultivares, os valores de P.A., a partir dos dados que estão reunidos no quadro 1 e são apresentados no quadro 2.

Nota-se, primeiramente, uma faixa muito grande de variação entre os valores de P.A. obtidos, indo desde o valor máximo de 96% entre Bourbon Amarelo e Laurina, até ao mínimo de 66% entre Bourbon Vermelho e Abissínica.

O K 7 e o X 321, originários, respectivamente, de Quênia e Tanzânia, apresentam o mais alto valor de P.A. (88%) entre si e com o café Geisha. Bourbon Vermelho e Laurina,

QUADRO 2.- Valores de P.A. para cultivares de *C. arabica*

Cultivares	P.A.		
Típica	100		
Mundo Novo	84	100	
Bourbon Vermelho	82	77	100
Bourbon Amarelo	85	84	75 100
Caturra Vermelho	78	77	75 78 100
Caturra Amarelo	80	93	84 84 73 100
Mokka	84	90	84 84 81 86 100
Laurina	82	84	71 96 78 80 84 100
X 321	73	83	76 84 80 79 83 84 100
BA 10	83	79	80 80 80 78 79 80 82 100
K 7	78	84	78 82 78 84 84 82 88 74 100
Cioiccie	72	74	71 78 71 70 81 78 84 72 78 100
Geisha	82	85	79 89 82 81 91 89 88 80 86 100
Abissínicia	80	76	66 80 80 69 73 84 75 75 77 70 78 100

oriundos da ilha de Reunião, têm baixo índice de afinidade (P.A. = 71%).

O P.A. entre Laurina e Mokka, oriundos de regiões diferentes, ilha da Reunião e Etiópia, respectivamente, é alto (84%), o que confirma o fato conhecido da semelhança morfológica e genética entre ambos. O único cultivar estudado, originário da Índia, BA 10, tem o mais alto valor de P.A. em relação ao Típica. A respeito dos quatro cultivares surgidos no Brasil, Bourbon Amarelo, Caturra Amarelo, Caturra Vermelho e Mundo Novo, os valores de P.A. entre eles são bem altos, mas, em todos os casos, inferiores, relativamente a Caturra Vermelho.

Os valores de P.A. entre populações originárias da Etiópia, e que são Típica, Mokka, Abissínica, Geisha e Cioiccie, são quase sempre altos, à exceção daqueles entre Típica e Cioiccie, Mokka e Abissínica e Cioiccie e Abissínica. Dos três cultivares semi-silvestres estudados, Abissínica, Geisha e Cioiccie, verifica-se que o segundo apresenta boa afinidade com os outros dois, que, por sua vez, têm menor afinidade entre si.

Examinando as tendências gerais de cada cultivar, pelos seus valores de P.A. em relação aos demais, verifica-se que dois deles, Geisha e Mokka, apresentam elevado grau de afinidade com todos e, particularmente, entre si (P.A. = 91%). O Bourbon Amarelo apresenta também muito boa afinidade com os demais, em especial com Laurina (96%).

Por sua vez, os cultivares que apresentam os mais baixos valores de P.A. são Abissínica, Cioiccie e Bourbon Vermelho.

Os gráficos poligonais desses cultivares (figuras 16, 17 e 18) apresentam formas extremamente uniformes, como seria de esperar, em se tratando de populações de uma mesma espécie. Nos cultivares menos relacionados, observa-se ligeira redução da área do polígono, porém a forma é seme-

lhante. É o caso do Abissínica, Gioiccie e Bourbon Vermelho. Nos cultivares mais bem relacionados, como Geisha e Mokka, as áreas são maiores.

5.3. CROMATOGRAMAS E VALORES DE P.A. REFERENTES AOS CULTIVARES DE *COFFEA CANEPHORA*

No quadro 3 estão relacionados os resultados das análises cromatográficas dos extratos de polpas de frutos maduros dos cultivares Kouillou, Robusta, Laurentii e Bukobensis pertencentes à espécie *Coffea canephora*.

O total de manchas isoladas foi trinta e um. As manchas de 1 a 18 são comuns aos quatro cultivares. Sete manchas estão presentes diferentemente em três cultivares e, duas, apenas em dois. A mancha 31 é exclusiva de Robusta. Nesses quatro cultivares de *C. canephora*, 58% das manchas detectadas são comuns a todos eles.

Robusta e Kouillou têm vinte e seis manchas em comum. Todas as vinte e quatro manchas do Laurentii estão presentes em Kouillou e, vinte e três delas, no Robusta. O Bukobensis tem vinte e uma das suas vinte e três manchas em comum com o Kouillou, vinte e uma com o Robusta e dezanove com o Laurentii.

Das trinta e uma manchas diferentes isoladas, vinte e nove ocorrem também em outras espécies estudadas de *Coffea* e, apenas duas, são exclusivas de *C. canephora*; a de número 23, presente em Robusta, Kouillou e Laurentii, e a de número 29, que aparece nos dois primeiros.

De todas as manchas detectadas, vinte e cinco são de diferentes tonalidades de azul, roxo e cinza, e apenas seis são amarelas. Dessas seis, duas são comuns a quatro cultivares, duas a três, uma a dois e apenas a de número 31 é exclusiva de Robusta. Cinco das seis manchas amarelas

QUADRO 3.- Relação das manchas encontradas nas análises cromatográficas dos extratos de polpas de frutos maduros de cultivares de *C. canephora*

Mancha		Rf		Cultivares			
Nº	Cor ¹	B.A.W. ²	HO-Ac ³	Robusta	Kouillou	Laurentii	Bukobensis
1	Az-escv.fl.	64	55	+	+	+	+
2	Az-escv.fl.	68	75	+	+	+	+
3	Azul-escv.	53	61	+	+	+	+
4	Azul-escv.	53	76	+	+	+	+
5	Az-escv-esc.	78	59	+	+	+	+
6	Az-escv-esc.	76	76	+	+	+	+
7	Roxo	40	64	+	+	+	+
8	Amarelo	33	0	+	+	+	+
9	Lilás	66	0	+	+	+	+
10	Lilás	78	0	+	+	+	+
11	Azul-escv.	80	9	+	+	+	+
12	Azul-escv.	78	22	+	+	+	+
13	Azul-roxo	82	28	+	+	+	+
14	Azul-int.	92	33	+	+	+	+
15	Azul-escv.	49	51	+	+	+	+
16	Am. pálido	19	68	+	+	+	+
17	Cinza	10	81	+	+	+	+
18	Cinza	9	87	+	+	+	+
19	Roxo	41	77	+	+	+	+
20	Lilás	27	0	+	+	+	
21	Amarelo	56	4	+	+	+	
22	Azul	76	5	+	+	+	
23	Azul	45	4	+	+	+	
24	Azul	84	12	+	+	+	
25	Am. pálido	15	53		+	+	+
26	Cast.dour.	64	12	+			+
27	Azul	64	29	+			+
28	Azul-erv.	47	37		+		+
29	Roxo	78	20	+	+		
30	Cinza	17	87	+	+		
31	Am.-dourado	53	30	+			

(¹) Cor em U.V. após exposição a vapores de amônia; am.= amarelo; az.= azul; cast.= castanho; dour.= dourado; esc.= escuro; esv.= esverdeado; fl.= fluorescente; int.= intenso.

(²) n-Butanol : ácido acético : água (4:1:5)

(³) Solução aquosa de ácido acético a 2%.

ocorrem em Robusta e quatro delas no Kouillou, Laurentii e Bukobensis.

No quadro 4, encontramos os valores de P.A. entre os cultivares estudados. O Kouillou, correspondente ao tipo da espécie, segundo CHEVALIER (1947), apresenta os mais altos valores de P.A. com Robusta (91%) e Laurentii (92%). Entre os dois também há um alto valor de P.A. (86%). O cultivar Bukobensis é aquele que apresenta os menores índices de afinidade com os demais.

QUADRO 4.- Valores de P.A. para cultivares de *Coffea canephora*

Cultivares	P.A.			
Kouillou	100			
Robusta	91	100		
Laurentii	92	86	100	
Bukobensis	82	80	80	100

5.4. CROMATOGRAMAS E VALORES DE P.A. REFERENTES AOS CULTIVARES DE *COFFEA DEWEVREI*

No quadro 5 encontram-se os resultados das análises cromatográficas efetuadas em material dos cultivares Dewevrei, Dybowskii e Abeokutae da espécie *C. dewevrei*. Foram detectadas trinta e seis manchas, sendo vinte e oito em Dewevrei, vinte e seis em Dybowskii e trinta e uma em Abeokutae.

Vinte manchas são comuns aos três cultivares, quatro são exclusivas do Dewevrei e do Abeokutae, três são comuns apenas ao Dybowskii e ao Abeokutae e duas apenas ao Dewevrei e Dybowskii. Aparecem duas manchas exclusivas ao Dewevrei, uma ao Dybowskii e quatro ao Abeokutae.

QUADRO 5.- Relação das manchas encontradas nas análises cromatográficas dos extratos de polpas de frutos maduros de cultivares de *C. deweyrei*

Mancha		Rf		Cultivares		
Nº	Cor ⁽¹⁾	B.A.W. ²	HO-Ac ³	Deweyrei	Dybowskii	Abeokutae
1	Az.-esv.fl.	64	55	+	+	+
2	Az.-esv.fl.	68	75	+	+	+
3	Azul-esv.	53	61	+	+	+
4	Azul-esv.	53	76	+	+	+
5	Az.-esv.-esc.	78	59	+	+	+
6	Lilás	27	0	+	+	+
7	Lilás	66	0	+	+	+
8	Lilás	78	0	+	+	+
9	Azul-esv.	80	9	+	+	+
10	Azul-esv.	78	22	+	+	+
11	Azul	84	12	+	+	+
12	Azul-esv.	49	51	+	+	+
13	Am. pálido	19	68	+	+	+
14	Cinza	10	81	+	+	+
15	Am. pálido	15	53	+	+	+
16	Azulado	64	29	+	+	+
17	Azul	65	6	+	+	+
18	Am.-azulado	17	14	+	+	+
19	Roxa	83	83	+	+	+
20	Azul-roxa	84	70	+	+	+
21	Roxa	40	64	+	+	+
22	Roxa	41	77	+	+	+
23	Azul int.	92	33	+	+	+
24	Cinza	17	87	+	+	+
25	Az.-esv.-esc.	76	76	+	+	+
26	Cinza	9	87	+	+	+
27	Azul	63	15	+	+	+
28	Amarelo	56	4	+	+	+
29	Azul-roxa	82	28	+	+	+
30	Cinza	92	0	+	+	+
31	Amarelo	75	88	+	+	+
32	Azul	21	74	+	+	+
33	Am.-cast.	51	31	+	+	+
34	Azul	25	66	+	+	+
35	Roxa	25	76	+	+	+
36	Roxa	23	85	+	+	+

(¹) Cor em U.V. após exposição a vapores de amônia; am.= amarelo; az.= azul; cast.= castanho; dour.= dourado; esc.= escuro; esv.= esverdeado; fl.= fluorescente; int.= intenso.

(²) n-Butanol : ácido acético : água (4:1:5)

(³) Solução aquosa de ácido acético a 2%.

As manchas de diferentes tonalidades de azul e roxo predominam enormemente sobre as amarelas, que são apenas seis. Das amarelas, cinco estão presentes no Dewevrei e, quatro, em Dybowski e Abeokutae.

Das trinta e seis manchas isoladas, a de número 32 é exclusiva de Dybowski. A mancha 27, que aparece em Dybowski e Abeokutae ocorre também em *C. liberica*. A de número 33, detectada no Abeokutae, somente aparece na espécie *C. arabica*, sendo comum a todos os cultivares estudados. As manchas de números 34 e 35 são comuns a Abeokutae e Cioiccie, de *C. arabica*, e a de número 32 ocorre somente em Abeokutae e na espécie *C. congensis*.

No quadro 6, temos os valores de P.A. obtidos e que se mostram muito uniformes. O Dewevrei apresenta o mesmo grau de afinidade (81%) por Dybowski e por Abeokutae e estes, por sua vez, têm entre si um valor de P.A. ligeiramente menor (80%). Como o cultivar comparado com *C. liberica* para o cálculo do P.A. foi o Dewevrei (86%), procurou-se, também, conhecer o valor de P.A. entre *C. liberica* e os cultivares Dybowski e Abeokutae. Tais valores foram de 81 a 78%, respectivamente, sempre menores, portanto, que o anteriormente obtido.

QUADRO 6.- Valores de P.A. para cultivares de *Coffea dewevrei*.

Cultivares	P.A.		
Dewevrei	100		
Dybowski	81	100	
Abeokutae	81	80	100

5.5. CROMATOGRAMAS DAS ESPÉCIES ESTUDADAS DO GÊNERO *COFFEA*

No quadro 7, acham-se os resultados das análises cromatográficas dos extratos de polpas de frutos maduros das dez espécies estudadas do gênero *Coffea*.

Setenta e uma manchas foram detectadas, considerando-se o cultivar Típica como o representante de *C. arabica*. Quando o Abissínica foi considerado o representante de *C. arabica*, o número total de manchas passou a ser setenta e cinco.

Apenas quatro manchas são comuns a todas as espécies estudadas. Cinco delas ocorrem em nove espécies, faltando quatro em *C. salvatrix* e uma em *C. racemosa*, e outras cinco estão presentes em oito espécies, faltando principalmente em *C. eugenioides* e *C. salvatrix*. Três manchas são comuns a sete espécies, três aparecem em seis e duas em cinco, e dessas oito manchas apenas uma ocorre em *C. salvatrix* e quatro em *C. eugenioides* e *C. congensis*. Cinco manchas estão presentes em quatro espécies, faltando sempre em *C. eugenioides* e *C. salvatrix*, sete ocorrem em três diferentes espécies e onze aparecem apenas em duas espécies, sendo que cinco delas são comuns exclusivamente a *C. eugenioides* e *C. salvatrix*.

Das vinte e nove manchas que aparecem com exclusividade em apenas uma espécie, doze são exclusivas de *C. salvatrix*, sete de *C. arabica*, três de *C. congensis*, duas de *C. eugenioides*, duas de *C. canephora*, duas de *C. kapakata* e uma de *C. liberica*.

Do total de setenta e cinco manchas detectadas, trinta e seis formam um grupo de manchas azuis, roxas e cinzas, e, trinta e nove, um grupo de manchas amarelas, castanhas e castanho-avermelhadas. Em oito espécies, predominam as manchas azuis, roxas e cinzas e, em *C. eugenioides*, *C. salvatrix* e no cultivar Abissínica de *C. arabica* predominam as manchas amarelas, castanhas e castanho-

QUADRO 7.- Relação das manchas encontradas nas análises cromatográficas dos extratos de polpas de frutos maduros de espécies do gênero *Coffea*

Número	Mancha	Rf		Subseção Erythrocoffea						Subseção Melanocoffea	Subseção Pachycoffea		Subseção Mozambicoffea			
		Cor ⁽¹⁾	B.A.W. ⁽²⁾	HO-Ac ⁽³⁾	<i>C. congensis</i>	<i>C. arabica</i> cv. <i>Typica</i>	<i>C. arabica</i> cv. <i>Abissinica</i>	<i>C. canephora</i> cv. <i>Kouillou</i>	<i>C. canephora</i> cv. <i>Robusta</i>	<i>C. eugenioides</i>	<i>C. stenophylla</i>	<i>C. liberica</i>	<i>C. devesurei</i>	<i>C. racemosa</i>	<i>C. kapakata</i>	<i>C. sativaria</i>
1	Azul-esv. fl.	64	55	+	+	+	+	+	+							
2	Azul-esv. fl.	68	75	+	+	+	+	+	+							
3	Azul-esv.	80	9	+	+	+	+	+	+							
4	Amar. pálida	19	68	+	+	+	+	+	+							
5	Azul-roxa	82	28	+	+	+	+	+	+							
6	Lilás	78	0	+	+	+	+	+	+							
7	Azul-esv. fl.	53	61	+	+	+	+	+	+							
8	Azul-esv.-esc.	78	59	+	+	+	+	+	+							
9	Lilás	66	0	+	+	+	+	+	+							
10	Azul-esv. fl.	53	76	+	+	+	+	+	+							
11	Cinza	10	81	+	+	+	+	+	+							
12	Lilás	27	0	+	+	+	+	+	+							
13	Amar. pálida	15	53	+	+	+	+	+	+							
14	Cinza	17	87	+	+	+	+	+	+							
15	Cinza	92	0	+	+	+	+	+	+							
16	Azul-esv.	78	22	+	+	+	+	+	+							
17	Azul-esv.-esc.	76	76	+	+	+	+	+	+							
18	Roxa	40	64	+	+	+	+	+	+							
19	Amarela	56	4	+	+	+	+	+	+							
20	Roxa	83	83	+	+	+	+	+	+							
21	Roxa	41	77	+	+	+	+	+	+							
22	Azul-esv. int.	92	33	+	+	+	+	+	+							
23	Azul-esv.	49	51	+	+	+	+	+	+							
24	Amar.-azulada	17	14		+	+	+	+	+							
25	Cinza	9	87		+	+	+	+	+							
26	Azul	84	12							+						
27	Azul-roxa	84	70		+											
28	Azul intensa	84	65	+												
29	Amarela	33	0		+	+										
30	Amar.-dourada	33	7		+	+										
31	Azulada	64	29		+	+										
32	Amarela	75	8		+	+										
33	Amar.-dourada	55	20		+	+										
34	Cast.-dourada	64	12		+	+										
35	Azul	65	6													
36	Azul-esv.	75	40	+												
37	Cinza	23	88		+											
38	Amar.-dourada	23	30													
39	Amar.-dourada	30	43													
40	Cast.-averm.	24	0													
41	Amar.-averm.	83	26													
42	Amarela	40	31													
43	Azul	76	5													
44	Azul-esv.	47	37	+												
45	Amar.-dourada	53	30													
46	Amar.-cast.	51	31		+	+										
47	Azul-esv.	38	32	+												
48	Azul intensa	80	26	+												
49	Roxa	23	85	+												
50	Amar.-cast.	54	35		+	+										
51	Amarela	29	58		+	+										
52	Amarela	23	46		+	+										
53	Azul	63	15													
54	Amarela	13	12													
55	Amarela	13	24													
56	Cast.-averm.	12	7													
57	Cast.-averm.	4	16													
58	Amar.-averm.	66	46													
59	Cast.-averm.	64	27													
60	Amar.-azulada	17	66													
61	Amar.-azulada	10	43													
62	Amarela	6	51													
63	Amarela	27	14													
64	Amarela	41	17													
65	Cast.-averm.	50	10													
66	Amar.-averm.	62	4													
67	Cast.-averm.	37	52													
68	Azul	45	4													
69	Roxa	78	20													
70	Amarela	52	26													
71	Amarela	52	15													
72	Amarela	7	0													
73	Amarela	22	67													
74	Amarela	17	51													
75	Amarela	13	25													

(¹) Cor em U.V. após exposição a vapores de amônia: amar. = amarela; averm. = avermelhada; cast. = castanha; esc. = escura; esv. = esverdeada; fl. = fluorescente; int. = intensa.

(²) n-Butanol:ácido acético:água (4:1:5).

(³) Solução aquosa de ácido acético a 2%.

-avermelhadas. Treze das vinte e quatro manchas presentes em *C. eugenioides* e vinte e uma das vinte e seis que ocorrem em *C. salvatrix* são desse grupo de manchas amarelas. A espécie *C. arabica* tem vinte e uma manchas azuis, roxas e cinzas e doze do grupo das amarelas no cultivar Típica; no Abissínica, treze são do primeiro grupo citado e, dezesseis, do grupo das amarelas. As demais espécies apresentam poucas manchas amarelas, em número variável de um a sete.

As espécies *C. eugenioides* e *C. salvatrix* possuem poucas manchas azuis, roxas e cinzas; assim mesmo, são as que ocorrem com maior freqüência nas espécies estudadas. Apresentam, além daquelas que lhes são específicas, um grupo de manchas amarelas comuns somente entre si e duas em comum com *C. arabica*. *C. eugenioides* tem uma única mancha de cor amarela, comum a *C. arabica* e a *C. canephora*.

