

Antes de Mendel: Joseph Koelreuter e as pesquisas de hibridização de plantas

A close-up photograph of a pink flower, likely a pea flower, with a prominent green stamen in the center. The petals are light pink with darker pink veins. The background is a soft, out-of-focus green and blue, suggesting an outdoor setting.

Maria Elice de Brzezinski Prestes¹, Lilian Al-Chueyr Pereira Martins²

¹ Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.

² Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

Autor para correspondência: eprestes@ib.usp.br

Não é raro que se considerem alguns dos personagens da história da ciência como fundadores de áreas de pesquisa ou de disciplinas novas. O caso de Gregor Mendel, muitas vezes considerado o fundador da Genética, é um exemplo clássico disso. Há muito, a historiografia da ciência combate essa ideia porque ela pouco informa sobre como a ciência funciona de fato. Por exemplo, quando se afirma que uma pessoa sozinha é responsável pela emergência de uma nova área; ou de que um fato particular, como a apresentação de um trabalho em um congresso, a publicação de um artigo ou livro, ou a enunciação de um conceito, seja igualmente a causa única da construção de um dado conhecimento científico. Cada estudioso, assim como cada trabalho produzido, está sempre inserido em um contexto amplo que abrange não apenas interlocutores e tradições de estudo, como também aspectos sociais, políticos e econômicos de cada época. Buscando esse contexto, neste artigo será discutida a vertente de estudos da qual o trabalho de Mendel é tributário, sem que se pretenda diminuir a importância e a originalidade de sua contribuição.

O termo **hibridização** é aqui utilizado no sentido empregado por Mendel e seus antecessores e contemporâneos, incluindo tanto cruzamento de espécies como de variedades pouco diferentes (MARTINS, 1997, p. 3-3). No século anterior, Carl von Linné (1707-1778), por exemplo, considerava que qualquer planta que apresentasse caracteres intermediários entre aqueles de duas outras espécies bem conhecidas, seria um híbrido, uma nova espécie (OLBY, 1985, p. 3).

Pronuncia-se “**Bruno**”, em checo, embora a cidade também seja referida em outras línguas, como “Brünn”, em alemão (Wikipedia). Foi na vizinhança de Brno que se travou a Batalha de Austerlitz em 1805. Devido a sua posição geográfica e política estratégica, em 1809, foi escolhida pelo imperador francês Napoleão Bonaparte para pouso de suas tropas em meio à campanha contra Moscou, passagem descrita no romance *Guerra e Paz*, de Leon Tolstói.

A contribuição de Gregor Mendel (1822-1884) para os estudos da hereditariedade é bastante conhecida. No entanto, ainda que o tema já tenha sido muito discutido entre historiadores da Genética, é menos difundida a inserção de Mendel na tradição de trabalhos de **hibridização** de plantas, realizados nos séculos XVIII e XIX.

Conhecer esse contexto é o caminho para desconstruir a imagem historicamente equivocada a respeito de Mendel como uma figura isolada, seja científica, seja geograficamente (OLBY, 1985); (GLIBOFF, 2015). O mosteiro Agostiniano de St. Thomas em que Mendel desenvolveu seus experimentos não ficava em um recôndito desconhecido da Europa Central, mas na cidade histórica de **Brno** – desde o século XI, um centro político importante da **Moravia**. Por outro lado, o trabalho de Mendel deve ser considerado dentro dos padrões da ciência de sua época. Ele se inseria na comunidade botânica bastante ativa da Moravia dos anos 1850 (ROBERTS, 1929); (GLIBOFF, 1999).

Divisão administrativa independente desde o século XIV, a **Moravia** passou a ser governada como um domínio da coroa do Império Austríaco em 1804, passando ao Império Austro-húngaro em 1867. Em 1918 foi incorporada à Tchecoslováquia, tornada República Checa, em 1993. Embora tenha deixado de ser uma unidade de território em reforma administrativa do governo comunista em 1949, ainda é reconhecida como uma região específica na República Checa, cujos habitantes reconhecem sua identidade Moravia.