As outras oito espécies possuem grande número de manchas em comum e algumas exclusivas de diferentes grupos de duas ou três espécies. *C. stenophylla*, comparativamente às outras espécies, apresenta poucas manchas, as quais pertencem ao grupo das mais freqüentes dentro das espécies estudadas.

As espécies *C. liberica* e *C. dewevrei* são as mais uniformes entre si quanto às manchas que apresentam, e *C. salvatrix* é a que apresenta menos semelhança com as demais.

5.6. VALORES DE P.A. REFERENTES ÀS ESPÉCIES ESTUDADAS DO GÊNERO *COFFEA*

Nos quadros 8 e 9 estão relacionados os valores de P.A. obtidos para cada par de espécies analisadas, utilizando-se os resultados apresentados no quadro 7. No quadro 8, o café Típica representa a espécie *C. arabica* e Robusta a *C. canephora*. No quadro 9, *C. arabica* é representada pelo Abissínica e, *C. canephora*, pelo Kouillou.

QUADRO 8.- Valores de P.A. para as espécies estudadas do gênero *Coffea*

Subseções	Espécies*	P.A.			
Erythrocoffea	<i>C. arabica</i> cv. Típica	100			
	<i>C. canephora</i> cv. Robusta	68	100		
	<i>C. congensis</i>	58	63	100	
	<i>C. eugenioides</i>	59	45	49	100
Pachycoffea	<i>C. liberica</i>	72	73	71	50 100
	<i>C. dewevrei</i> cv. Dewevrei	69	73	67	50 86 100
Melanocoffea	<i>C. stenophylla</i>	62	72	65	52 69 73 100
	<i>C. racemosa</i>	66	75	73	47 69 76 100
	<i>C. kapakata</i>	68	59	64	50 71 78 69 65 100
	<i>C. salvatrix</i>	30	18	27	56 25 25 20 25 100

*As espécies *C. arabica* e *C. canephora* são representadas, respectivamente, pelos cultivares Típica e Robusta

QUADRO 9.- Valores de P.A. para as espécies estudadas do género *Coffea*

Subseções	Espécies*	P.A.								
Erythrocoffea	<i>C. arabica</i> cv. Abissínica	100								
	<i>C. canephora</i> cv. Kouillou	58	100							
	<i>C. congensis</i>	48	52	100						
	<i>C. eugenioides</i>	53	50	49	100					
Pachycoffea	<i>C. liberica</i>	60	78	71	50	100				
	<i>C. dewevrei</i> cv. Dewevrei	52	75	67	50	86	100			
Melanocoffea	<i>C. stenophylla</i>	55	73	65	52	69	73	100		
	<i>C. racemosa</i>	56	73	73	47	47	76	76	100	
Mozambicoffea	<i>C. kapakata</i>	56	63	64	50	71	78	69	65	100
	<i>C. salvatrix</i>	25	22	27	56	25	25	22	20	25

*As espécies *C. arabica* e *C. canephora* são representadas pelos cultivares Abissínica e Kouillou

Os dois casos são apresentados porque, na classificação de CHEVALIER (1947), que se tem procurado seguir, com algumas modificações, o café Abissínica representa o tipo da espécie *C. arabica* e, o Kouillou, o tipo da *C. canephora*, e, assim, eles são utilizados nas comparações com as demais espécies. Entretanto, para Lineu, o autor da espécie *C. arabica*, o tipo da espécie foi a variedade *arabica*, no presente trabalho representada pelo cultivar Típica. Quanto ao Robusta, sua utilização se deve ao fato de ter sido realmente o primeiro cultivar conhecido de *C. canephora* e de ser o mais largamente difundido e de maior interesse genético dentro dessa espécie.

Os valores de P.A. obtidos variam de 18 a 86%. O cultivar Abissínica tem seu maior grau de afinidade por *C. liberica* (60%) e por *C. canephora* (58%), sendo, evidentemente, pequena a diferença entre os dois valores de P.A. A seguir, os mais altos valores de P.A. do Abissínica são aqueles relativos a *C. racemosa* e *C. kapakata* (56%), *C. stenophylla* (55%) e *C. eugenioides* (53%). Os mais baixos valores obtidos são relativos às espécies *C. dewevrei* (52%), *C. congensis* (48%) e *C. salvatrix* (25%).

A espécie *C. arabica*, usando o Típica para comparação, tem seu maior valor de P.A. em relação a *C. liberica* (72%), *C. dewevrei* (69%), *C. canephora*, *C. kapakata* (68%), *C. racemosa* (66%) e *C. stenophylla* (62%). Os mais baixos valores são os concernentes às espécies *C. eugenioides* (59%), *C. congensis* (58%) e *C. salvatrix* (30%).

Pode-se verificar que o Típica tem graus de afinidade maiores com todas as demais espécies estudadas e muito maior afinidade relativa com *C. dewevrei*. No Abissínica, todos os valores são mais baixos e menos distantes uns dos outros, havendo maior afinidade relativa por *C. eugenioides*.

O Kouillou tem, de modo geral, valores de P.A. mais altos com as demais espécies do que os encontrados para o Robusta. Todavia, os valores de P.A. entre *C. congensis*

e Kouillou ou Abissínica são bem mais baixos do que os P.A. obtidos entre essa espécie e Robusta ou Típica.

De qualquer forma, o maior valor de P.A. de *C. canephora* é aquele em relação a *C. liberica* e *C. dewevrei*. Deve-se notar apenas que o Kouillou tem maior afinidade por *C. kapakata* do que o Robusta.

A espécie *C. congensis* tem mais altos valores de P.A. em relação a *C. racemosa*, *C. liberica* e *C. dewevrei*, mas apresenta baixa afinidade com *C. arabica*.

Os valores de P.A. entre *C. liberica* e as demais espécies, principalmente com *C. dewevrei*, são altos, à exceção daqueles relativos às espécies *C. eugenioides* e *C. salvatrix*. *Coffea dewevrei* tem, em média, os melhores valores de P.A. com as demais espécies estudadas, sendo o maior valor com *C. liberica* e, a seguir, com *C. racemosa*, *C. stenophylla* e *C. canephora*, tendo baixo grau de afinidade por *C. eugenioides* e *C. salvatrix*.

Coffea stenophylla tem boa afinidade com todas as espécies, excetuando *C. eugenioides* e, notadamente, *C. salvatrix*, estando mais relacionada com *C. racemosa* e *C. dewevrei*.

Os maiores valores de P.A. apresentados pela espécie *C. racemosa* são relativos a *C. dewevrei*, *C. stenophylla* e *C. kapakata*. Em ambos os casos, os valores mais baixos dizem respeito a *C. eugenioides* e *C. salvatrix*.

A espécie *C. eugenioides* apresenta valores de P.A. médios e relativamente uniformes com todas as espécies estudadas, variando entre 45 e 59%. Seus maiores valores de P.A. são relativos ao Típica (59%), *C. salvatrix* (56%) e Abissínica (53%).

Os valores de P.A. entre *C. salvatrix* e as demais espécies são os mais baixos encontrados, sendo o maior (56%) em relação a *C. eugenioides*, variando os outros entre 30%, em relação ao Típica, e 18%, em relação a *C. canephora* cv. Robusta.

5.7. GRÁFICOS POLIGONAIS ENTRE AS ESPÉCIES ESTUDADAS

Os gráficos poligonais permitem verificar que, quanto aos dois cultivares de *C. arabica* incluídos na comparação, ambos têm relações semelhantes às demais espécies, uma vez que a forma dos polígonos é semelhante. Nota-se apenas que, no Típica, a área é maior, indicando melhores relações. (Figuras 14a-14b)

Os polígonos dos cultivares Kouillou e Robusta apresentam ligeira diferença, determinada pelo grau de afinidade em relação a *C. congensis*, e que é maior com o cv. Robusta. As áreas são praticamente equivalentes. (Figuras 14c-14d)

C. liberica e *C. dewavrei* revelam, pelas formas de seus polígonos, grande afinidade entre si e com as demais espécies, à exceção de *C. eugenioides* e *C. salvatrix*. (Figuras 15g-15h)

As áreas desses polígonos são as maiores encontradas entre as espécies, e suas formas são bastante semelhantes.

Em relação a *C. stenophylla* e *C. racemosa*, os polígonos têm formas muito semelhantes, com área maior para *C. stenophylla*. O único ponto a alterar a forma desses polígonos é o relacionamento diferente em relação a *C. eugenioides*, bem menor com *C. racemosa*. (Figuras 15i-15j)

O polígono de *C. kapakata* tem pouca semelhança com o das demais espécies. (Figura 15-1)

C. congensis tem gráfico poligonal semelhante ao de *C. canephora* cv. Robusta, embora com área levemente menor. (Figura 14e).

A espécie *C. eugenioides* apresenta um gráfico poligonal especialmente semelhante ao de *C. arabica*, diferindo num relacionamento maior com *C. salvatrix*. Quanto à área, aproxima-se mais do polígono do Abissínica do que daquele do Típica. (Figura 14f)

Apenas o gráfico poligonal correspondente à espécie *C. salvatrix* não tem qualquer semelhança com os demais.

6. DISCUSSÃO

A escolha dos frutos como material para a análise de pigmentos flavonóides decorre do fato de este trabalho se ter derivado de pesquisas em andamento nas Seções de Citologia e Genética do Instituto Agronômico, e que visam a um melhor conhecimento das variações de cor nos frutos de cafeeiros.

Em virtude de existirem menos informações sobre flavonóides em frutos, procurou-se conhecer melhor o efeito de diferentes condições às quais o material de análise é exposto a fim de haver maior controle sobre a sua variabilidade não-genética.

Para a separação de pigmentos, decidiu-se utilizar o método clássico da cromatografia em papel, uma vez que a maioria dos dados encontrados na literatura foi obtida a partir da utilização desse método, permitindo comparação direta com os resultados deste trabalho.

Devido ao grande número de classes de flavonóides existentes, procurou-se deliberadamente restringir as presentes análises a apenas algumas classes, incluindo especialmente flavonóis e flavonas. Esses compostos foram preferidos por serem de larga distribuição e menos afetados por variações ambientais e fisiológicas. Sendo a polpa do fruto material extremamente colorido, com variações em sua intensidade de cor, determinadas fundamentalmente por antocianinas, evitou-se estudar essa classe, pois pode

apresentar uma enorme gama de variações qualitativas devido ao amadurecimento e por serem dependentes de luz para sua síntese.

Em relação à síntese de flavonóis, a luz tem efeitos diferenciais, sabendo-se que alguns desses compostos independem de luz, enquanto outros são dependentes, mas afetados, ao que parece, apenas quantitativamente.

De acordo com HARBORNE & SIMONDS (1964), os compostos fenólicos, taxonomicamente, têm considerável contribuição a fazer, devido à ocorrência de compostos exclusivos a uma espécie ou a um grupo de espécies e, pelos inúmeros exemplos positivos, levando à confirmação ou alteração de certos grupos taxonômicos. A grande limitação advém, no entanto, do fato de que os dados bioquímicos são muito esparsos para serem efetivamente incorporados a um sistema de classificação que, apesar de suas deficiências, é baseado em um enorme número de observações morfológicas e individuais, cobrindo todos os grupos taxonômicos. Atualmente, esses compostos funcionam como auxiliares do taxonomista, ajudando-o em suas decisões.

Em estudos filogenéticos, segundo esses mesmos autores, a contribuição dos compostos fenólicos é muito mais valiosa, uma vez que a ocorrência de caracteres comuns em diferentes grupos indica, usualmente, afinidades genéticas entre esses grupos. Os caracteres químicos são especialmente valiosos naqueles grupos onde a sistemática convencional pode sugerir relações filogenéticas, mas é incapaz de estabelecê-las com segurança. Nesses casos, muito comum, a inclusão de um novo caráter pode possibilitar uma resolução adequada.

No presente trabalho, procurou-se, nesta primeira fase, a caracterização das espécies e cultivares de forma simples, adotando-se o critério de presença ou ausência de manchas. Este tipo de trabalho oferece informações de grande valia em estudos visando à verificação de grupamentos taxonômicos propostos e a provável afinidade entre eles. Uma segunda fase deverá ser realizada, estudando-se, não o

elemento taxonômico, mas, sim, as marchas já caracterizadas. A identificação de cada um dos compostos permitirá um estudo mais detalhado sobre a evolução das espécies, bem como do controle genético da síntese desses compostos.

6.1. RELAÇÕES ENTRE CULTIVARES DE *COFFEA ARABICA*

Os valores de P.A. obtidos, referentes aos cultivares de *C. arabica*, apresentam uma grande variação, de 66 até 96%, o que confirma a grande variabilidade descrita na espécie. Tais valores permitem verificar a individualidade de cada cultivar e a correção de sua identidade botânica, não havendo entre eles nenhum caso com 100% de afinidade.

As comparações feitas, tomadas de forma relativa, permitem que se tirem conclusões sobre os cultivares estudados. É evidente que uma ligação entre a evolução ou seleção de cada cultivar somente poderá ser completada com a identificação dos componentes, bem como a seqüência que se seguiu na sua formação.

Alguns dos cultivares, embora bem caracterizados, não têm origem definitivamente estabelecida. O Bourbon Vermelho, por exemplo, apresenta, em geral, baixa afinidade com os demais cultivares, especialmente com os semi-silvestres. Esse fato parece indicar que, pelo menos bioquimicamente, tal cultivar, provavelmente oriundo da ilha de Reunião, evoluiu divergentemente dos demais. A alta afinidade entre Mokka e Bourbon Vermelho parece apoiar a hipótese de KRUG & MENDES (1943), de que Bourbon Vermelho teria se originado do Mokka. O cv. Caturra Vermelho, que parece ter-se originado por mutação simples do Bourbon Vermelho, apresenta baixas afinidades com todos os demais cultivares e apenas razoável afinidade com o Bourbon Vermelho. Este fato indica que, apesar de o Caturra Vermelho ser portador dos alelos tt em comum com o Bourbon Vermelho, tem também uma constituição diferente ou que, talvez o próprio alelo Ct (*caturra*) possa ser responsável pelas diferenças notadas.

A boa afinidade dos cultivares Mundo Novo, Bourbon Amarelo e Caturra Amarelo, entre si e com todos os demais, parece indicar que têm origem diferente do Bourbon Vermelho e do Caturra Vermelho. Realmente, o Mundo Novo e o Bourbon Amarelo são produtos de recombinação, no primeiro caso, do híbrido natural entre Bourbon Vermelho e Sumatra e, no segundo, do híbrido natural entre Bourbon Vermelho e Amarelo de Botucatu. Quanto ao Caturra Amarelo, embora tenha sido considerado mutação do Caturra Vermelho, os resultados das análises bioquímicas sugerem que parece mais provável ser ele também um produto de recombinação, nesse caso entre o Caturra Vermelho e o Bourbon Amarelo.

A grande afinidade entre o Laurina e o Mokka confirma os dados da análise genética que indicam terem tais cultivares os alelos *lr* em comum. Além disso, enquanto o Laurina apresenta o alelo *mo* na condição dominante (*lr lr Mo Mo*), o Mokka os apresenta na condição recessiva (*lr lr mo mo*). Há, ainda, a considerar que plantas de constituição *Lr Lr mo mo* têm porte maior, porém os frutos e sementes se assemelham aos do Mokka.

Os cultivares com prefixo BA, como BA I até BA 36, foram selecionados na Índia, na Estação Experimental de *Balehonnur*, e devem, originalmente, provir de hibridações interespecíficas entre *Coffea arabica* e *Coffea liberica* (NARASIMHASWAMY, 1961). Apesar disso, a afinidade entre o BA 10 e a amostra de *C. liberica* estudada não foi das mais elevadas. Assim, a afinidade entre o BA 10 e *C. liberica*, de 65%, revelou-se menor do que a afinidade entre essa espécie e o Típica, que foi de 72%.

O X 321, da Tanzânia, e o K 7 de Quênia, apresentam excelente afinidade, indicando provável origem comum. Todavia, o K 7 parece ter sido selecionado do cultivar French Mission (JONES, 1957) e o X 321 foi selecionado do antigo cultivar Kents, em uma plantação localizada em Uru, distrito de Quilimanjaro, Tanzânia (FERNIE, 1964). Entretanto, essa origem vem sendo questionada de diferente ponto de vista. Sendo o K 7 portador do gene SH_2 para resis-

tência à ferrugem alaranjada (*Hemileia vastatrix*), é difícil imaginar que tenha se originado do French Mission, onde apenas o fator SH₅ é encontrado. Por esse motivo, é provável que o K 7 seja originário da seleção do Kents ou, pelo menos, do cruzamento entre esse cultivar e o French Mission. Os dados bioquímicos confirmam a participação do Kents na sua formação.

Comparações feitas entre os vários cultivares e as introduções semi-silvestres da Etiópia, revelam diferenças interessantes. Pelos valores de P.A. obtidos, verifica-se que o Geisha apresenta as mais altas relações com todos os demais, enquanto o Abissínica e o Cioiccie têm as mais baixas afinidades com todos. Esse fato poderia sugerir que os demais cultivares ter-se-iam originado de tipos mais semelhantes ao Geisha do que ao Cioiccie e Tafari Kela. Como, porém, as análises foram feitas em frutos das poucas plantas existentes na coleção de Campinas, torna-se difícil qualquer generalização. Além disso, verifica-se que, em relação ao tipo Geisha, as informações são particularmente escassas.

Segundo SYLVAIN (1955), os cafés Ennaria, Jimma ou Kaffa, Agaro, Cioiccie, Irgalem, Dilla, Tafari Kela, Arba Gougou, Harar, Zeghie, Loulo, Wolkitte e Wollamo, são os principais tipos encontrados na Etiópia. Os cultivares semi-silvestres analisados são dos tipos Cioiccie Tafari Kela, ao qual pertence o Abissínica, e Geisha, ao qual SYLVAIN (1955) nenhuma referência faz.

De acordo com esse autor, o termo "café selvagem" ou "semi-silvestre" é usado indiscriminadamente na Etiópia, acarretando sérias dúvidas, já que, às vezes, é praticamente impossível distinguir velhas plantações, de há muito abandonadas, de cafeeiros que crescem espontaneamente. Richards, citado por SYLVAIN (1955), com base na análise dos achados das Missões Lefebvre, Petit e Quartier Dillon, as primeiras a fazer pesquisas botânicas na Etiópia há mais de um século, relata que, a esse tempo, o café já era largamente cultivado no distrito de Kaffa. Esse fato, segundo

SYLVAIN (1955), parece indicar que grande parte do café etíope não é selvagem no sentido biológico, mas são velhas plantações ou plantas que escaparam ao cultivo. Ciferri, também citado por SYLVAIN (1955), acha que as plantas consideradas selvagens provieram de cafeeiros que escaparam ao cultivo, porque "o café não é um componente de florestas primárias, mas somente de florestas secundárias, crescendo em condições desfavoráveis devido à derrubada de árvores para outros cultivos e outras explorações". Em conclusão, SYLVAIN (1955) afirma não haver dúvida de que o termo "café selvagem" é usado muito livremente, mas o fato de existirem velhas plantações, que escaparam ao cultivo, não elimina a possibilidade da existência de formações espontâneas. O fato de o café ser encontrado muitas vezes em associação com o crescimento secundário da floresta pode bem ser devido ao costume existente em alguns lugares, como em Kaffa, de remover parte ou toda a copa das árvores, na suposição de que isso aumenta a produção. Tal prática teria resultado na remoção do crescimento primário, que teria sido substituído pelo crescimento secundário.

Um estudo minucioso das florestas originais da Etiópia possivelmente revelaria a existência de café, ainda que em pequeno número. Os fatos relatados e a falta de dados históricos impossibilitam indicar qual dos cultivares hoje chamados semi-silvestres é realmente selvagem. Os dados existentes permitem, de acordo com esses autores, afirmar que a Etiópia, em particular a província de Kaffa, parece ser o centro de origem ou de diversificação de *Coffea arabica*, e que a Arábia foi o primeiro país a cultivar tal espécie.

Os dados bioquímicos quando analisados não possibilitam chegar a qualquer conclusão sobre o cultivar mais primitivo. Todavia, é de ressaltar que o Geisha apresenta maior número de manchas comuns a todos os cultivares, o que poderia indicar que muitas das seleções estudadas se ligam remotamente à região montanhosa do Sul da Etiópia, onde é encontrado esse cultivar.

O aparecimento de maior número de compostos amarelos nos cromatogramas dos cultivares Geisha, Abissínica e Cioiccie, tidos como semi-silvestres, e a constatação de que parecem pertencer à mesma classe dos compostos amarelos presentes na *C. eugenioides*, podem indicar a existência de relações particulares entre essa espécie e *C. arabica*.

Embora os cultivares Mokka e Laurina tenham maiores semelhanças morfológicas com a espécie *C. eugenioides*, os valores de P.A. entre esses cultivares e *C. eugenioides* são praticamente iguais aos valores de P.A. entre Típica e essa espécie, indicando que não devem ser mais próximas a ela.

Os gráficos poligonais correspondentes aos cultivares estudados (figuras 16, 17 e 18) mostram extrema semelhança de forma. Isso seria esperado de cultivares de uma mesma espécie, e serve para provar a validade do método utilizado. As áreas menores dos polígonos do Abissínica, Cioiccie e Bourbon Vermelho comprovam as menores afinidades desses cultivares com os demais.

É notável a variação intra-específica observada em *C. arabica*, espécie autofértil, com valores de P.A. de 66 a 96% e, portanto, com valores menores do que alguns obtidos entre essa e outras espécies. Infelizmente, não se pode afirmar que variabilidade dessa natureza não possa ser também encontrada nas demais espécies de *Coffea*. Os dados obtidos, como já se disse, referem-se a apenas alguns cultivares dessas espécies existentes na coleção, material considerado insuficiente para maiores generalizações. Como tais cultivares foram colhidos na coleção, é possível que os descendentes reflitam cruzamentos entre eles, influenciando no resultado das análises.

6.2. RELAÇÕES ENTRE CULTIVARES DE *COFFEA CANEPHORA* E DE *COFFEA DEWEVREI*

Os dados obtidos nas análises dos cultivares de

C. canephora e *C. dewevrei*, apresentados nos quadros 4 e 6, mostram que os valores de P.A. alcançados foram sempre altos, todos de 80% para cima.

Comparando-se tais valores com aqueles de *C. canephora* e *C. dewevrei* com todas as espécies, verifica-se que a variação intra-específica é menor que a interespecífica, como seria de esperar. A única exceção é o valor de P.A. encontrado entre *C. liberica* e *C. dewevrei* (86%), que se situa acima dos valores intra-específicos. Esse fato reforça a suposição de que tais espécies sejam muito relacionadas, como, aliás, tem sido constantemente indicado pelos especialistas em sistemática (CHEVALIER, 1947, LEBRUN, 1941) e pelos estudos citogenéticos (RHOADES, dados não-publicados; MEDINA, comunicação pessoal, e CARVALHO & MONACO, 1968).

6.3. RELAÇÕES ENTRE AS ESPÉCIES ESTUDADAS

Pelo exame à luz U.V., após exposição a vapores de amônia, dos cromatogramas obtidos, referentes às espécies estudadas, visualiza-se grande número de compostos flavonóides, fluorescentes ou não, de cores diferentes e concentrações variáveis. Esse fato vem comprovar a viabilidade de estudos sobre esses pigmentos ou compostos fenólicos em geral, no gênero *Coffea*. O exame comparativo dos cromatogramas das diferentes espécies mostra um padrão característico a cada uma, de tal forma que se torna possível identificar a espécie pelo cromatograma. Para certas espécies, essa identificação não é fácil, mas, para outras, a verificação é imediata. Para as espécies onde predominam os compostos azuis, roxos e cinzas, a identificação é mais difícil. O padrão dos cromatogramas é bastante semelhante para esse grupo de compostos, mas em quase todas as espécies ocorrem alguns compostos que funcionam como seus marcadores característicos. Uma apenas, *C. stenophylla*, não tem marcador específico, mas é facilmente identificada pelo pequeno número de manchas encontradas nos cromatogramas.

Nas duas espécies onde predominam os compostos amarelos e castanho-avermelhados, *C. salvatrix* e *C. eugenioides*, a identificação é simples e não deixa dúvidas quanto à sua caracterização. Mesmo entre elas, a distinção é fácil devido ao maior número de compostos amarelos em *C. salvatrix*.

A análise cromatográfica de material de plantas de *C. kapakata* permitiu verificar que duas das plantas analisadas eram na realidade híbridas entre *C. kapakata* e *C. eugenioides*. Os cromatogramas obtidos apresentavam os compostos de ambas. Morfologicamente, as plantas correspondiam às de *C. kapakata*.

Esses fatos indicam possível utilidade, ainda que secundária, dos compostos em estudo, mas, principalmente, indicam diferenças bem características em relação a tais compostos, que permitem agrupar as espécies estudadas de acordo com os dados bioquímicos. De maneira geral, todas as espécies, com exceção de *C. salvatrix* e *C. eugenioides*, apresentam características que permitem considerá-las como um único grupo. Por outro lado, *C. salvatrix* fica em posição isolada, com *C. eugenioides* ocupando posição intermediária entre o primeiro grupo e *C. salvatrix*, pois essa espécie apresenta muitos compostos comuns ao primeiro grupo e, outros, à espécie do segundo grupo.

É evidente que os dados são insuficientes, mas servem para revelar uma afinidade maior entre *C. eugenioides* e *C. salvatrix*. Enquanto os cromatogramas de *C. salvatrix* diferem extremamente daqueles de outras espécies, pelo grande número de compostos de cor amarela e castanho-avermelhada, compostos esses com baixos e médios valores de Rf em B.A.W., verifica-se que nos cromatogramas de *C. eugenioides* também há a ocorrência predominante desse tipo de compostos. Certas manchas de intensa cor amarelo-dourada (as de números 30, 33, 38 e 39), encontradas em *C. salvatrix*, ocorrem também em *C. eugenioides*. Segundo tabelas de cor de pigmentos apresentadas por SEIKEL (1962), a partir do trabalho de numerosos autores, e conforme tabela de reações

de cor de flavonóides apresentada por VENKATARAMAN (1962), esses compostos amarelos parecem ser principalmente flavonas, flavonóis e diidroxiflavonóis. O fato de certos compostos terem dado reações características que parecem indicar que se tratam de diidroxiflavonóis, é surpreendente, uma vez que, conforme HARBORNE (1967), eles são um passo intermediário na síntese de flavonóis ou dos flavonóides maiores em geral, e são encontrados usualmente apenas em traços.

As manchas de números 30, 38, 39, 61, 62 e 67, todas de *C. salvatrix* e três delas também de *C. eugenioides*, deram cor avermelhada em reação com ácido sulfúrico concentrado, e amarelo pálido em reação com solução aquosa de NaOH. Tais resultados são específicos da classe de diidroxiflavonóis. Outras manchas, 29, 33, 56 e 63, presentes em *C. salvatrix*, em *C. eugenioides* ou em ambas, deram cor amarela e amarela intensa com os mesmos reagentes, respectivamente, reações essas características de flavonas.

Parece interessante ressaltar que HARBORNE (1967) considera que a presença predominante de flavonóis indica que as espécies onde isso ocorre são menos evoluídas. Em folhas, já foi estabelecida essa tendência inquestionável da substituição de flavonóis por flavonas, no sentido dos grupos menos evoluídos para os mais evoluídos. *C. eugenioides* foi considerada por CHEVALIER (1947) como espécie muito antiga. A aparente predominância de flavonóis e a significativa presença de diidroxiflavonóis parecem indicar que se trata realmente de espécie menos evoluída, assim como, também, *C. salvatrix*.

Embora seja perfeitamente possível que muitas outras manchas comuns a muitas espécies sejam compostos dessas mesmas classes, é significativo que alguns compostos muito exclusivos a *C. salvatrix* também ocorram em *C. eugenioides* e apenas em *C. eugenioides*.

C. eugenioides é encontrada no Congo Ruanda, Quênia, Uganda, Tanzânia e Malawi, região que se limita, ao norte, com a Etiópia e o Sudão, e ao sul com Zâmbia, Angola

e Moçambique, sendo o *habitat* dessa espécie as densas florestas de montanhas a altitudes de 1600 a 3000 metros. Por sua vez, *C. salvatrix* está limitada à região sul de Moçambique, nas montanhas de Sigatonga. Uma vez que Malawi constitui uma estreita faixa de terra, penetrando através de Moçambique, é provável que tais espécies ocupem áreas bem próximas em algumas regiões desses países, o que teria favorecido hibridações esporádicas entre as suas formas. Pode-se supor também que a própria *C. eugenoides* seja derivada de cruzamentos naturais onde *C. salvatrix* poderia ter participado como um dos pais.

Quanto à espécie *C. arabica*, muitas manchas comuns às diferentes espécies ocorrem igualmente nos cv. Típica e Abissínica. *C. arabica* cv. Típica tem algumas manchas comuns *C. liberica*, *C. dewevrei*, *C. racemosa* e *C. canephora*, as quais não ocorrem em Abissínica. Algumas manchas amarelas existentes em Abissínica parecem pertencer à mesma classe de compostos daqueles testados em *C. eugenoides* e *C. salvatrix*, uma vez que deram cor avermelhada em reação com ácido sulfúrico concentrado, tendo também baixos valores de Rf em B.A.W. Duas manchas amarelas encontradas nesses dois cultivares de *C. arabica* são comuns exclusivamente a *Coffea eugenoides* e *C. salvatrix*.

Esses resultados deixam constatar a existência de relações especiais entre *C. arabica* e *C. eugenoides*, com manchas azuis e amarelas em comum e tipos de compostos em comum, e parecem reforçar as suposições de CRAMER (1957), de CARVALHO & MONACO (1968), de NARASIMHASWAMY & VISHVESHWARA (1961) e outros, de que *C. eugenoides* tenha participado da formação de *C. arabica*.

Para o pequeno número de compostos das classes estudadas, que ocorrem na espécie *C. stenophylla*, não se encontra explicação. Pelo fato de essa espécie ter frutos pretos, quando maduros, poder-se-ia pensar que alguns compostos presentes já estariam oxidados e não seriam detectados na análise. Essa suposição, porém, não se ajusta às outras duas espécies de frutos maduros com cor preta,

C. racemosa e *C. salvatrix*, que apresentam um número maior de compostos.

6.4. RELAÇÕES FILOGENÉTICAS ESTABELECIDAS PELO MÉTODO DO ÍNDICE DE AFINIDADE PAREADA (P.A.)

Segundo TAYLOR & CAMPBELL (1969), ao se utilizar o método do índice de afinidade pareada, torna-se necessário fazer duas suposições. Na primeira, deve-se admitir que todos os caracteres detectados sejam de igual valor, considerando-se somente a presença ou ausência de um pigmento. Distinguições quantitativas não são consideradas, mesmo quando forem facilmente evidentes. Isso sucedeu com *C. racemosa*, que revelou ter baixa concentração de pigmentos, tornando-se preciso efetuar extrações de um número maior de polpas, a fim de obter boa visualização das manchas nos cromatogramas, e com *C. salvatrix*, onde as manchas de números 30, 33, 38 e 39, revelaram alta concentração, indicada pelo diâmetro da mancha e intensidade da cor.

A segunda suposição necessária seria que a presença de qualquer pigmento em duas ou mais espécies implica em similaridade genética. Uma similaridade seria a ocorrência de um mesmo pigmento em duas espécies consideradas, e uma dissimilaridade seria a ocorrência de um pigmento em uma espécie e não na outra.

A partir dessas suposições, foi construída a fórmula utilizada na obtenção dos valores de P.A., cuja observação permite verificar que um valor de P.A. considerado alto para uma espécie pode ser menos significativo para a outra envolvida no par, dependendo dos seus valores em relação às demais. Do mesmo modo, como lembra ELLISON *et al.* (1962), o fato de duas espécies terem um valor de P.A. semelhante em relação a uma terceira espécie não significa que elas terão um alto valor de P.A. entre si, pois ambas podem diferir em relação à terceira espécie, possuindo, independentemente, compostos diferentes, como, por exemplo,

é o caso entre *C. canephora* cv. Robusta e *C. kapakata* e as relações delas com *C. liberica*.

Quando se procurou utilizar material de plantas de uma só localidade, crescendo sob condições relativamente uniformes e polpas num estágio equivalente de desenvolvimento, teve-se por objetivo reduzir os efeitos ontogenéticos e do meio sobre a síntese de pigmentos, embora sejam conhecidas as afirmações de Alston (citado por TAYLOR & CAMPBELL, 1969) e de HARBORNE (1967) sobre a notável estabilidade dos pigmentos flavonóides no tocante a diferentes condições fisiológicas e do meio ambiente.

Os valores de P.A. obtidos para Típica e Abissínica revelam que, proporcionalmente, Abissínica tem melhor relação com *C. eugenioides* do que o cv. Típica. Disso, pode-se supor que, por ser Abissínica de recente introdução no Brasil, provindo diretamente da Etiópia, representa melhor os cafés desse país. Por outro lado, o fato de Típica ter apresentado em geral melhor relacionamento com todas as espécies, como se pode verificar pelos valores de P.A. e pela área do gráfico poligonal correspondente (figura 14 b), parece demonstrar que esse cultivar representa melhor a variabilidade da espécie. Seria necessário ressaltar a existência de formas semelhantes ao Típica, na Etiópia, portadoras do fator T e que poderão oferecer resultados interessantes no futuro. Provas mais concludentes são difíceis de serem obtidas, uma vez que os dados incluem poucos representantes dessas populações. Seria preciso efetuar a análise de uma amostra bem maior dentro do Típica e dos vários cafés etíopes conhecidos, oriundos de diferentes áreas.

A comparação de *C. eugenioides* com os outros dois cultivares etíopes semi-silvestres indicou haver maior afinidade sua com o Geisha. Isso parece revelar ser esse tipo mais representativo do café Arábica selvagem, do que o Abissínica.

A maior afinidade da *C. arabica* com *C. liberica*

parece sugerir maior participação de sa espécie na formação de *C. arabica*, única espécie tetraplóide.

Em geral, *C. arabica* apresenta mais alta afinidade com as espécies da subseção *Pachycoffea* e com as espécies da subseção *Mozambiccoffea*, excetuando *C. salvatrix*. Das espécies da subseção a que pertence, isto é, *Erythrocoffea*, tem alta afinidade apenas com *C. canephora*.

Foram supreendentemente altos os valores de P.A. referentes a *C. liberica* e *C. dewevrei*, indicando grande afinidade de ambas com as demais espécies do gênero, à exceção da *C. eugenioides* e *C. salvatrix*.

C. liberica e *C. dewevrei* são bem relacionadas com *C. stenophylla* da subseção *Pachycoffea*, mas, em geral, são mais altos os valores de P.A. de *C. liberica* com as espécies da subseção *Erythrocoffea*, enquanto *C. dewevrei* tem maior afinidade com as espécies da subseção *Mozambiccoffea*. Entre *C. liberica* e *C. dewevrei* foi obtido o mais alto grau de afinidade (86%). Embora o valor de P.A. não tenha indicado uma igualdade absoluta (100%), isso não invalida a opinião de certos autores (LEBRUN, 1941, e LEON, 1962) de que elas sejam uma só espécie, uma vez que, mesmo entre os cultivares estudados de uma única espécie, nunca foi encontrado um valor de P.A. igual a 100. Por outro lado, o fato de, nas afinidades com outras espécies mostrarem relações em sentidos opostos, vem apoiar a idéia de que realmente são espécies diferentes, como considera CHEVALIER (1947).

Os valores de P.A. obtidos em relação a *C. stenophylla* mostram que, embora tenha boa afinidade com as espécies da subseção *Pachycoffea*, tem também excelente afinidade com *C. racemosa* e mesmo com *C. kapakata*, ambas da subseção *Mozambiccoffea*, e com *C. canephora*, da subseção *Erythrocoffea*. Esses resultados e o bom relacionamento da *C. stenophylla* com as demais, excetuando *C. eugenioides* e *C. salvatrix*, talvez possam ser explicados apenas pelo fato de *C. stenophylla* ser uma espécie pouco diferenciada no que se refere aos pigmentos estudados que, além de poucos, são dos mais frequentes à maioria das espécies.

A espécie *C. racemosa*, embora seja a única a ocupar uma área geograficamente próxima à de *C. salvatrix*, apresenta baixíssima afinidade com ela, sendo ambas, na realidade, morfologicamente muito diferentes e ecologicamente bem separadas.

Os valores de P.A. obtidos em relação à *C. kapakata*, mais altos do que os de várias espécies aqui incluídas, indicam estar bem colocada dentro do gênero *Coffea*, embora não seja conhecida a grandeza dos valores de P.A. entre outras espécies pertencentes a gêneros diferentes da subtribo *Coffeinae*. Segundo CHEVALIER (1947), esta única espécie compõe o gênero *Psilanthopsis*. Os mais altos graus de afinidade de *C. kapakata* são relativos às espécies das subseções *Pachycoffea* e *Melanocoffea*.

A espécie *C. canephora* apresenta, em geral, maior afinidade com as espécies da subseção *Pachycoffea*, *Melanocoffea* e com *C. racemosa*, da subseção *Mozambicoffea*, do que com as espécies de sua subseção. Há também um bom relacionamento com *C. arabica*, somente inferior ao dessa espécie com a *C. liberica*. A pequena diferença entre os valores de P.A. de *C. arabica* com as espécies *C. liberica* e *C. canephora* torna difícil sugerir qual delas possa realmente ter participado da formação de *C. arabica*.

Os P.A. referentes à espécie *C. congensis* indicam afinidades relativamente mais baixas com as demais espécies. Está mais bem relacionada com as espécies das demais subseções do que com aquelas de sua própria subseção. Embora os valores de P.A. em relação aos cultivares Kouillou e Robusta de *C. canephora* sejam baixos, o gráfico poligonal de *C. congensis* (figura 14-e) tem forma muito semelhante ao de *C. canephora*, particularmente ao do cv. Robusta (figura 14-d), podendo tal fato significar alta afinidade entre essas espécies. Isso poderia ser devido, em parte, a ambas serem procedentes da coleção do Horto Florestal de Rio Claro, podendo ter havido, durante o longo tempo que aí estiveram, cruzamento entre as plantas que lhes deram origem.

Quanto à espécie *C. eugenioides*, todos os seus P.A. apresentam valores médios, variando dentro de limites estreitos (47 a 59%), sendo mais bem relacionada *C. arabica* e *C. salvatrix*.

A maior afinidade de *C. eugenioides* com *C. arabica* favorece a suposição apresentada por vários autores, da sua participação na origem da espécie tetraplóide *C. arabica*. A discussão dos cromatogramas, já apresentada, chamando a atenção para determinadas manchas e grupos de compostos comuns a essas duas espécies, reforça ainda mais essa hipótese.

Os mais baixos valores de P.A. foram obtidos em relação à espécie *C. salvatrix*, demonstrando sua pequena afinidade bioquímica com as demais, fato evidente pelo simples exame do cromatograma.

O resultado da comparação dos gráficos poligonais referentes às espécies (figuras 14 e 15) permite verificar que elas formam grupos mais bem relacionados, quase sempre duas a duas e três a três. Apenas o gráfico correspondente à *C. salvatrix* (figura 15-m) não tem qualquer semelhança com nenhum dos demais.

Com a intenção de determinar as espécies que têm melhor relacionamento com as demais, procurou-se determinar o índice numérico de grupo ou grupos de afinidade (G. A.), somando-se todos os índices de P.A. de cada espécie (ELLISON *et al.*, 1962). Uma vez que foram analisadas dez espécies, o valor máximo que se poderia obter seria 1000, se acontecesse de uma espécie ter 100% de afinidade por todas as outras, e o menor valor seria 100, se ela tivesse 0% de afinidade com as demais espécies.