Foi o próprio Mendel quem anunciou os interlocutores, antecedentes e contemporâneos, no início do seu muito conhecido artigo de 1866, “Experimentos de hibridização de plantas”:

“A esse assunto, [isto é, experimentos com fertilização artificial de plantas] numerosos observadores cuidadosos, tais como Koelreuter, Gaertner, Herbert, Lecoq, Wichura e outros devotaram parte de suas vidas com perseverança incansável. (MENDEL [1866], 1996, p. 1)”

Não são apenas os resultados obtidos nos experimentos desses “observadores cuidadosos” que interessaram a Mendel; mais que isso, discutiu também as questões elaboradas por eles e adotou alguns dos métodos dos mesmos. Esses vínculos amplos permitem elucidar o seu envolvimento com as diversas comunidades botânicas inter-relacionadas da época, desde os criadores que desenvolviam práticas de melhoramento, até os hibridistas experimentais e acadêmicos (GLIBOFF, 2015).

Neste artigo, essa tradição de pesquisa será ilustrada pelo trabalho efetuado pelo primeiro dos investigadores, ou seja, Koelreuter, mencionado por Mendel na passagem citada anteriormente. Para introduzir tal estudo, será retomado, brevemente, o contexto teórico que o motivava: a proposição da existência de uma reprodução sexuada nas plantas. Antes porém, consideramos importante apresentarmos Joseph Gottlieb Koelreuter (1733-1806) ao leitor.

Koelreuter desenvolveu os estudos em Tübingen e Strasbourg. Em 1756 foi para St. Petersburg onde se dedicou à classificação de peixes das coleções da Academia Imperial de Ciências durante três anos. Somente em 1759, iniciou os estudos a respeito da **hibridização de plantas**. Dois anos mais tarde voltou para Sulz e depois se mudou para Calw (Württemberg). Foi nomeado diretor dos *Jardins ducais* em Karlsruhe e Professor de História Natural. Seis anos depois abandonou esses cargos devido à interferência dos funcionários. Devido a eles, teve os experimentos comprometidos. Deu prosseguimento a tais experimentos em seu próprio jardim até 1790 (STUBBE, 1972, p. 99).

A REPRODUÇÃO SEXUADA DAS PLANTAS

O interesse de estudiosos do início do século XVIII pela formação de híbridos em plantas foi movido, em parte, pelo estabelecimento da reprodução sexual nesse grupo de seres vivos. É bastante conhecido o fato de que, em 1735, no seu *Systema naturae*, Carl von Linné (1707-1778) tinha proposto o sistema de classificação de plantas com base nos órgãos sexuais. A aceitação desse tipo de reprodução em vegetais foi objeto de longa discussão, que não apenas antecedeu, mas se seguiu a essa e outras publicações de Linné (MAGNIN-GONZE, 2004); (PRESTES, OLIVEIRA, JENSEN, 2009).

Evidências experimentais esclarecendo a reprodução sexuada das plantas haviam sido publicadas pelo professor e diretor do Jardim Botânico de Tübingen, Alemanha, Rudolf Jacob Camerarius (1665-1721) quase quatro décadas antes, em 1694, na *De sexu plantarum epistola* (Carta sobre o sexo das plantas). Esse trabalho, contudo, foi pouco citado pelos botânicos das décadas seguintes.

O tema ganhou maior difusão após ter sido tratado em discurso no Jardim do Rei, em Paris, em 1717, pelo médico e botânico francês Sébastien Vaillant (1669-1722) – e sem menção a Camerarius. O próprio Linné, em *Fundamenta botanica* (Fundamentos botânicos), de 1736, sustentava a existência de sexo nas plantas com base apenas em observações anatômicas, conjecturas teóricas e analogia com os animais:

“Que a linhagem não provém apenas do ovo ou só do líquido seminal, mas que ela procede de um e de outro, é provado pelos animais híbridos, pela razão, pela anatomia. (LINNÉ [1736], 2005, P. 201)”

A questão permaneceu em debate. Botânicos renomados da época se negaram a aceitá-la, como o italiano Giulio Pontedera (1688-1757) e o francês Joseph Pitton de Tournefort (1656-1708). Em 1759, a Academia de Ciências de São Petersburgo ofereceu um prêmio para um ensaio que confirmasse ou refutasse o sexo das plantas por meio de argumentos e experimentos novos. **Linné**

É importante mencionar que já no início do século XVIII tanto jardineiros como botânicos ingleses relatavam o surgimento de **híbridos** como, por exemplo, Cotton Mather (1663-1728) que descreveu os resultados de cruzamentos com diferentes variedades de milho (STUBBE, 1972, p. 101).

O ensaio de **Linné** menciona as plantas híbridas obtidas por polinização cruzada provocada, como a barba de bode (*Tragopogon pratensis* X *T. porrifolius*), como embasamento de suas ideias.

Koelreuter contrapunha essas ideias de Wilhelm Friedrich Gleichen Russworm (1717-1783), cujas observações microscópicas levaram-no a considerar que os **grãos de pólen** eram correspondentes aos espermatozoides dos animais e penetram nos óvulos promovendo modificações sucessivas até que se transformam em embriões (SACHS [1875], p. 404; 411, 1906).

Mais tarde, contudo, novos experimentos fizeram-no recuar da ideia de que a **umidade do estigma** fosse o princípio feminino (SACHS [1875], pp. 411-412, 1906).

A descoberta do **tubo polínico**, em 1823, foi o passo mais importante para eliminar as dúvidas sobre a fertilização sexual das plantas superiores (MORTON, 1981, p. 394).

Pré-formação é a teoria de que um organismo, em certo sentido, está pré-formado desde sua origem, precisando apenas desenvolver-se. **Epigênese**, ao contrário, é a ideia de que o organismo emerge gradualmente no processo embriológico.

Koelreuter concluiu, com os resultados de seus experimentos, que se os pólenes da própria espécie e de outra espécie chegam simultaneamente a um estigma, apenas o primeiro o fecunda, explicando por essa razão por que os híbridos artificiais não são encontrados na natureza.

Plantas híbridas foram obtidas antes de 1719 pelo correspondente de Linné, Thomas Fairchild (?1667-1729), a partir de duas espécies de cravo, *Dianthus caryophyllus* e *D. barbatus* (OLBY, , p. 18, 1985).

ganhou o prêmio (OLBY, 1985, p. 4). Posteriormente, novas e mais detalhadas evidências experimentais foram fornecidas pelo botânico alemão Joseph Gottlieb Koelreuter (1733-1806).

OS EXPERIMENTOS DE HIBRIDIZAÇÃO DE PLANTAS DE KOELREUTER

A reprodução sexuada de plantas dividiu os botânicos em diferentes tipos de investigação. Uns procuravam estabelecer se o pólen era necessário à formação das sementes, confirmando a existência da reprodução sexuada; outros, tomando-a por certa, dedicavam-se a estabelecer o modo pelo qual o pólen fecundava o óvulo. Neste segundo grupo, estavam os estudos de Joseph Gottlieb Koelreuter.

Eliminar as dúvidas sobre a fertilização sexual nas flores demandava, entre outros aspectos, estabelecer como seria o contato material entre o elemento feminino e o masculino. Naquela época, o **tubo polínico** não era conhecido. Koelreuter concentrou-se em determinar a quantidade de pólen que é requerida para a fertilização de um ovário e comparou-a com o número de grãos de pólen de uma flor particular. Descobriu que o número necessário de grãos de pólen para que a fertilização ocorresse era bem menor do que aquele disponível numa flor. Entre outras flores estudadas, no caso *Hibiscus venetianus*, contou 4.863 grãos de pólen e considerou apenas entre 50 e 60 grãos como suficientes para promover mais de 30 sementes férteis no ovário. Também estudou as formas pelas quais o pólen das anteras chega aos estigmas, incluindo a ação do vento e dos insetos.