Os resultados obtidos quando o cv, Típica e o cv. Robusta representaram, respectivamente, *C. arabica* e *C. canephora*, foram os seguintes:

1. <i>Coffea dewevrei</i>	597
2. <i>Coffea liberica</i>	586
3. <i>Coffea stenophylla</i>	560
4. <i>Coffea arabica</i> cv. Típica....	552
5. <i>Coffea kapakata</i>	549
6. <i>Coffea racemosa</i>	547
7. <i>Coffea canephora</i> cv. Robusta..	546
8. <i>Coffea congensis</i>	537
9. <i>Coffea eugenioides</i>	458
10. <i>Coffea salvatrix</i>	248

Quando o cv. Abissínica e o cv. Kouillou representaram, respectivamente, *C. arabica* e *C. canephora*, obtiveram-se os seguintes resultados:

1. <i>Coffea dewevrei</i>	583
2. <i>Coffea liberica</i>	579
3. <i>Coffea stenophylla</i>	554
4. <i>Coffea canephora</i> cv. Kouillou	544
5. <i>Coffea kapakata</i>	541
6. <i>Coffea racemosa</i>	535
7. <i>Coffea congensis</i>	516
8. <i>Coffea arabica</i> cv. Abissínica	463
9. <i>Coffea eugenioides</i>	457
10. <i>Coffea salvatrix</i>	247

A simples variação dos padrões das espécies *C. arabica* e *C. canephora* resultam em diferentes valores totais de afinidades, o que indica claramente que há necessidade de efetuar número muito maior de observações em diferentes representantes de todas as espécies.

Pode-se verificar que os mais altos valores foram

sempre os alcançados por *C. dewevrei* e *C. liberica*, e o mais baixo foi o de *C. salvatrix*. Como também já havia sido mencionado, fica claro que os resultados obtidos com *C. arabica* cv. Típica e *C. canephora* cv. Kouillou mostram relacionamentos melhores, em geral, do que *C. arabica* cv. Abissínicica e *C. canephora* cv. Robusta.

Segundo TAYLOR & CAMPBELL (1969), para determinar a espécie mais primitiva, deve-se procurar aquela que apresenta os caracteres mais freqüentes às demais espécies do mesmo grupo taxonômico e, por conseguinte, menos caracteres exclusivos. De acordo com esse conceito, *C. dewevrei* e *C. liberica* ocupam essa posição básica, fato que justificaria a melhor afinidade delas com as demais espécies. Esse conceito viria, no entanto, contradizer a suposição de ser *C. eugenioides* e *C. salvatrix* as mais primitivas com base nas afirmações de HARBORNE (1967), quanto à maior primitividade indicada pela predominância de certos tipos de compostos (flavonóis e diidroxiflavonóis).

Os valores de P.A. calculados para as subseções pelo mesmo método utilizado entre espécies, mostraram maior afinidade entre Pachycoffea e Melanocoffea, e, menor, entre Erythrocoffea e Melanocoffea.

Subseções	Valores de P.A. entre subseções			
Erythrocoffea	100			
Pachycoffea	66	100		
Melanocoffea	49	72	100	
Mozambicoffea	64	65	50	100

Os dados de P.A. e os gráficos poligonais demonstraram que o gênero *Coffea*, pelo menos em relação às dez espécies estudadas, parece ser um gênero uniforme, visto que a variação observada é bem menor do que a encontrada em estudos correspondentes efetuados no gênero *Bahia* (ELLISON *et al.* 1962), em *Cattleia* e *Laelia* (TOSELLO, 1969), em

Aquilegia (TAYLOR & CAMPBELL, 1969) e em *Baptisia* (ALSTON *et al.*, 1962, 1963).

Os valores de P.A. entre as espécies componentes de uma mesma subseção não foram os maiores conseguidos por essas espécies que, na maioria das vezes, mostraram maior relacionamento com espécies de outra subseção. Esse fato indica a necessidade de uma revisão na classificação proposta por CHEVALIER (1947), a qual deu grande ênfase à característica dos frutos e da distribuição geográfica.

6.5. COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS DAS ANÁLISES DE FLAVONÓIDES, DAS HIBRIDAÇÕES INTERESPECÍFICAS E DO PAREAMENTO CROMOSSÔMICO DE ALGUNS DESSES HÍBRIDOS.

CARVALHO & MONACO (1968), nas hibridações realizadas entre as dez espécies de café existentes na coleção de Campinas, obtiveram excelente percentagem de pegamento no cruzamento entre *C. dewevrei* e *C. stenophylla*, esta da subseção *Melanocoffea*, e sugerem a introdução dessa espécie na subseção *Pachycoffea*, à qual pertencem *C. dewevrei* e *C. liberica*. Há também referências sobre um híbrido natural *C. stenophylla* x *C. dewevrei* existindo em Java (FERWEDA, 1948, e CRAMER, 1957). Na análise, porém, do pareamento cromossômico do híbrido entre essas duas espécies, Medina (comunicação verbal) encontrou cerca de 50% de células com onze bivalentes, indicando não haver grande homologia entre os cromossomos dessas espécies.

Os dados das análises bioquímicas, por sua vez, indicam boa afinidade entre *C. stenophylla* e as espécies *C. dewevrei* e *C. liberica*, tendo-se verificado que as subseções melhor relacionadas são exatamente *Melanocoffea* e *Pachycoffea*.

A maior afinidade entre *C. stenophylla* e *C. canephora*, determinada pela análise dos flavonóides, é também parcialmente comprovada pelos dados de hibridações, pois,

embora tenham dado pequeno pegamento, foram os únicos cruzamentos a ter êxito, dos efetuados entre *C. stenophylla* e as espécies da subseção *Erythrocoffea*.

A boa porcentagem de pegamento obtida por CARVALHO & MONACO (1968), nas hibridações entre as espécies *C. canephora* e *C. eugenioides*, *C. canephora* e *C. kapakata* e entre *C. liberica* e *C. eugenioides* discorda dos dados bioquímicos onde as relações entre essas espécies envolvidas não são as mais altas encontradas. Deve-se lembrar que, em relação aos compostos analisados, *C. eugenioides* é bem diferente das demais com valores médios de P.A. em relação a todos.

Quanto aos dados de pegamento entre *C. arabica* e as demais espécies, os resultados obtidos por CARVALHO & MONACO (1968) foram sempre muito baixos (mais altos nos híbridos *C. arabica* x *C. kapakata* e *C. canephora* x *C. salvatrix**) uma vez que, sendo *C. arabica* a única espécie tetraplóide e sendo todas as demais diplóides, os híbridos produzidos são triplóides e, portanto, altamente estéreis. Por conseguinte, esses resultados não indicam as verdadeiras relações que possam existir. Dos poucos híbridos obtidos, aqueles envolvendo *C. arabica* com as espécies *C. racemosa*, *C. kapakata*, *C. eugenioides* e *C. canephora* são vigorosos, podendo apresentar boa frutificação, principalmente com retrocruzamentos, mas os referentes a *C. dewevrei*, *C. liberica*, *C. congensis*, *C. stenophylla* e *C. salvatrix* são quase completamente estéreis.

Híbridos interespecíficos naturais entre *C. liberica* e *C. arabica*, chamados Kalimas e Kawisari, foram encontrados em Java e considerados comercialmente importantes; foi também constatada, nessa região, a presença do híbrido

*Todos os resultados de hibridações envolvendo a espécie *C. salvatrix* foram fornecidos pelo Dr. L. C. Monaco, constituindo dados não-publicados.

Bogor Prada, resultante do cruzamento natural entre *C. arabica* e *C. canephora*. O híbrido do Timor aparentemente é originário de um cruzamento entre essas duas espécies (BETTENCOURT, 1972).

A análise citológica de um híbrido natural triploide *C. arabica* x *C. kapakata* (MONACO & MEDINA, 1965) permitiu verificar a ocorrência de maior pareamento nesse híbrido, considerando-se trivalentes + bivalentes, do que no híbrido natural *C. racemosa* x *C. arabica* (MEDINA, 1963) e em outro híbrido natural *C. canephora* x *C. arabica* (KRUG & MENDES, 1941).

Realmente, os dados de P.A. para *C. arabica*, embora altos, em geral, mostram melhores resultados em relação a *C. kapakata*, *C. canephora* e *C. racemosa* do que em relação a *C. congensis*, *C. stenophylla* e *C. salvatrix*. Os resultados contraditórios, porém, são os referentes a *C. liberica* e *C. dewevrei*, ambas com alta afinidade por *C. arabica*, de acordo com a análise de pigmentos.

As observações dos cromatogramas de *C. eugenioides* e de *C. salvatrix* e os valores de P.A. conduzindo à conclusão sobre a maior afinidade de *C. salvatrix* por *C. eugenioides*, são bem comprovadas pelos resultados de hibridações, onde CARVALHO E MONACO (1968) obtiveram a mais alta porcentagem de pegamento nos cruzamentos de *C. salvatrix*, com relação a *C. eugenioides*. Medina (comunicação pessoal) considera também haver uma boa homologia entre os cromossomos dessas espécies, baseada no bom pareamento observado (70% de células com onze bivalentes) entre os cromossomos do híbrido *C. salvatrix* x *C. eugenioides*, resultado esse inferior apenas ao encontrado no híbrido *C. liberica* x *C. dewevrei*.

A possibilidade de sucesso entre hibridações de *C. racemosa* com *C. arabica*, *C. canephora* e *C. congensis* verificada por CARVALHO & MONACO (1968), encontra apoio na boa afinidade determinada entre essas espécies pelos valores de P.A.

Entre as espécies das subseções *Erythrocoffea* e *Pachycoffea*, CARVALHO & MONACO (1968) obtiveram melhor pegamento nas hibridações de *C. liberica* por *C. eugenioides* e *C. dewevrei* por *C. eugenioides*. As hibridações de *C. canephora* por *C. dewevrei* e *C. congensis* por *C. dewevrei* tiveram êxito pouco maior do que as de *C. liberica* por *C. canephora* e *C. congensis*. Nos dois primeiros casos, como já foi discutido, todos os P.A. envolvendo *C. eugenioides* são apenas de valores médios com todas as espécies, mas nos casos seguintes, confirma-se a excelente afinidade das espécies *C. canephora* e *C. congensis* pelas espécies *C. liberica* e *C. dewevrei*, maior, porém, com *C. liberica* do que com *C. dewevrei*, segundo os dados das análises de flavonóides.

Outros híbridos artificiais obtidos entre *C. liberica* e *C. canephora* e entre *C. congensis* e *C. liberica*, na Índia por NARASIMHASWAMY & VISAVESHWARA (1961) e na Indonésia, são vigorosos e relativamente férteis.

As observações de Medina (comunicação pessoal) sobre pareamento em híbridos interespecíficos, mostram resultados médios quanto a bivalentes encontrados nos híbridos *C. liberica* x *C. eugenioides* e *C. dewevrei* x *C. eugenioides*, resultados esses condizentes com os dados obtidos das análises bioquímicas.

Nos cruzamentos de *C. congensis* por *C. canephora* e de *C. congensis* por *C. eugenioides*, CARVALHO & MONACO (1968) alcançaram melhor resultado no primeiro caso, porém nos dois cruzamentos os híbridos obtidos são vigorosos e relativamente férteis. Esses mesmo autores nas hibridações entre espécies das subseções *Mozambicoffea* e *Pachycoffea* só tiveram êxito nos cruzamentos entre *C. kapakata* e *C. dewevrei*, não tendo sido tentadas hibridações entre *C. kapakata* e *C. liberica*.

Numerosos híbridos naturais entre *C. congensis* e *C. canephora*, chamados "Conuga" ou "Congusta" foram encontrados no começo do século na Indonésia (CRAMER, 1957, e

FERWERDA, 1948) e parecem oferecer boas possibilidades econômicas.

Os valores de P.A. obtidos nas análises de pigmentos comprovam haver afinidade mais alta entre *C. congensis* e *C. canephora* do que entre *C. congensis* e *C. eugenioides* e indicam que realmente a maior afinidade de *C. kapakata* é pela espécie *C. dewevrei* e, a seguir, por *C. liberica*.

Cruzamentos de *C. kapakata* com *C. eugenioides* e de *C. canephora* com *C. salvatrix*, tiveram relativo êxito, principalmente no primeiro caso. Os P.A. obtidos reforçam os resultados obtidos entre *C. kapakata* e *C. eugenioides*, mas indicam baixíssima afinidade entre *C. canephora* e *C. salvatrix*.

Quanto aos cruzamentos entre *C. liberica* e *C. dewevrei*, os resultados obtidos por CARVALHO & MONACO (1968) parecem relativamente baixos e discordam do valor de P.A. entre elas, que foi o mais alto encontrado.

Rhoades (citado por CARVALHO & MONACO, 1968) e Medina (comunicação pessoal), analisando o pareamento cromossômico no híbrido *C. liberica* x *C. dewevrei* encontraram 100% de células com onze bivalentes. Esse fato vem em reforço das análises de flavonóides.

Muitos dos cruzamentos possíveis entre essas dez espécies de café não deram nenhum pegamento e para outros não há dados publicados. CARVALHO & MONACO (1968) justificam esses resultados negativos e mesmo os muito baixos, chamando a atenção para os fatores de incompatibilidade existentes em café e para divergência em época de florescimento. A espécie *C. arabica* é autofértil, mas todas as espécies diplóides são auto-estéreis, sendo que os fatores comuns de incompatibilidade não foram ainda determinados. Portanto, muitos dos resultados negativos ou baixos, nos cruzamentos, não devem estar indicando pequena afinidade entre certas espécies, mas a ocorrência nelas desses fatores comuns de incompatibilidade.

Essa pode ser a explicação para dados contraditórios entre os índices de afinidade das espécies obtidos pela análise de flavonóides e as porcentagens de êxito nos cruzamentos interespecíficos.

As baixas afinidades entre *C. liberica* e *C. eugenioides* e entre *C. canephora* e *C. eugenioides*, de acordo com os dados das análises bioquímicas, poderiam reforçar ainda mais a provável origem de *C. arabica* a partir de cruzamentos de *C. liberica* ou de *C. canephora* com *C. eugenioides*, uma vez que o aletetraplóide obtido a partir de espécies bem diferentes se estabiliza mais facilmente, tendo meiose bem regular.

6.6. SISTEMÁTICA DO GÊNERO COFFEA

Para uma avaliação das dificuldades encontradas em estudos filogenéticos no gênero *Coffea*, é preciso lembrar que até mesmo a sistemática do gênero é pouco conhecida, estando ainda longe de ser considerada como bem estabelecida. CHEVALIER (1940, 1942, 1947), a quem se devem os melhores estudos taxonômicos dentro do gênero, apresentou várias classificações, todas elas incluindo importantes diferenças. Outros botânicos, como LEBRUN (1941), LEROY (1962) e LEÓN (1962), também apresentaram classificações próprias ou alteraram as já existentes.

Nas diferentes classificações apresentadas por CHEVALIER (1940, 1942, 1947), as principais alterações efetuadas dentro da seção *Eucoffea*, a única de nosso interesse, por incluir todas as espécies aqui estudadas, dizem respeito à posição de *C. eugenioides*, que ora está situada na subseção *Erythrocoffea* e ora na *Mozambicoffea*. A própria subseção *Mozambicoffea*, numa das classificações (CHEVALIER, 1942) é colocada como seção, ao nível de *Eucoffea*. Em todos os casos, a espécie *kapakata* é incluída no gênero *Psilanthopsis*, embora tenha sido descrita pela primeira vez por Hirschfeldt, como *C. kapakata*.

Considerou-se, neste trabalho, a última classificação de CHEVALIER (1947), com modificações propostas por CARVALHO & MONACO (1968).

Os resultados obtidos das análises de pigmentos permitem sugerir que *C. kapakata* está bem colocada dentro do gênero *Coffea*, como propuseram CARVALHO & MONACO (1968), apresentando boa afinidade em relação às demais espécies. A divisão em subseções revela-se insatisfatória, não tendo havido maior afinidade entre espécies de uma mesma subseção, exceto das espécies de *Pachycoffea*. Na realidade, critérios diferentes foram usados por CHEVALIER (1947) para estabelecer as subseções; em alguns casos, características e cor de frutos e, em outros, a distribuição geográfica. O fato de CHEVALIER (1942, 1947) colocar *C. eugenioides* ora na subseção *Erythrocoffea*, ora em *Mozambicoffea*, reflete também a situação determinada pelos resultados da análise de pigmentos, pois essa espécie apresenta boas relações com *C. arabica*, da subseção *Erythrocoffea* e com *C. salvatrix*, da subseção *Mozambicoffea*. Por esse mesmo motivo, deixa de ser possível confirmar o acerto da inclusão de *C. eugenioides* dentro da subseção *Erythrocoffea* (CARVALHO & MONACO, 1968).

Quanto à proposição desses autores, no sentido de incluir *C. stenophylla* na subseção *Pachycoffea*, os resultados da presente análise de flavonóides indicaram haver, realmente, boa afinidade entre essa espécie, pertencente à subseção *Melanocoffea*, e as de *Pachycoffea*, tendo sido essas duas subseções aquelas com maior afinidade, pelos valores de P.A. entre subseções. Todavia, a alta afinidade de *C. stenophylla* por espécies da subseção *Mozambicoffea* torna difícil reforçar ou não a proposição de CARVALHO & MONACO (1968). Para esse caso, novos dados deverão ser considerados.

6.7. CONSIDERAÇÕES SOBRE A ORIGEM DE *COFFEA ARABICA*

Sendo *C. arabica* espécie tetraplóide com $2n = 44$

cromossomos e havendo evidências que tendem a confirmar ser ela um alotetraplóide, tem-se de há muito procurado determinar que espécies diplóides teriam participado de sua formação.

C. arabica, segundo a maioria dos pesquisadores de café, é nativa da Etiópia, havendo uma concordância geral quanto ao fato de aí existir grande variabilidade de formas dessa espécie. Como as espécies diplóides cujas distribuições geográficas mais se aproximam desse país são *C. canephora*, *C. congensis*, *C. liberica* e *C. eugenioides*, essas espécies têm sido as mais constantemente indicadas como tendo dado origem a *C. arabica*.

CRAMER (1957) e KRUG & CARVALHO (1951) sugeriram a possibilidade de *C. canephora* e *C. eugenioides* estarem relacionadas com *C. arabica*, baseados na distribuição geográfica e em semelhanças morfológicas de algumas variedades de *C. eugenioides* com alguns mutantes de *C. arabica*. THOMAS (1944) refere-se à presença dessas duas espécies diplóides numa mesma área, em Uganda, onde poderiam ter-se cruzado e dado origem a *C. arabica*.

Os resultados das hibridações artificiais entre *C. canephora* e *C. eugenioides*, realizadas por CARVALHO & MONACO (1968) foram bons sendo os híbridos relativamente férteis.

CRAMER (1957) discute ainda que também *C. congensis* apresenta formas semelhantes a *C. arabica*, e que esta poderia ter-se originado da hibridação natural de *C. congensis* e *C. eugenioides* com a posterior duplicação dos cromossomos e diferenciação. Hille Ris Lambers, citado por CRAMER (1957) assinala a ocorrência espontânea de *C. eugenioides*, *C. canephora* e *C. congensis* numa mesma localidade do continente africano, e discute a possibilidade de as três espécies fazerem parte de um só complexo, compartilhando certos genes comuns. Segundo CARVALHO & MONACO (1968), poderiam ter ocorrido cruzamentos de *C. eugenioides* com as outras duas espécies e através da poliplóidia teria sido ob-

tida razoável fertilidade e a preservação das novas combinações podendo ter ocorrido introgressão entre tetraplóides e diplóides.. O fato de não terem sido encontrados, até agora, híbridos naturais entre essas espécies poderia ser explicado pelo pequeno conhecimento existente sobre as espécies de café nas suas regiões de origem ou por não se ter procurado convenientemente ou, ainda, pela possibilidade de se terem desenvolvido mecanismos de isolamento ecológico. De qualquer forma, faltam informações sobre as espécies espontâneas de café.

FERNIE (1966) relata que Doughty obteve um híbrido entre *C. dewevrei* cv. Excelsa e *C. eugenioides* com grande semelhança com *C. arabica*, e CARVALHO & MONACO (1968) obtiveram grande êxito nessa hibridação.

NARASIMHASWAMY & WISHVESHWARA (1961) relatam que, numa população do híbrido *C. liberica* x *C. eugenioides*, encontraram uma planta com mixoploidia, na qual o ramo tetraplóide tinha surpreendente semelhança morfológica com *C. arabica*. Baseados nesse fato, sugerem que essas espécies poderiam ter dado origem a *C. arabica*.

As hibridações artificiais entre *C. liberica* e *C. eugenioides*, realizadas por CARVALHO & MONACO (1968), deram bons resultados.