De suas observações microscópicas do grão de pólen, afirmou que era composto de duas cascas distintas, sendo, a externa, elástica e dotada de espinhas e rugosidades e, a interna, de projeções cônicas que explodiam e liberavam o conteúdo. Supôs então que esse conteúdo era um “tecido celular” e que a substância fertilizante era o óleo formado no seu interior de onde extravasava por finas passagens da casca e aderira ao lado de

fora dos **grãos** (Sachs [1875], 1906, pp. 410-411). Considerando que o óleo desempenhava o papel fertilizante, usou as noções da química de sua época. Recusou a ideia de que os grãos de pólen, eles próprios, alcançassem o ovário. Então afirmou:

“Tanto as sementes masculinas quanto a umidade feminina do estigma são de natureza oleosa, então, quando entram em contato ocasiona-se uma união íntima entre as duas e se forma uma substância que, se a fertilização ocorrer, deve ser absorvida pelo estigma e transportada através do estilete até os assim chamados óvulos ou germes não fertilizados.” (Koelreuter, 1761, apud Sachs [1875], 1906, p. 411)

Ou seja, para ele a fertilização ocorria no estigma e a substância mista ali produzida, dos **óleos femininos** e masculinos, era conduzida aos ovários onde produziam os embriões na semente.

Note-se que, assumindo a fertilização como a produção de uma substância nova a partir da mistura dos líquidos masculino e feminino, Koelreuter estava se opondo a uma teoria de reprodução difundida na época, a **pré-formação**, seja ovista, seja animalculista, e se colocando favorável à **epigênese**.

Koelreuter não duvidava da possibilidade da produção de híbridos, mas considerava que a natureza possuía modos de evitá-los. Dedicou-se a descobrir quais eram esses mecanismos ocultos (OLBY, 1985, p. 10). Para isso, procurou obter plantas híbridas e passou a examinar a fertilidade das mesmas. Conseguiu o primeiro intento com **plantas de tabaco**, no outono de 1760.

Descreveu os resultados obtidos em um pequeno livro publicado no ano seguinte, *Vorläufige Nachricht von einigen, das Geschlecht der Pflanzen betreffenden Versuchen* (Notícia preliminar de experimentos e observações sobre alguns aspectos do sexo das plantas), relatando nada menos que 65 experimentos de hibridização e investigações sobre o mecanismo de polinização e fertilização. Entre 1761 e 1766, publicou novos artigos em que a soma de experimentos realizados subiu para 500 hibridizações de diferentes

plantas, envolvendo 138 espécies. Além disso, examinou a forma, cor e o tamanho de grãos de pólen de 1.000 espécies diferentes de plantas (OLBY, 1985, p. 5). Esses números contribuem para ilustrar como a investigação realizada por ele era um exemplo de que o método experimental guiava estudos sobre o funcionamento dos organismos vivos no século XVIII (PRESTES, 2007); (MELI, 2011, p. 269).

O primeiro híbrido foi obtido ao colocar o pólen de *Nicotiana paniculata* no estigma de *N. rustica*, produzindo uma planta perfeita. Contudo, ao caírem as flores não geraram frutos nem sementes, diferentemente das plantas originais que produziam cerca de 50.000 sementes – contrastando-se a fertilidade das espécies puras com a esterilidade do híbrido. Percebeu então que as formas híbridas, além de estéreis, eram intermediárias entre as formas parentais.

Koelreuter multiplicou então suas observações e experimentos de **híbridização**. Examinou os grãos de pólen das flores da planta híbrida ao microscópio percebendo que os mesmos estavam encolhidos, praticamente sem fluídos materiais em seu interior, não passando de cascas vazias. Os grãos de pólen estavam, portanto, claramente estéreis. Então, investigou se o mesmo ocorria com os ovários. Para isso, polinizou ovários de plantas híbridas com o pólen das espécies originais (retro-cruzamento, como chamado hoje). O resultado mostrou a fertilidade dos ovários e a formação de novas plantas (hoje, híbridos F1). Novamente, testou a fertilidade dessa geração, promovendo a autopolinização. Com tal procedimento, obteve **nova geração** de plantas (hoje, híbridos F2).

Com esses estudos, pela primeira vez na história da Biologia, segundo Robert Olby, “descrições confiáveis e acuradas de produção de híbridos e seus descendentes são disponibilizadas” (OLBY, 1985, p. 11). Koelreuter ainda comparou o forte contraste entre as duas gerações híbridas obtidas: as plantas obtidas pelo cruzamento de duas espécies distintas (híbridos F1) eram muito semelhantes entre si, manifestando na maioria de seus caracteres aspecto intermediário

entre as duas espécies originais. Por sua vez, do cruzamento desses primeiros híbridos com uma das espécies originais nasceram plantas (híbridos F2) bem diferentes entre si, que se pareciam mais com uma, ou com outra das espécies originais do que com os híbridos dos quais eram originários.

Mais tarde, e em contraste a Mendel que procurava explicar esse contraste entre as duas gerações em termos citológicos e estatísticos, Koelreuter adotou uma perspectiva teológica e fez analogias alquímicas. Naquela época já havia conhecimento de que da reação entre um ácido e um álcali formava-se um sal – que não é nem ácido nem alcalino, mas neutro, ou seja, um intermediário, como ocorria na planta híbrida F1. Ele também estendia a analogia alquímica para explicar a variabilidade e combinações possíveis das gerações subsequentes. Por outro lado, a uniformidade e aparência intermediária do híbrido F1 eram evidências da perfeição do ato de criação divina que só era quebrada pela intervenção humana ao provocar essas combinações híbridas não naturais. Dessa forma, considerava ainda que seus experimentos não refutavam a doutrina da fixidez das espécies.

Em alguns casos, Koelreuter ainda encontrou que os híbridos F2 eram comumente de três tipos: os que se pareciam com as espécies avós, os que se pareciam com os pais F1 e os parecidos com as espécies avós. Em termos gerais, pode-se dizer que Koelreuter reconheceu, em termos qualitativos, as três classes de segregação que, mais tarde, Mendel encontrou na proporção 1:2:1 (OLBY, 1985, p. 14).

Koelreuter submeteu seus resultados experimentais à análise de Linné. Mas nem o naturalista sueco, nem seus discípulos e a escola de sistematas do final do século XVIII encamparam suas descobertas sobre os híbridos na literatura que produziram. Foi apenas posteriormente que os estudos de Koelreuter, assim como os de Camerarius, acabaram **reconhecidos** como os que mais subsidiaram as leis gerais da reprodução sexuada de plantas e da função sexual das flores, contribuindo para o estabelecimento da existência desse tipo de reprodução vegetal.

Em 1763, ele descreveu um número considerável de **híbridos** dos gêneros *Nicotiana*, *Kedmia*, *Dianthus*, *Matthiola*, *Hyoscyamus* e outras plantas.



Koelreuter promoveu ainda **experimentos de híbridos** até a quinta geração, assim como experimentos de reversão de híbridos à forma original, pelo uso repetido de seu próprio pólen. Ele considerava que apenas plantas próximas, e mesmo assim, nem sempre, eram capazes de reprodução sexual.

Os trabalhos de Camerarius e Koelreuter ficaram **mais conhecidos** quando reunidos pelo professor de Botânica em Praga, Johann Christian Mikan (1769-1844) no livro R. J. Camerarius *Opuscula Botanici Argumenti*, de 1797 (SACHS [1875], p. 385, 1906).