Pelos resultados obtidos das análises de flavonóides das espécies de café, verifica-se que *C. arabica* tem maior afinidade por *C. liberica*. No entanto, a grande afinidade de *C. arabica* também por *C. ganephora*, que é a segunda espécie melhor relacionada com *C. arabica*, torna difícil qualquer conclusão, antes da análise de maior número de representantes dessas espécies.

Diante dos resultados obtidos, parece mais fácil sugerir que *C. congensis* não deve ter participado da formação de *C. arabica*.

Quanto a *C. eugenioides*, a análise dos cromato-

gramas e dos valores de P.A. torna evidente a sua especial relação com *C. arabica*, confirmando todas as opiniões anteriores.

É necessário dar ênfase ao fato de que os cromatogramas de *C. arabica* têm um padrão bem específico, não mostrando, em absoluto, uma soma dos compostos de duas dessas espécies diplóides. Poderia ser descrito como mais semelhante aos cromatogramas das oito espécies onde predominam os compostos azuis, roxos e cinzas, especialmente *C. liberica*, e apresentando alguns compostos iguais e outros de classe correspondente à de *C. eugenioides*. Verifica-se que esses resultados também não permitem sugerir que *C. arabica* se tenha originado por autoploidia a partir de uma das espécies estudadas.

7. RESUMO E CONCLUSÕES

7.1. O presente trabalho teve o objetivo de analisar algumas espécies do gênero *Coffea*, do ponto de vista da bioquímica sistemática, com a finalidade de testar sua utilidade nesse grupo de plantas e procurar conseguir novos informes sobre as afinidades existentes entre essas espécies.

7.2. Foram analisadas as plantas da coleção de Campinas, por incluírem o maior número de cultivares e espécies diferentes e para uniformidade de condições ambientais.

7.3. Foram estudadas dez espécies do gênero *Coffea*, além de alguns cultivares de três dessas espécies, sendo catorze de *C. arabica*, quatro de *C. canephora* e três de *C. dewevrei*.

7.4. O estudo de cultivares teve por finalidade identificar variações interespecíficas, possibilitando melhor conhecimento dos limites de variações nos componentes analisados.

7.5. As análises bioquímicas foram realizadas pelo emprego da cromatografia de papel bidimensional ascendente.

7.6. Detectaram-se 75 manchas diferentes entre as espécies, 47 entre os cultivares de *C. arabica*, 31 entre

os cultivares de *C. canephora* e 36 entre os cultivares de *C. dewevrei*, num total de 81 manchas diferentes.

7.7. Poucas manchas foram comuns a todas as espécies, porém muitas foram comuns a todos os cultivares de uma mesma espécie.

7.8. Para facilitar as comparações e objetivar melhor os resultados, foram calculados valores de P.A. para espécies e cultivares e construídos gráficos poligonais para espécies e para os cultivares de *C. arabica*.

7.9. A análise dos cultivares de *C. arabica* demonstrou a grande variabilidade de formas existentes nessa espécie, apresentando larga faixa de variação em seus graus de afinidade.

7.10. Os poucos cultivares estudados de *C. canephora* e de *C. dewevrei* são bastante uniformes.

7.11. A determinação das afinidades entre as espécies, indicadas pela análise cromatográfica, de modo geral, não confirmou os agrupamentos em subseções feitos por Chevalier em sua classificação sistemática de 1947.

7.12. As altas afinidades entre espécies de subseções diferentes mostraram que cores e características dos frutos, além da distribuição geográfica, itens usados por Chevalier para separação em subseções, não são os mais indicados ou suficientes.

7.13. A comparação entre os resultados das análises cromatográficas e os resultados das hibridações interespecíficas revela que certa discrepância é encontrada. Os resultados contraditórios dizem respeito principalmente à afinidade de *C. eugenioides* com as demais espécies, maior pelos dados das hibridações interespecíficas e também quanto às relações entre *C. arabica* e as espécies *C. dewevrei* e *C. liberica*, onde os resultados das análises de flavonóides

indicaram mais alta afinidade. Nos demais casos houve, em geral, concordância entre os resultados das hibridações e das análises de flavonóides.

7.14. As observações do pareamento cromossômico em determinados híbridos interespecíficos deram algumas informações concordes com os dados da análise de flavonóides.

7.15. Os resultados obtidos, referentes à afinidade de *C. stenophylla* com as demais espécies, não permitem decidir se deve ou não ser transferida da subseção *Melanocoffea* para a subseção *Pachycoffea*.

7.16. A espécie *C. arabica* apresenta maior afinidade por *C. liberica* e depois por *C. canephora*.

7.17. Verificou-se existir alta afinidade entre *C. liberica* e *C. dewevrei*, confirmando as observações realizadas do ponto de vista genético e citogenético.

7.18. A boa afinidade de *C. kapakata* pelas demais espécies parece indicar que esta espécie está bem colocada dentro do gênero *Coffea*, justificando a proposta para considerá-la *Coffea kapakata* e não *Psilanthopsis kapakata*.

7.19. As espécies melhor relacionadas a todas as demais são *C. liberica* e *C. dewevrei*.

7.20. Os dados mostraram claramente que *C. salvatrix* tem muito pouca afinidade pelas demais espécies estudadas, apresentando melhor relação apenas com *C. eugenioides*.

7.21. A afinidade entre *C. salvatrix* e *C. eugenioides* é determinada, principalmente, por um grupo de compostos muito característicos, comuns quase que exclusivamente a essas espécies.

7.22. A afinidade maior de *C. eugenioides* por

C. arabica e a presença de algumas manchas típicas de *C. eugenoides* ocorrendo em *C. arabica*, parecem indicar que *C. eugenoides* tenha realmente participado da formação de *C. arabica*.

7.23. Os dados bioquímicos não permitem decidir se *C. eugenoides* está melhor colocada junto à subseção *Erythrocoffea* ou junto à subseção *Mozambicoffea*, pois esta espécie tem boa afinidade com *C. arabica*, pertencente à primeira subseção mencionada, e também com *C. salvatrix*, pertencente à segunda. *C. eugenoides* parece ocupar uma posição intermediária entre os dois grupos de espécies.

7.24. Os resultados deste trabalho permitem sugerir que as espécies *C. eugenoides* e *C. liberica* ou *C. canephora* apresentam maiores possibilidades de ter participado da formação de *C. arabica*.

7.25. A análise de compostos flavonóides provou ser um método de valor para estudos filogenéticos e para ajudar a resolver problemas taxonômicos em café.

7.26. Os resultados abrem grandes possibilidades de novas pesquisas no sentido de ampliar os trabalhos, introduzindo-se novas variáveis, tais como estudo de maior número de espécies, análise de antocianinas e, principalmente, identificação das manchas para um entendimento mais preciso das relações entre as espécies.

8. SUMMARY AND CONCLUSIONS

8.1. This work was made to test systematic biochemistry as an useful tool in the analysis of species of *Coffea* in order to have new data on the affinities of these species.

8.2. Plants from Campinas collection were analysed, for they belong to many different cultivars and species and for they are under uniform environmental conditions.

8.3. Plants from ten species of the genus *Coffea* were studied, besides some cultivars from three of them: fourteen from *C. arabica*, four from *C. canephora* and three from *C. dewevrei*.

8.4. Cultivars were studied to identify inter-specific variations and to have better knowledge of the limits of variation of the analysed components.

8.5. Biochemical analysis were made through bidimensional ascendent paper chromatography.

8.6. A total of 81 different spots were detected, 75 being in the species, 47 in *C. arabica* cultivars and 36 in *C. dewevrei* cultivars and 31 in *C. canephora* cultivars.

8.7. Few spots were common to all the species but many were common to all the cultivars of the same specie.

8.8. P.A. values were evaluated and polygraphs were made for all plants studied to facilitate the comparisons and the understanding of the results.

8.9. The analysis of *C. arabica* cultivars showed a great variability of forms in the specie, having a broad variation stripe in its affinity grades.

8.10. Only few cultivars of *C. canephora* and *C. dewevrei* were studied and they are rather uniform.

8.11. The affinities among the species showed by the chromatographic analysis did not confirm, generally speaking, the way Chevalier in 1947 grouped the species in subsections.

8.12. High affinities among species of different subsections showed that geographic distribution and fruit characteristics, used by Chevalier to separate the subsections, are not the best or even sufficient elements to such a work.

8.13. Certain discrepancy is found when the results of the chromatographic analysis are compared to the hybridizations. When the affinity of *C. eugenioides* to the other species is considered we find it stronger through hybridization data; when the affinity of *C. arabica* to *C. dewevrei* and *C. liberica* is considered the data from flavonoid analysis show it higher. In all the other cases agreement is present.

8.14. Observations on chromosome pairing in certain interspecific hybrids gave some information which agree with the data from flavonoid analysis.

8.15. From the data obtained on the affinity between *C. stenophylla* and the other species we cannot be sure about placing this species in *Pachycoffea* subsection.

8.16. *C. arabica* shows greater affinity to *C. liberica* and, in second place, to *C. canephora*.

8.17. A high affinity between *C. liberica* and *C. dewevrei* was verified; this confirms the cytological and cytogenetics observations.

8.18. The good affinity of *C. kapakata* for the others species shows that its right place seems to be in the genus *Coffea*; it must be *Coffea kapakata* instead of *Psilanthopsis kapakata*.

8.19. *C. liberica* and *C. dewevrei* have the best relations to all other species.

8.20. The data showed clearly that *C. salvatrix* is weakly related to all other studied species excluding *C. eugenioides*.

8.21. The affinity between *C. salvatrix* and *C. eugenioides* is chiefly determined by a group of characteristic compounds common almost exclusively to both.

8.22. The greater affinity between *C. eugenioides* and *C. arabica* and the presence of some typical *eugenioides* spots in *C. arabica* seem to indicate that *C. eugenioides* have really entered in the formation of *C. arabica*.

8.23. Biochemical data are not sufficient to show wheter *C. eugenioides* is better placed in the *Erythrocoffea* or the *Mozambicoffea* subsections, for it has good affinity to *C. arabica* which belongs to the first and to *C. salvatrix* also, which belongs to the second. *C. eugenioides* must have an intermediate position between the two groups of species.

8.24. The results obtained in our research suggest that *C. eugenioides* and *C. liberica* or *C. canephora* have better possibilities to take part in *C. arabica* formation.

8.25. Flavonoids compounds analysis showed to be a good method to help in the solution of taxonomic and phylogenetic problems in *coffee*.

8.26. Our results show large possibilities on new researches in order to amplify them, introducing new variants, such as the study of larger number of species, anthocyanins analysis and, chiefly, identification of the spots to have better understanding about the inter-relation of the species.

9. BIBLIOGRAFIA

1. ALSTON, R. E. 1958. Leucoanthocyanin synthesis in dark-grown seedlings of *Impatiens balsamina*. Amer. J. Bot. 45:289-294.
2. _____. 1965. Flavonoid Chemistry of *Baptisia*. A current evaluation of chemical methods in the analysis of interespecific hybridization. Taxon 14 :268-274.
3. _____ & SIMMOND, J. 1962. A specific and predictable biochemical anomaly in interespecific hybrids of *Baptisia viridis* x *B. leucantha*. Nature 195: :825.
4. _____ & TURNER, B. L. 1963. Natural hybridization among four species of *Baptisia* (Leguminosae). Amer. J. Bot. 50:159-173.
5. ASKER, S. & FRÖST, S. 1969. Chromatographic studies in *Potentilla argentea* L. Hereditas, 62; 426-429.
6. BATE-SMITH, E. C. 1954. Leucoanthocyanins I. Detection and identification of anthocyanidins formed from leucoanthocyanins in plant tissues. Biochim. J. 58: :122-125.
7. BETTENCOURT, A. J. 1972. Considerações gerais sobre o Híbrido de Timor; origem e possibilidades de cultivo. Bragantia (no prelo).

8. BOSE, S. and FRÖST, 1967. An investigation on the variation of phenolic compounds in *Galeopsis* using Thin Layer Chromatography. *Hereditas* 58:145-164.
9. BREHM, B. G. & OWNBEY, M. 1965. Variation in Chromatographic patterns in the *Tragopogon dubius-pratensis-porrifolius* complex (Compositae) *Amer. J. Bot.* 52: 811-818.
10. CARVALHO, A. & MONACO, L. C. 1968. Relaciones geneticas de especies seleccionadas de *Coffea*. *Cafe (Peru)*, 9: 1-19.
11. CHEVALIER, A. 1940. Nouveau groupement des espèces du genre *Coffea* et spécialement des celles de la section *Eucoffea*. *C. R. Acad. Sc. (Paris)* 210:357-361.
12. _____. 1942. Les caféiers du globe. II. Iconographie des caféiers sauvages et cultivés et des rubiacées prises pour des caféiers. Paul Lechevalier (ed.), Paris, 158 p.
13. _____. 1947. Les caféiers du globe. III. Systematique des caféiers et faux - caféiers, maladies et insectes nuisibles. Paul Lechevalier (ed.), Paris, 356 p.
14. CLEVINGER, S. 1971. Anthocyanidins of some *Impatiens* species. *Evolution* 25:669-677.
15. CRAMER, P. J. S. 1957. Review of literature of coffee research in Indonesia. Interamerican Institute of Agricultural Sciences, Turrialba (Costa Rica). 262 p. (Miscellaneous publ. n° 15).
16. CROWNDEN, R. K., HARBORNE, J. B. & HEYWOOD, V. H., 1969. Chemosystematics of the Umbelliferae. A general survey. *Phytochem* 8: 1963-1984.
17. ELLISON, W. L., ALSTON, R. E. & TURNER, B. L. 1962. Methods of presentation of crude biochemical data for

17. ELLISON, W. L., ALSTON, R. E. & TURNER, B. L. 1962. Methods of presentation of crude biochemical data for systematic purposes, with particular reference to the genus *Bahia* (Compositae). Amer. J. Bot. 49:599-604.
18. FERNIE, L. M. 1964. Description of the coffee tree, varieties and selections, p.1-18. In A Handbook on Arabica Coffee in Tanganyika. J. B. D. Robinson (ed.) Tanganyika Coffee Board. Moshi.
19. _____. 1966 Impression on coffee in Ethiopia. Kenya Coffee 31: 115-121.
20. FERWERDA, F. P. 1948. Coffee breeding in Java. Econ. Bot. 2:258-272.
21. FRANCO, C. M. 1939. Sobre compostos fenólicos no café. Instituto Agronômico, Campinas, (Bol. Téc. 64)14p.
22. FRÖST, S. & HOLM, G. 1971. Thin-layer chromatography studies of phenolic compounds in twenty varieties of barley. Hereditas 69: 25-34.
23. GEISSMAN, T.A. 1955. Anthocyanins, Chalkones, Aurones, Flavones and related water-soluble plant pigments. p. 450-498, In Modern methods of Plant Analysis. K. Paech & M. V. Tracey (ed.), Spring Verlag, Berlin, Vol. III.
24. GRUPTA, S. & GILLET, G. W. 1969. Chemotaxonomic studies of Hawaiian *Wikstroemia*. Econ. Bot. 23:24-31.
25. HARBORNE, J. B. 1958. The chromatographic identification of anthocyanin pigments. J. Chromat. 1: 473-488.
26. _____. The chromatography of the flavonoid pigments. J. Chromat. 2:581-604.

27. HARBORNE, J. B. 1967. Comparative biochemistry of the flavonoids. Academic Press, London and New York. 383 p.
28. _____ 1969. Chemosystematics of the Leguminosae. Flavonoid and iso-flavonoid patterns in the tribe Genistae. *Phytochem.* 8:1449-1456.
29. _____ & SIMMONDS, N.W. 1964. The natural distribution of the phenolic aglycones. p.77-127. *In* Biochemistry of Phenolic Compounds. J. B. Harborne (ed.), Academic Press, New York.
30. HEGNAUER, R. 1967. Chemical characters in plant taxonomy: some possibilities and limitations. *Pure and Applied Chemistry* 14: 173-187.
31. JONES, P. A. 1957. Notes on the varieties of *Coffea Arabica* in Kenya. p.158-166. *In* "Selected Articles on coffee culture". Coffee Board of Kenya (ed.) Ruiru, Kenya.
32. KRUG, C. A. & CARVALHO, A. 1951. The genetics of *Coffea*. *Advanc. Genet.* 4:127-158.
33. KRUG, C. A. & MENDES, A. J. T. 1941. Observações citológicas em *Coffea*: IV. *Bragantia* 1:467-482.
34. _____ & MENDES, A. J. T. 1943. Conhecimentos gerais sobre a genética e a citologia do gênero *Coffea*. *R. Agric. (Piracicaba)* 18: 399-408.
35. _____, MENDES, J. E. T. & CARVALHO, A. 1939. Taxonomia de *Coffea arabica* L. Descrição das variedades e formas encontradas no Estado de São Paulo. Instituto Agrônomo, Campinas. (Bol. Técn. 62).59 p.
36. _____, _____ & _____. Taxonomia de *Coffea arabica* L. II. *Coffea arabica* L. var. *caturra* e sua forma *xanthocarpa*. *Bragantia* 9:157-163.

37. LEBRUN, J. 1941. Recherches morphologiques et systématiques sur les caféiers du Congo. Institut Royal Colonial Belge, 183 p. Bruxelles, (Memoires - Collection in 89 - Tome XI, fasc. 3).
38. LEON, L. 1962. Especies y cultivares (variedades) de cafe. Materiales de Ensenansa de café y cacao. Turrialba (Costa Rica). 23:1-69.
39. LEROY, J. F. 1962. Prospection des caféiers sauvages: rapport préliminaire sur une mission scientifique à Madagascar et aux Iles Mascareignes - J. d'Agric. Trop. et Bot. Appl. 9:211-244.
40. MABRY, T. J., MARKHAM, K. R. & THOMAS, M. B. 1970. The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag. Berlin, 354p.
41. MEDINA, D. M. 1963. Microsporogênese em um híbrido triplóide de *C. racemosa* Lour x *C. arabica* L. Bragantia 22:299-318.
42. MONACO, L. C. & MEDINA, D. M. 1965. Hibridações entre *Coffea arabica* e *C. kapakata*. Análise citológica de um híbrido triplóide. Bragantia 24:191-201.
43. NARASIMHASWAMY, R. L. 1961. La herrumbre del cafe (Hemileia) en la India. Café. Turrialba (Costa Rica) 3: 41-77.
44. NARASIMHASWAMY, R. L. & VISHVESHWARA, S. 1961. Report on hybrids between some diploid species of *Coffea* L. Indian Coffee 25:104-109.
45. OCKENDON, D., ALSTON, R. E. & NAIFEH, K. 1966. The distributions of flavonoids in *Psoralea* species. Phytochem. 5:601.

46. RAMIAH, P. K. 1970. Differences in some chemical constituents of varieties of coffee and their possible relation to leaf rust resistance. p. 93-97. In Coffee Board Research Department (India) 23 rd. annual det. techn. report. 1969-1970.
47. SEIKEL, M. K. 1962. Chromatographic methods of separation, isolation and identification of flavonoid compounds. p. 34-69. In The Chemistry of Flavonoid Compounds. T. A. Geissman (ed.) The Macmillan Company, New York.
48. Sylvain, P. G. 1955. Some observations on *Coffea arabica* L. in Ethiopia. Turrialba 5: 37-53.
49. SWAIN, T. 1965. Analytical methods for flavonoids. p. 533-549. In Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. T. W. Goodwin (ed.) Academic Press. New York.
50. TAYLOR, R. J. and CAMPBELL, D. 1969. Biochemical systematics and phylogenetic interpretation in the genus *Aquilegia*. Evolution 23: 153-162.
51. THOMAS, A. S. 1944. The wild coffees of Uganda. Emp. Jour. Exp. Agric. 12: 1-12.
52. THOMPSON, J. F. 1959. Partition Chromatography and its use in the Plant Sciences. Bot. Rev. 25: 208-228.
53. THOMAS, M. B. & MABRY, T. J. 1968. Flavonoid constituents of *Hymenoxys scaposa* D. C. (Compositae). Phytochem. 787-790.
54. TOSELLO, G. A. 1969. Emprego da cromatografia em estudos filogenéticos nos gêneros *Cattleya* LDL. e *Laelia* LDL. (Orchidaceae-Epidendrinae). Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

55. VENKATARAMAN, K. 1962. Methods for determining the structures of flavonoid compounds. p. 70-106. *In The Chemistry of Flavonoid Compounds*. T.A. Geissman (ed.) The Macmillan Company, New York.
56. ZULUAGA, J. V., VALENCIA, G. A. & GONZÁLEZ, J. 1971. Contribuicion al estudio de la naturaleza de la resistencia del cafeto a *Ceratocystis fimbriata* (Ell. Halst) Hunt. *Cenicafé*. 22:43-70.
57. WILBAUX, R. 1937. Recherches preliminaires sur la préparation du café par voie humide. l'Institut National pour l'étude Agronomique du Congo Belge. Serie Technique n° 13. p.1-49.

LEGENDA DAS FIGURAS

Figuras de 1 a 12.- Cromatogramas bidimensionais obtidos da análise dos extratos de polpa de frutos maduros das espécies estudadas do gênero *Coffea*. Da espécie *C. arabica* estão incluídos os cromatogramas dos cv. Abissínica e Típica e de *C. canephora* os dos cv. Kouillou e Robusta.

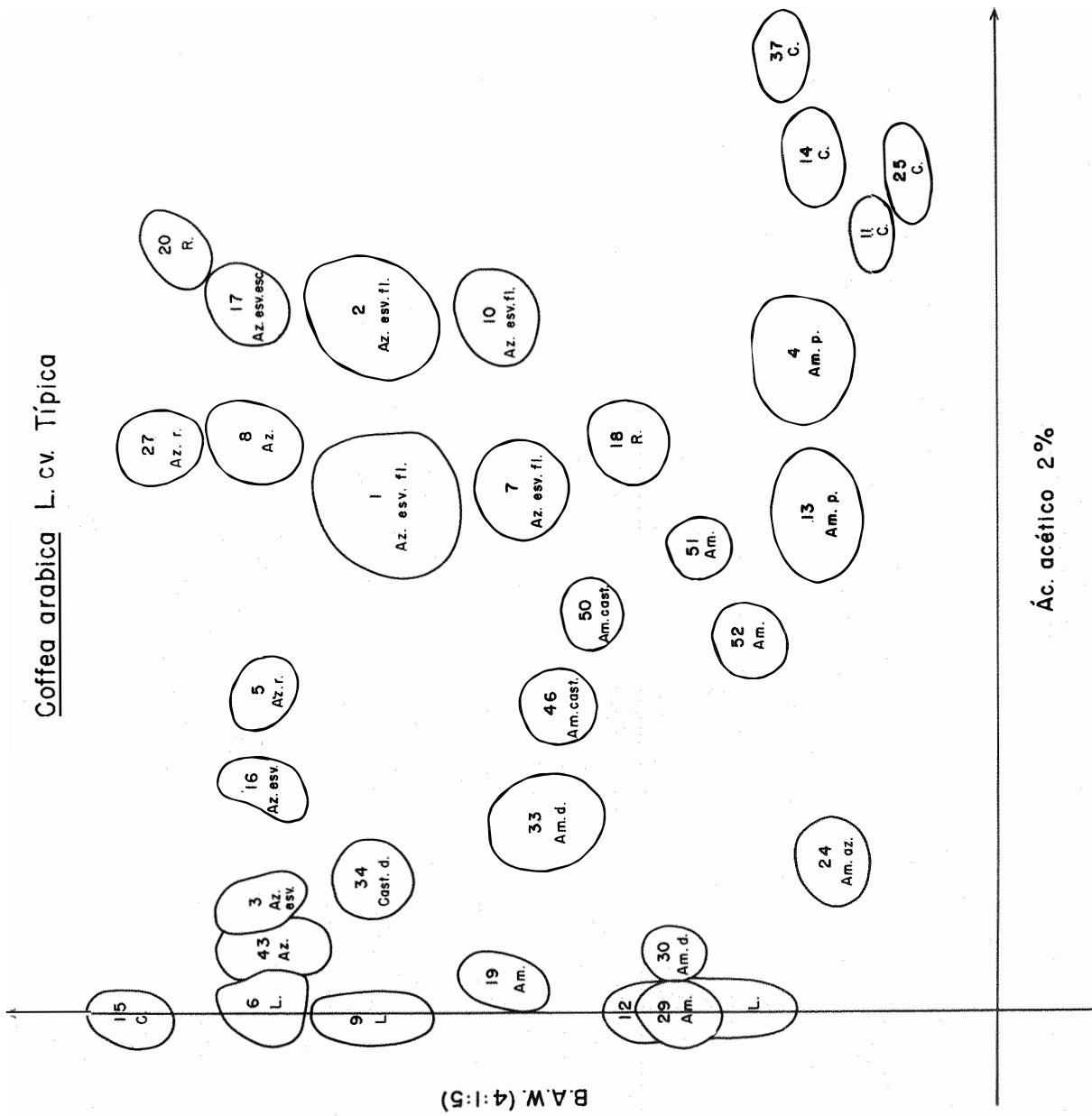
Abreviações dos nomes das cores: az. = azul, am. = amarela averm. = avermelhada; azs. = azulada; c. = cinza; cast. = castanho; d. = dourada; esc. = escura; esv. = esverdeada fl. = fluorescente; int. = intenso; L. = Lilás; p. = pálida; R. e r. = roxa.

Figura 13.- Modo de construção dos gráficos poligonais.

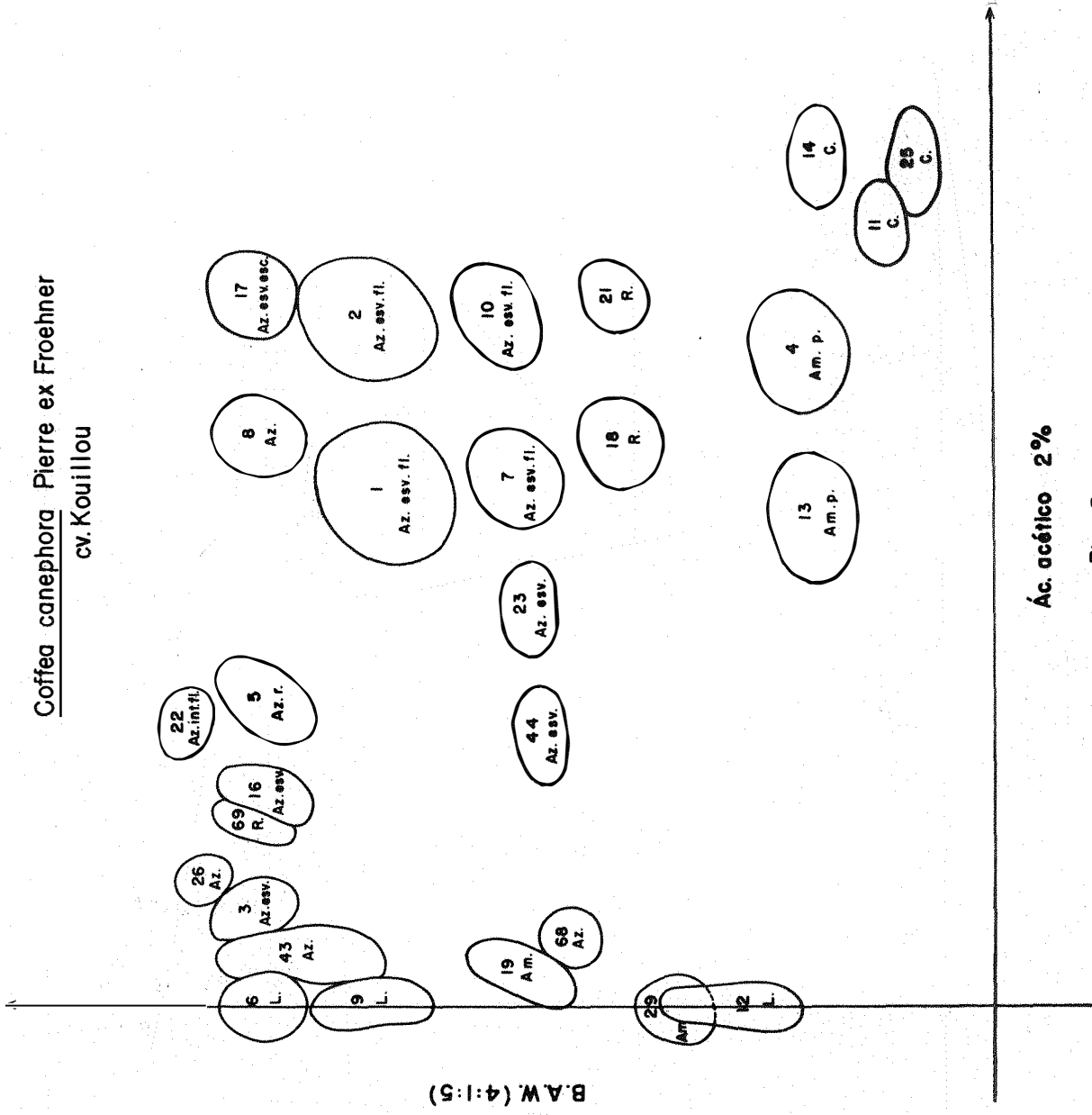
Figuras 14 e 15.- Gráficos poligonais referentes às espécies estudadas do gênero *Coffea*.

Figuras 16, 17 e 18.- Gráficos poligonais relativos aos cultivares de *Coffea arabica*.

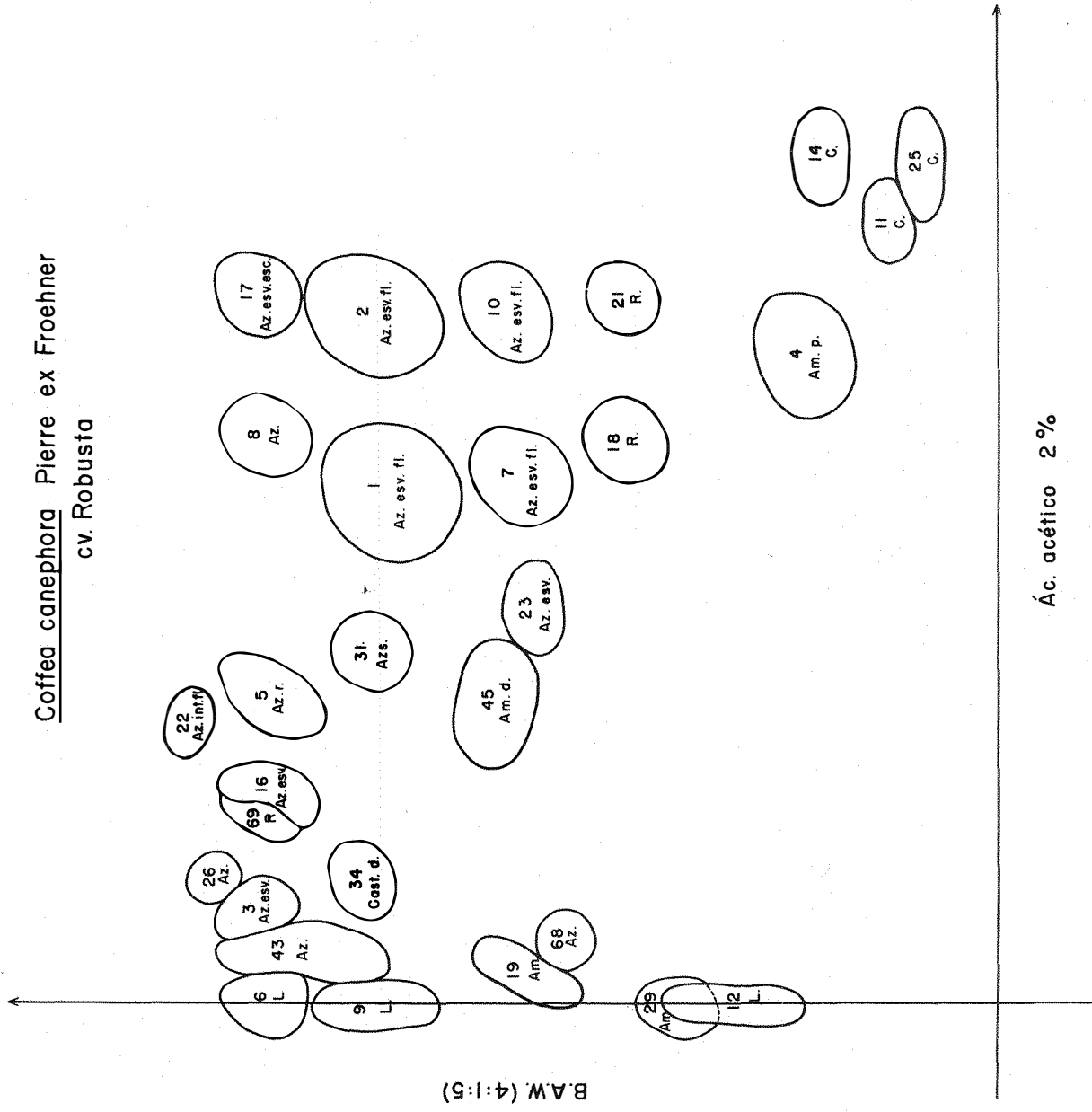
Coffea arabica L. cv. Típica



Coffea canephora Pierre ex Froehner
cv. Kouillou



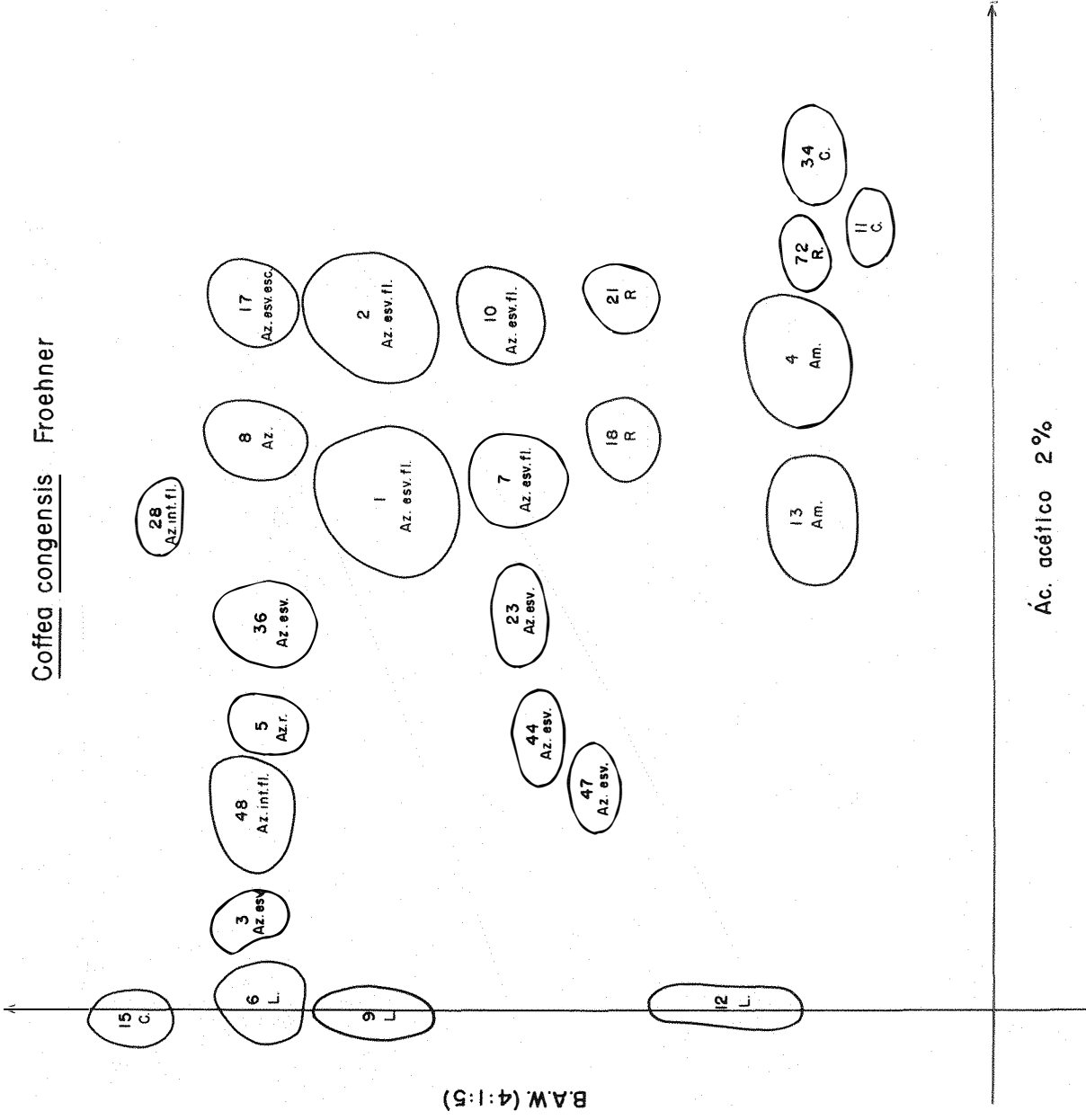
Coffea canephora Pierre ex Froehner
cv. Robusta