CONCLUSÕES

Apesar de Koelreuter ter sido bem sucedido em obter híbridos em cruzamentos experimentais com outros gêneros e espécies vegetais como, por exemplo, *Diantus*, *Mathiola*, *Hibiscus*, *Datura*, dentre outros, chegando a resultados semelhantes ao do tabaco com os “retrocruzamentos”, o impacto e a aceitação dos mesmos foram muito baixos. Por exemplo, F. J. Shelver e A. Henschel duvidaram da autenticidade de tais resultados. Os dois estudiosos eram contrários à ideia da sexualidade das plantas e ofereceram outra explicação para os resultados encontrados (STUBBE, 1972, p. 103).

Houve, contudo, os que prosseguiram nessa linha de investigação como Joseph Gaertner (1732-1791) e seu filho Carls Friedrich Gaertner (1772-1850). É dentro da tradição desses e outros autores como Max Ernst Wichura (1817-1866) e Charles Victor Naudin (1815-1899) que se insere o trabalho de Mendel.

Tanto a recepção das contribuições de Koelreuter no século XVIII, como as de Mendel no século XIX, mostram que, muitas vezes, as ideias de alguns autores não são compreendidas em sua plenitude à época de sua concepção, apesar de se enquadrarem como atividade científica, serem conhecidas, publicadas em veículos relevantes, mas encerrarem aspectos que só são compreendidos posteriormente.

Neste artigo foi mostrado o exemplo de um trabalho dentro de uma linha de investigação adotada em meados do século XVIII que teve representantes em meados do século XIX, incluindo Mendel, ou mesmo posteriormente, no século XX, como William Bateson (1861-1926), por exemplo (MARTINS, 2002).

REFERÊNCIAS

- GLIBOFF, S. The Mendelian and Non-Mendelian Origins of Genetics. *Filosofia e História da Biologia*, v. 10, n. 1, p. 99-123, 2015.
- GLIBOFF, S. Gregor Mendel and the Laws of Evolution. *History of Science*, v. 37, p. 217-235, 1999.
- KING, R. C.; STANSFIELD, W. D. *Dictionary of Genetics*. 5a ed. New York: Oxford University Press, 1997.
- MAGNIN-GONZE, J. *Histoire de la botanique*. Paris: Delachaux et Niestlé, 2004.
- MARTINS, L. A.-C. P. *A teoria cromossômica da herança: proposta, fundamentação, crítica e aceitação*. Campinas, 1997. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.
- MARTINS, L. A.-C. P. Bateson e o programa de pesquisa mendeliano. *Episteme*, v. 14, p. 27-55, 2002.
- MELI, D. B. *Mechanism, Experiment, Disease: Marcello Malpighi and Seventeenth-Century Anatomy*. Baltimore: The John Hopkins University Press, 2011.
- MENDEL, G. *Experiments in plant hybridization* [1865]. Tradução de William Bateson, revista por Roger Blumberg. MendelWeb Project. Disponível em <http://www.mendelweb.org/> Acesso em 22/05/2016.
- MORTON, A. G. *History of Botanical Science. An account of the development of Botany from ancient times to the present day*. London: Academic Press, 1981.
- OLBY, R. C. *Origins of mendelism* [1966]. Chicago: University of Chicago Press, 1985.
- PRESTES, M. E. B. *A biologia experimental de Lazzaro Spallanzani (1729-1799)*. São Paulo, 2003. 401 p. Tese (Doutorado em Educação) – Faculdade de Educação da Universidade de São Paulo.
- PRESTES, M. E. B., OLIVEIRA, P., JENSEN, G. M. As origens da classificação de plantas de Carl von Linné no ensino de Biologia. *Filosofia e História da Biologia*, v. 4, p. 101-137, 2009.
- ROBERTS, H. F. *Plant hybridization before Mendel*. Princeton: Princeton University Press, 1929.
- SACHS, J. *History of Botany (1530-1860)*. Authorized translation by Henry E. F. Garnsey. 2ª imp. Oxford: Clarendon Press, 1906.
- STUBBE, H. *History of genetics: from prehistoric times to the rediscovery of Mendel's laws*. 2ª ed. Trad. Trevor Waters. Harvard: The MIT Press, 1972.