Ác. acético 2%

Fig. 4

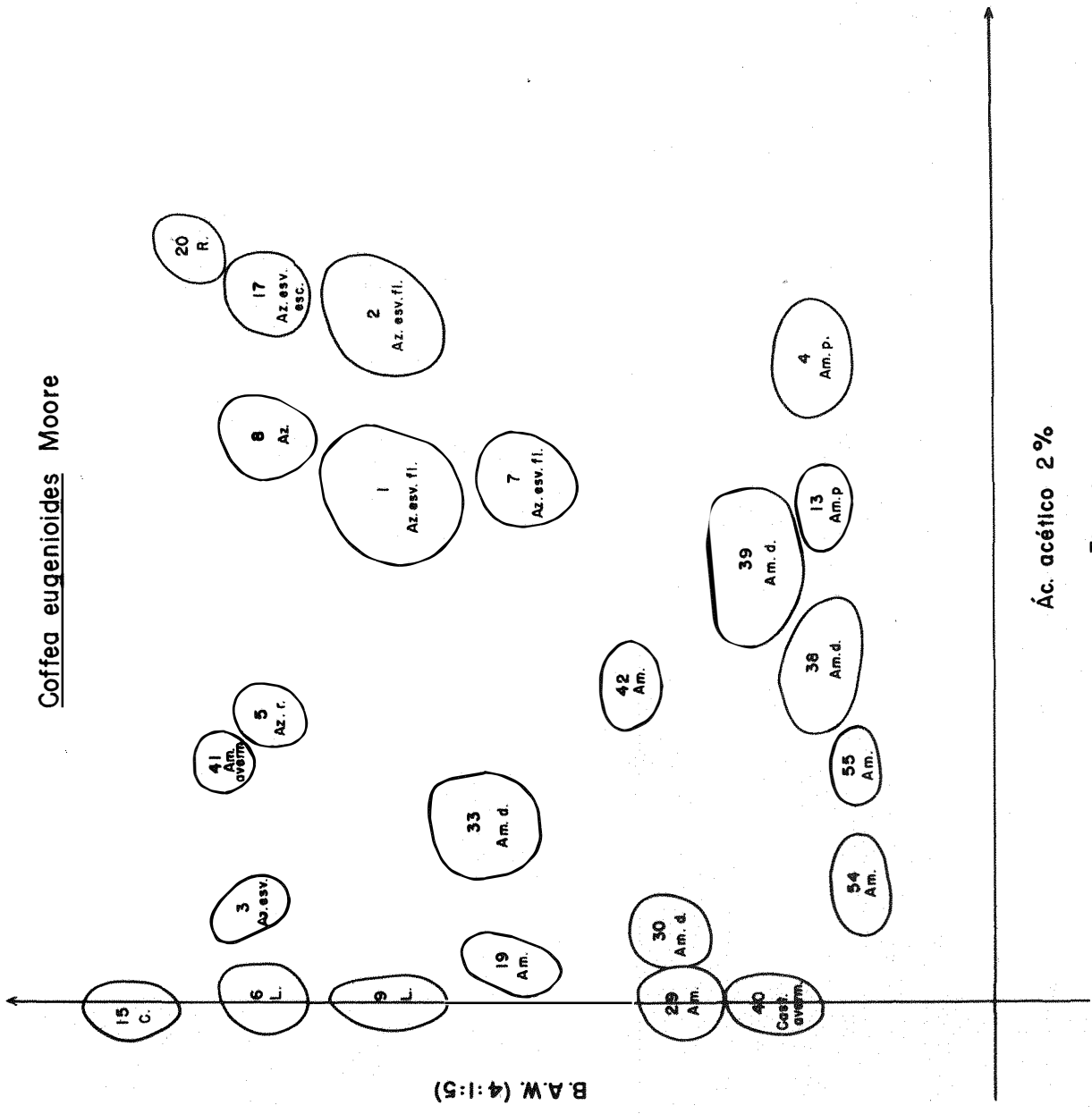
Coffea congensis Froehner



Ac. acético 2%

Fig. 5

Coffea eugenioides Moore



Ác. acético 2%

Fig. 6

Coffea liberica Hiern

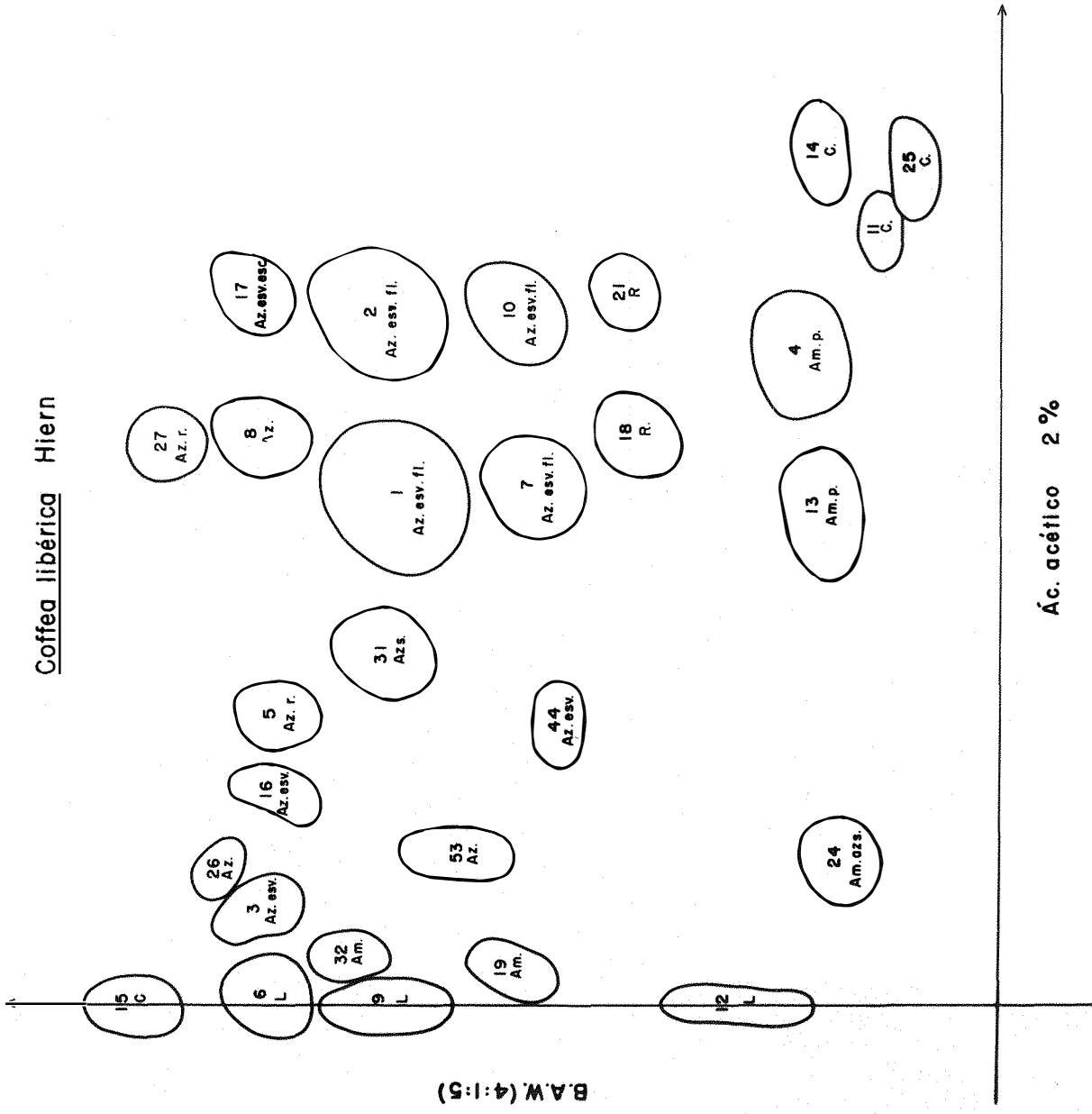
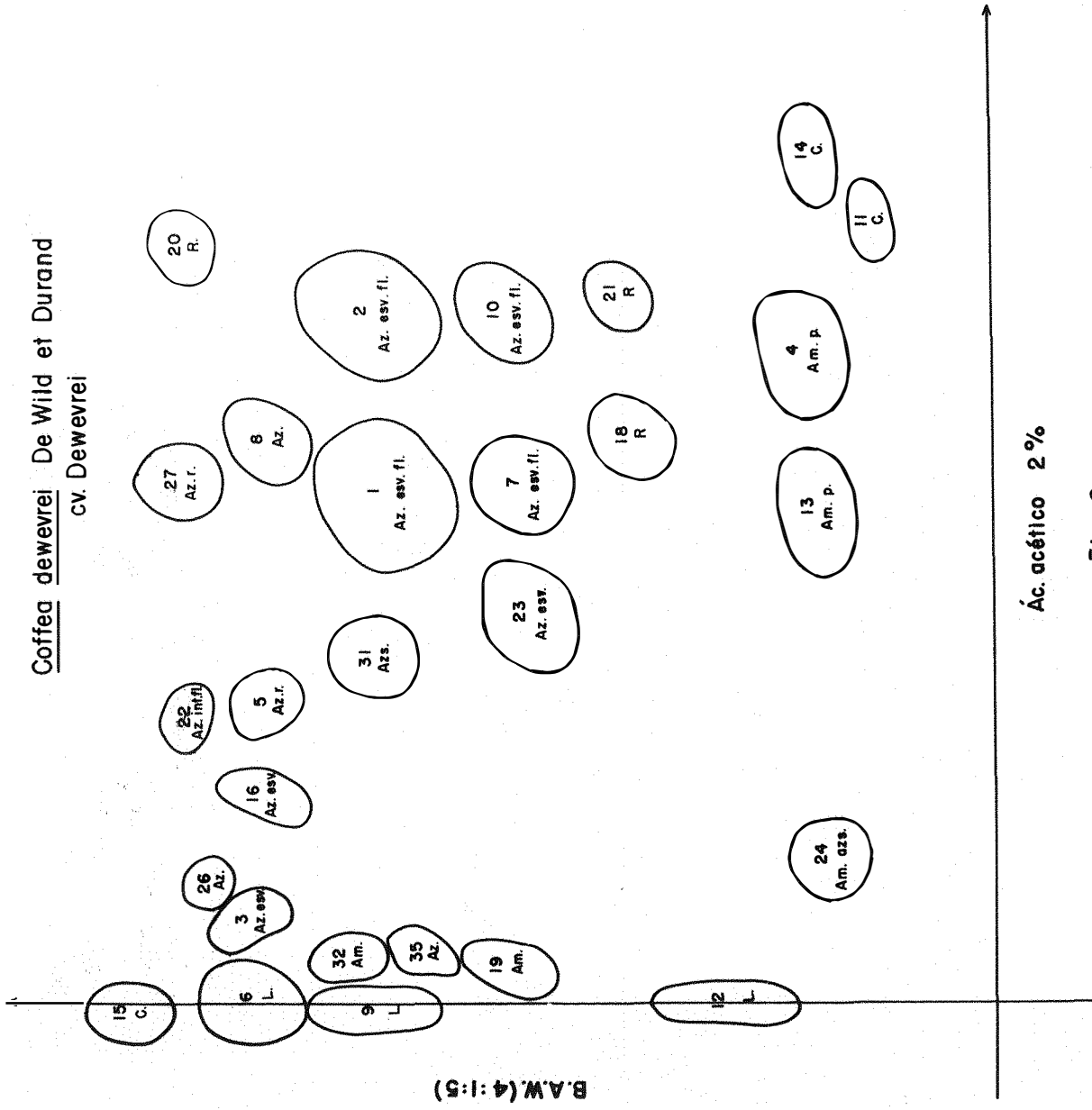


Fig. 7

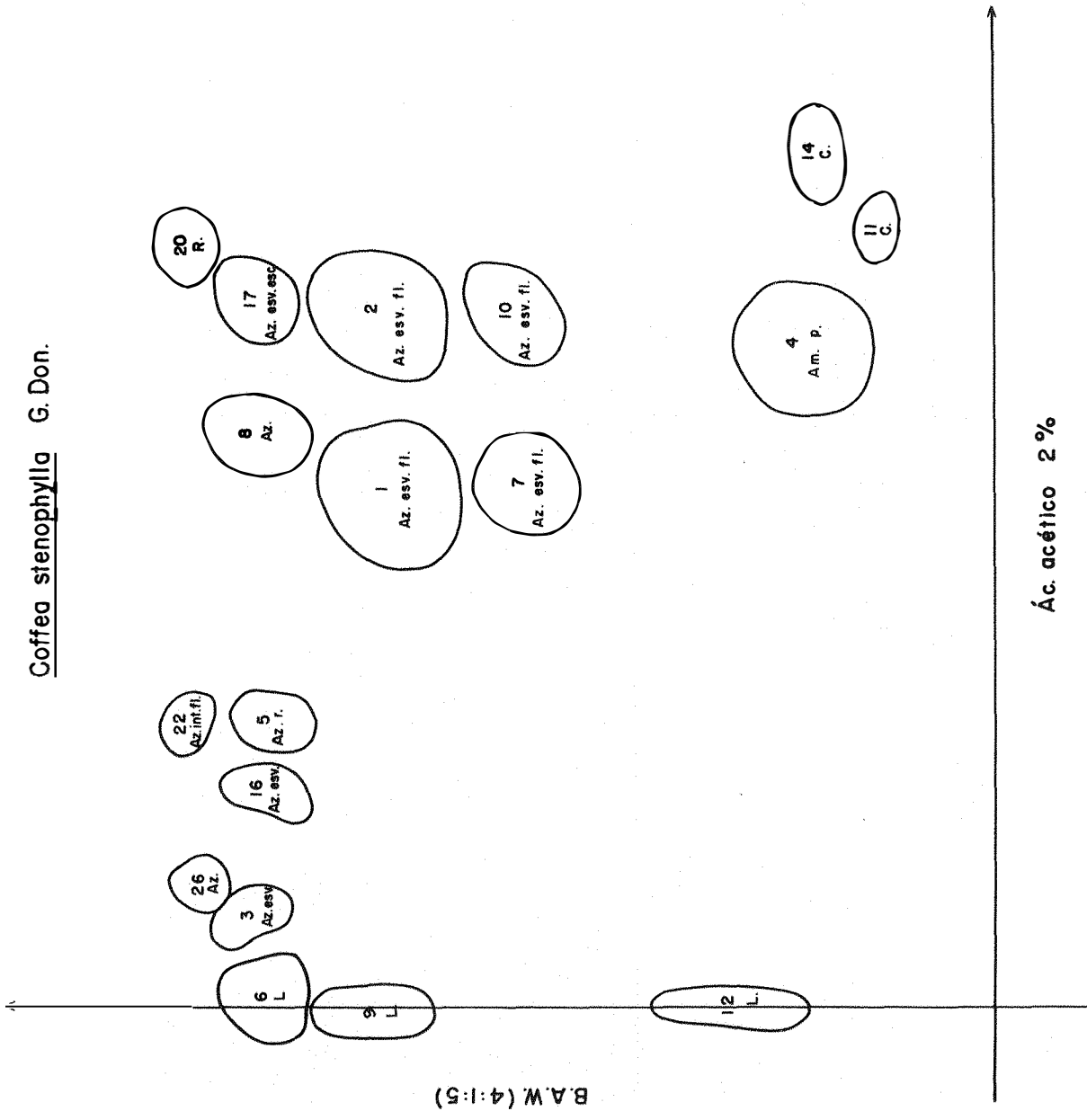
Coffea dewevrei De Wild et Durand
cv. Dewevrei



Ác. acético 2%

Fig. 8

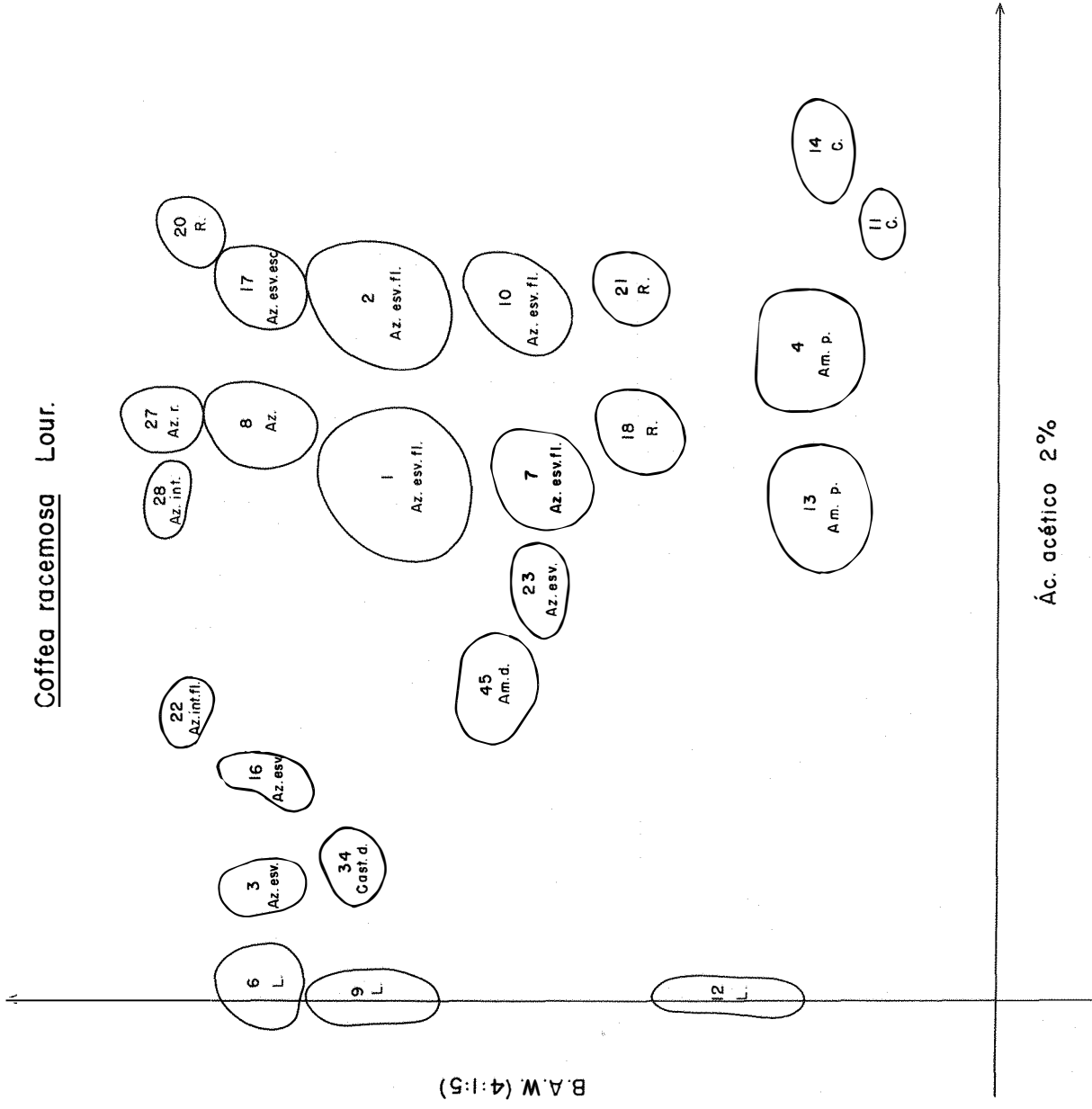
Coffea stenophylla G. Don.



Ác. acético 2%

Fig. 9

Coffea racemosa Lour.



Ác. acético 2%

Fig. 10

Coffea kapakata Hirschfeldt

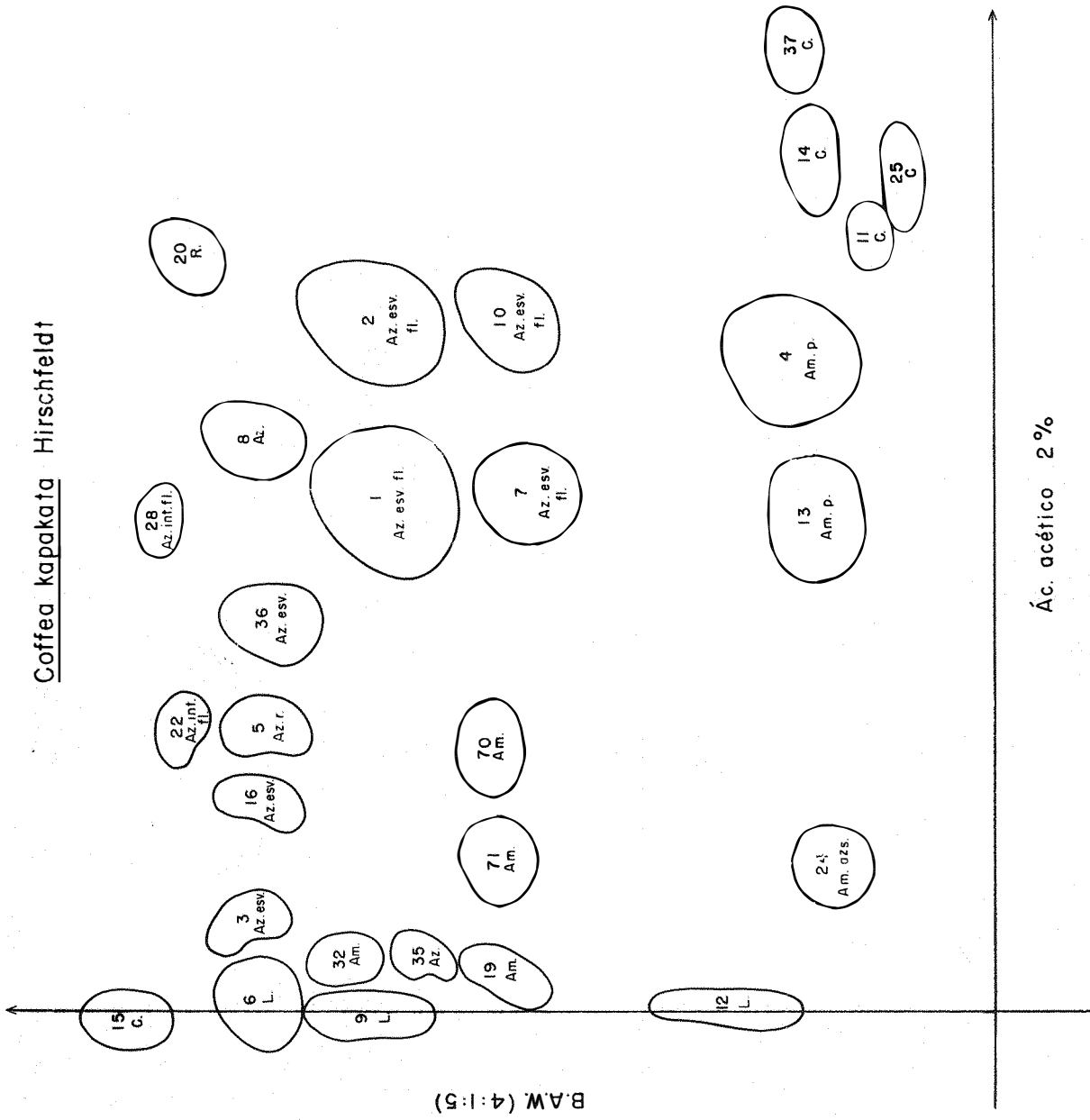


Fig. 11

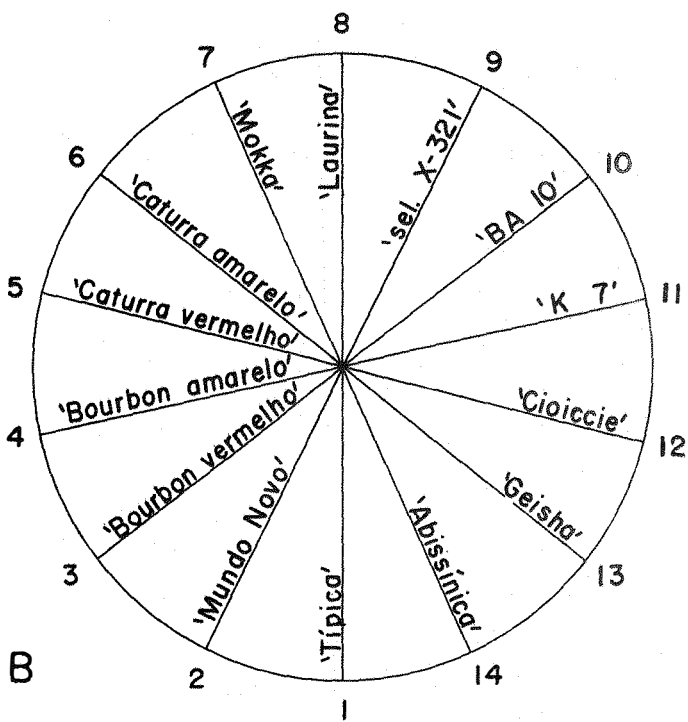
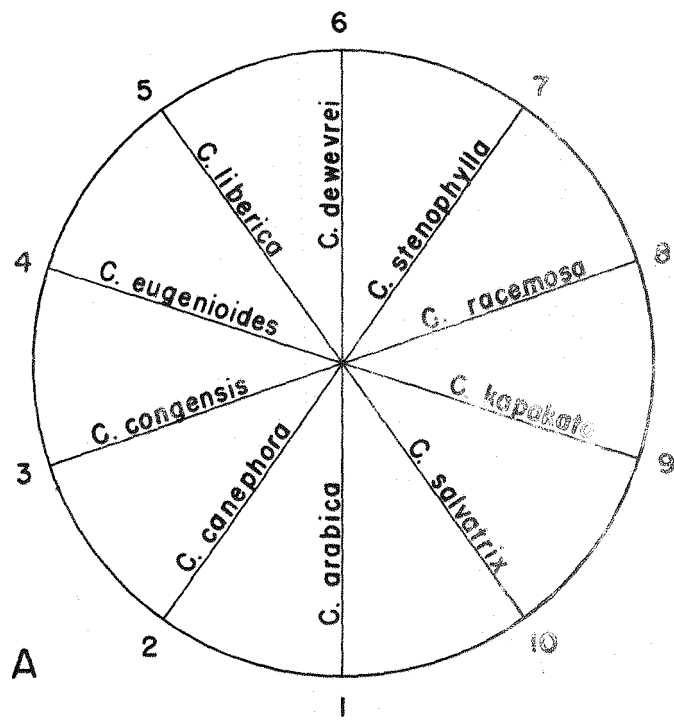
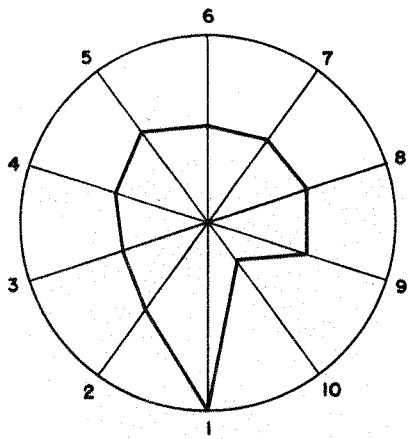
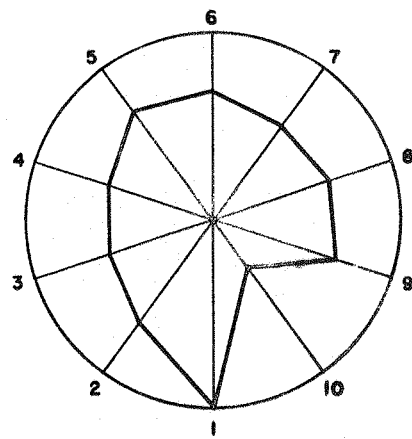


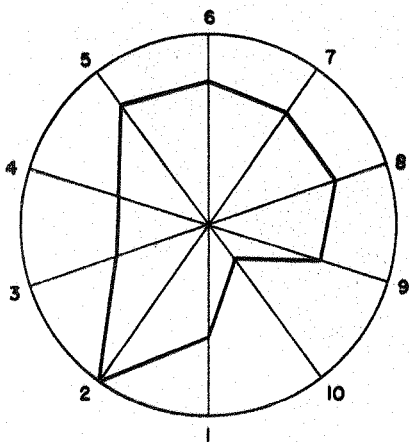
Fig. 13



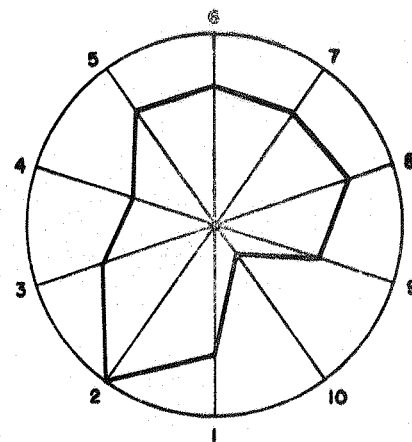
a- C. arabica cv. Abissínica



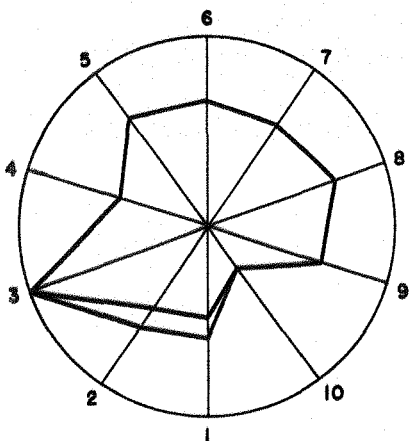
b- C. arabica cv. Típica



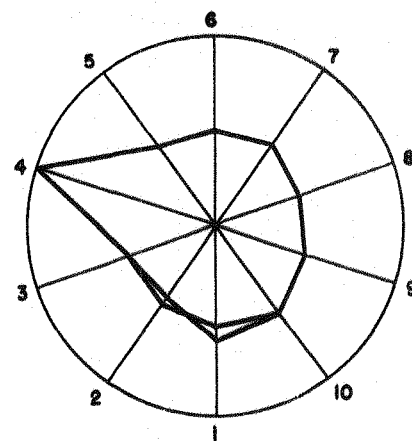
c- C. canephora cv. Kouillou



d- C. canephora cv. Robusta

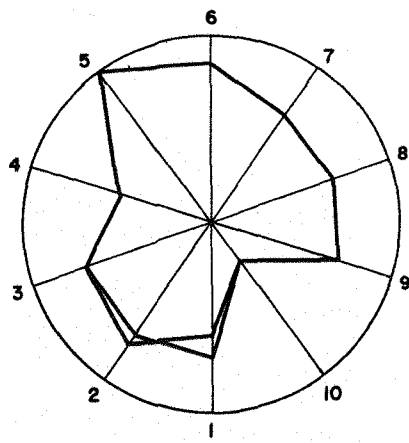


e- C. congensis

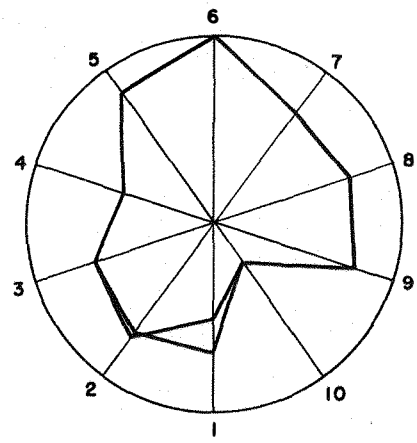


f- C. eugenioides

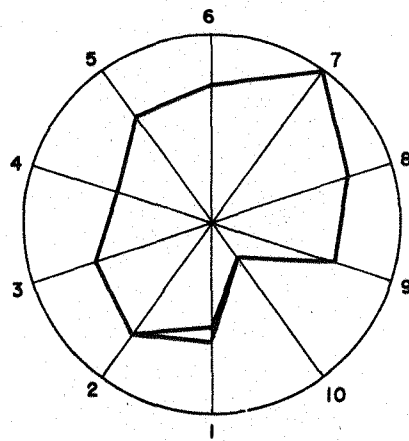
Fig. 14



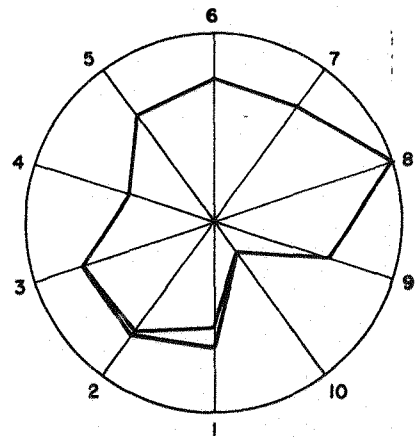
g- C. liberica



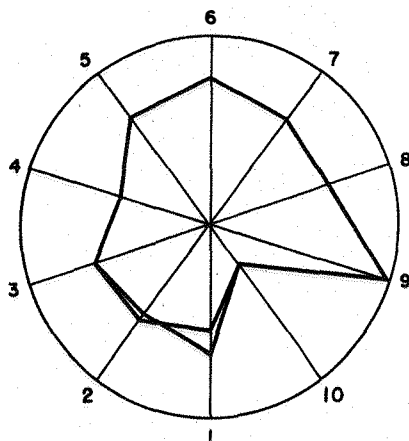
h- C. dewevrei cv Dewevrei



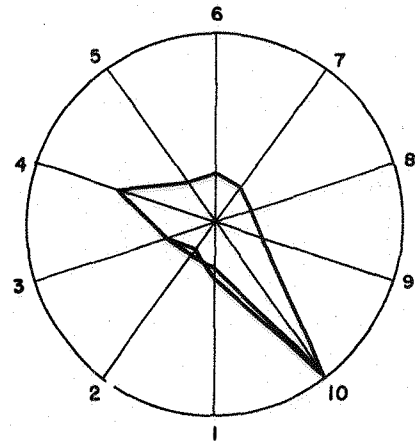
i- C. stenophylla



j- C. racemosa



l- C. kapakata



m- C. salvatrix

Fig. 15

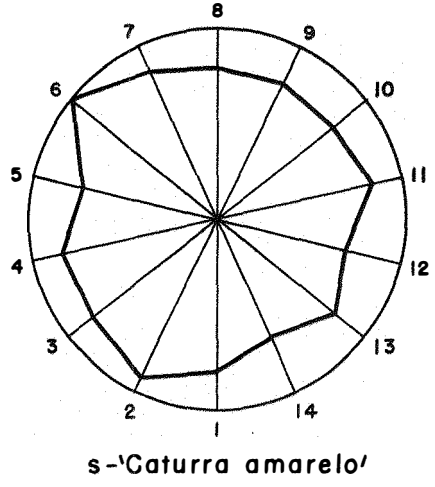
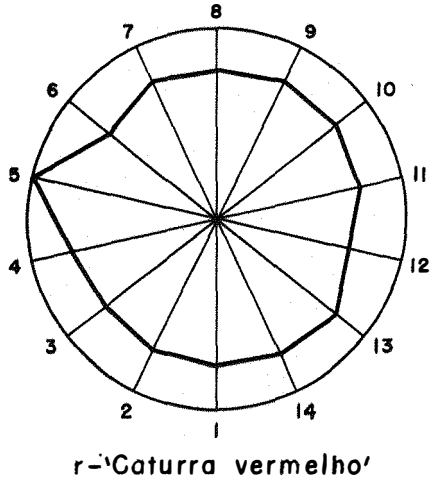
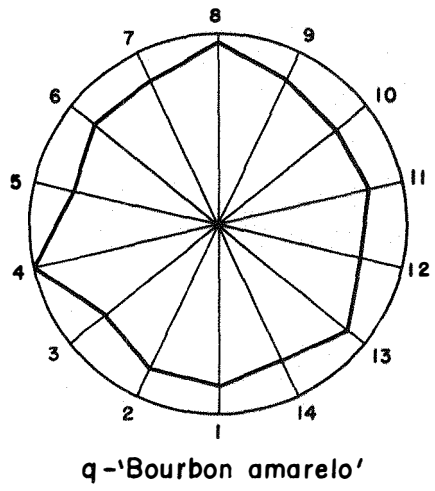
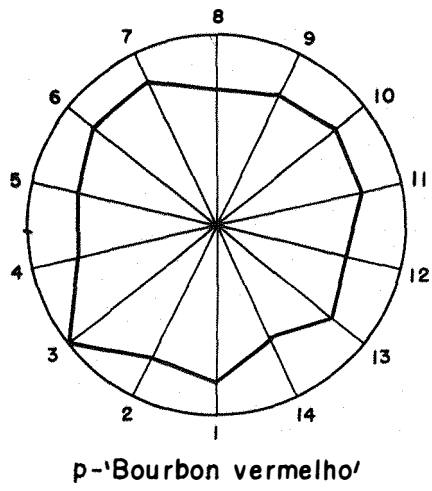
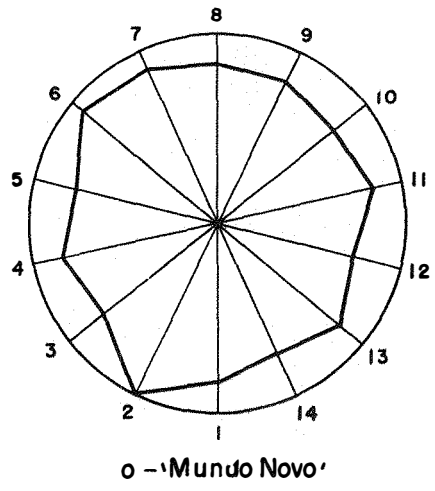
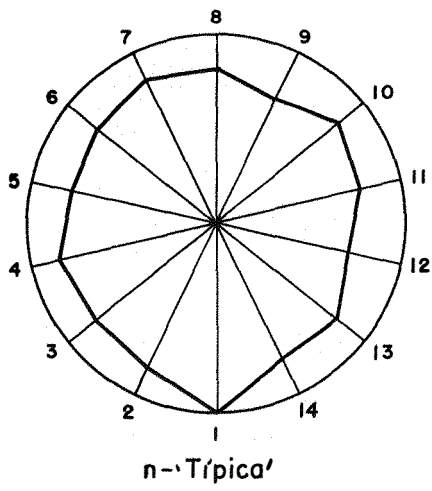
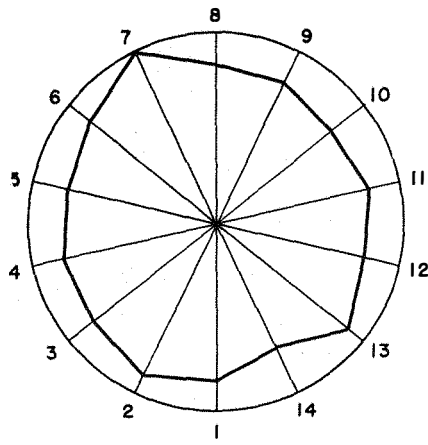
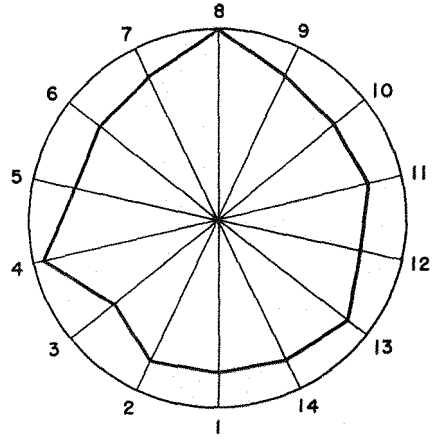


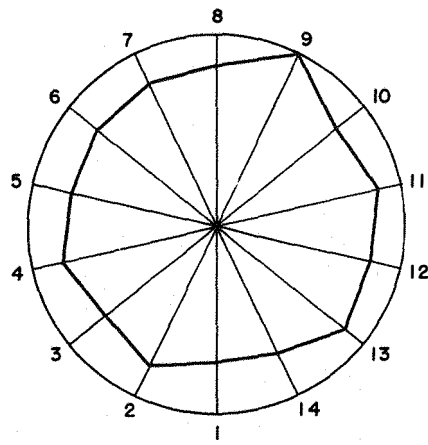
Fig. 16



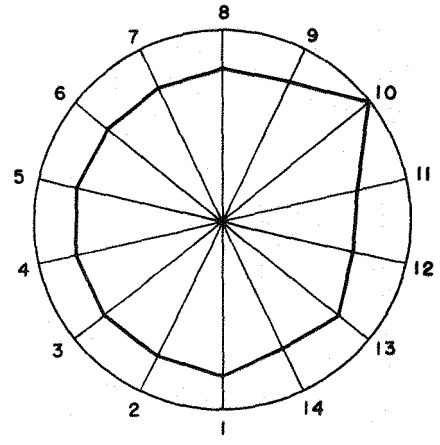
t - 'Mokka'



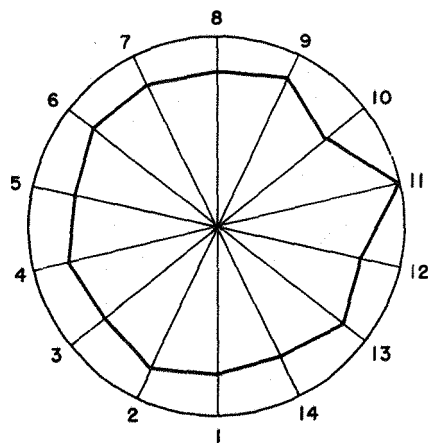
u - 'Laurina'



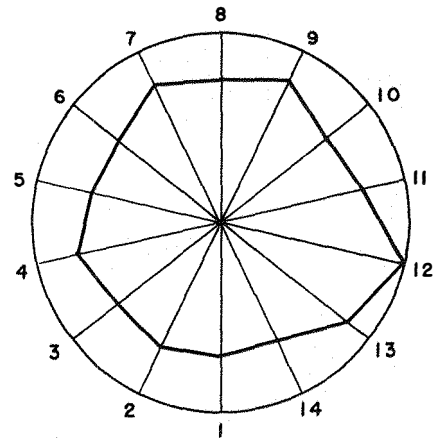
v - 'sel. x-321'



x - 'BA 10'



z - 'K 7'



a' - 'Cioiccie'

Fig. 17

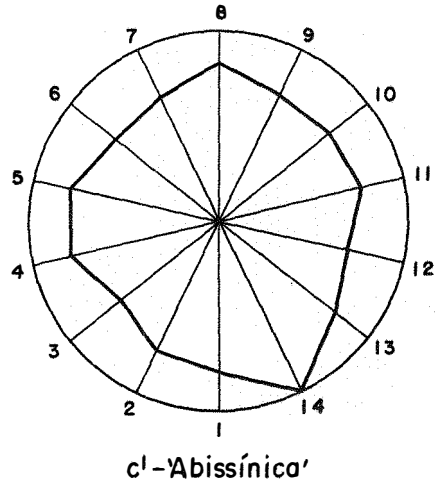
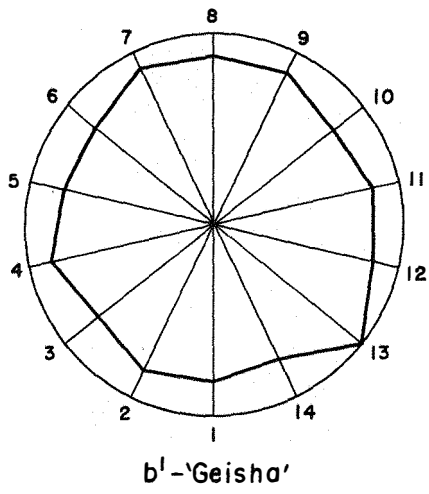


Fig. 18