

BROTÉRIA GENÉTICA

REVISTA QUADRIMESTRAL

ÓRGÃO DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA



CONSELHO DE REDACÇÃO :

Prof. Dr. Luís J. Archer (Director e Proprietário)
Dr. João Salavessa (Secretário)
Prof. Dr. Jorge Antunes-Correia
Prof. Dr. Miguel Pereira Coutinho
Eng.º Tristão Mello-Sampayo
Prof. Dr. Luís Sieuve Monteiro
Prof. Dr. Amândio S. Tavares

ADMINISTRADOR : Januário Geraldes

CONDIÇÕES DE ASSINATURA :

Portugal: Esc. 300\$00 (Esc. 220\$00 para membros da Sociedade Portuguesa de Genética).
Países de expr. portuguesa: Dol. \$7.00
Outros Países: Dol. \$12.00
Número avulso: Esc. 100\$00

REDACÇÃO E ADMINISTRAÇÃO :

BROTÉRIA GENÉTICA
R. Maestro António Taborda, 14
1293 LISBOA CODEX
Telef. 66 16 60

Composto e Impresso nas oficinas gráficas da Editorial Império, Lda.
Rua do Salitre, 155, 1.º — Telef. 57 31 73 — 1296 Lisboa Codex — Portugal

ÍNDICE

IN MEMORIAM

- Homenagem à memória do Prof. António de Sousa da Câmara 7
por *Miguel P. Coutinho*

TEMAS EM FOCO

- Os «perigos» da engenharia genética 11
por *Luís J. Archer*
- Grandes grupos, genética e evolução 13
por *A. Madeira Lopes*

ARTIGOS GERAIS E DE REVISÃO

- O problema dos oligoelementos em Biologia, I. 15
por *Juana Warden*
- Hidrocefalia — problemas na determinação dos tipos de hereditariedade 37
por *Maria Teresa Lavandeira Pimenta*
e *M.^a da Purificação V. Sampaio Tavares*

ARTIGOS DE INVESTIGAÇÃO

- Cytogenetic studies on *Chorthippus jucundus* (Fish.) (*Orthoptera: Acrididae*).
I. Heterochromatic segments in Spanish wild populations. 41
por *J. Gosálvez, C. Garcia de la Vega, C. López and J. S. Rufas*
- Polyphenoloxidase isozymes in coffee plants differing in a single gene for resistance to *Hemileia Vastatrix* 51
por *M. Eduarda M. Guedes*
- A novel method for the analysis of active chromosomal loci by an endogenous technique (EHT) 57
por *Maurly Miranda, M. L. Garcia and Carlos Alonso*

NOTAS E NOTÍCIAS

- XVII Jornadas Luso--Espanholas de Genética e I Jornadas de Genética Médica 65
- Ficheiro dos membros da Sociedade Portuguesa de Genética 67



Kamou

(Fotografia de M. Noronha-Wagner)

HOMENAGEM À MEMÓRIA DO PROF. ANTÓNIO DE SOUSA DA CÂMARA

Miguel P. Coutinho

Em 6 de Janeiro último realizou-se no auditório da Estação Agronómica Nacional, em Oeiras, organizada pela Sociedade de Ciências Agrárias de Portugal, uma sessão de homenagem à memória do Prof. António de Sousa da Câmara, coincidindo essa data com o 80.º aniversário do seu nascimento.

Poucas iniciativas se podem considerar tão plenas de justiça como esta de homenagear a memória de quem foi um dos mais destacados valores da classe agronómica, numa acção multifacetada de professor, cientista, investigador, agrónomo, organizador e chefe, no verdadeiro sentido da palavra.

Terminou o seu curso de Engenheiro Agrónomo no Instituto Superior de Agronomia em 1925, com a alta classificação final de 17 valores e nesse mesmo ano foi convidado para assistente desse Instituto, no grupo da «Agricultura Geral».

Ao fim de pouco tempo a sua acção dinâmica fazia sentir-se em especial na Secção de culturas arvenses e na Oficina de Máquinas que veio a constituir a futura Estação de Cultura Mecânica de que o Prof. António Câmara foi o primeiro Director.

O número e a responsabilidade das missões que lhe foram atribuídas pelo Ministério da Agricultura traduzem bem o relevo do seu prestígio no plano agrícola do país e a confiança que lhe era depositada pela sua competência profissional, que se evidenciou numa forma clara na chamada «Campanha do Trigo», enquanto chefe do Gabinete do Ministro Linhares de Lima.

Mas o nível científico de António Câmara atingiu o expoente mais elevado particularmente no âmbito da *Citogenética* e pode dizer-se que o seu interesse pela Genética despertou pela existência do «Curso de Thrematologia», iniciado em 1920, no Grupo de disciplinas a que estava ligado, pelo que o Instituto Superior de Agronomia se podia orgulhar de ser o primeiro Estabelecimento de Ensino Superior a incluir uma disciplina sobre Genética no seu quadro curricular.

A regência desse curso foi-lhe atribuída pela primeira vez no ano lectivo de 1926-27 e, com a sua preparação geral de biologia e alta capacidade de utili-

zação bibliográfica, rapidamente foi adquirindo conhecimentos seguros no âmbito da genética; no entanto, Câmara sentia que, para uma verdadeira especialização lhe era indispensável adquirir junto de Centros de Investigação categorizados, a técnica e a experiência de laboratório que a bibliografia não podia fornecer.

Já como Professor Catedrático, lugar de que tinha tomado posse em 1931, esteve largos meses em Edimburgo, junto do Prof. Koller e seguidamente no «John Innes Institut», em Londres e quatro anos mais tarde trabalhou durante cerca de 6 meses na Alemanha, no «Wilhelm Kaiser Institut», onde o Departamento de Genética era chefiado pelo conhecido Prof. Baur.

Foi ao regressar dos estágios efectuados em 1932/33 em Edimburgo e em Cambridge que iniciou no Instituto os trabalhos de Citogenética no que chamava o seu «Laboratório de Genética». Consegue algum pessoal auxiliar e começa a atrair a si os primeiros colaboradores. Os meios de que dispunha eram muito modestos e as verbas atribuídas muito reduzidas, mas traduziam o interesse do Instituto e da Direcção Geral dos Serviços Agrícolas em auxiliar o desenvolvimento dos estudos da *Genética Vegetal*, como base científica indispensável ao melhoramento das plantas. Tirou pleno partido de todos os estágios no estrangeiro, incluindo um realizado mais tarde na Universidade de Missouri, junto do conhecido Prof. Sears, pois todos eles contribuíram fortemente para a definição do seu sector de especialização, como se reconhece facilmente pela lista das suas publicações, e fortaleceram contactos que muito vieram a beneficiar a preparação científica de alguns dos seus colaboradores.

Foi do desenvolvimento deste núcleo formado no ISA que resultou o verdadeiro embrião daquilo que a sua inteligência, extraordinária força de vontade, segura determinação e consciência plena dos objectivos a atingir, transformaram na Estação Agronómica Nacional, onde no seu *Departamento de Genética* criou escola científica de indiscutível valor, que adquiriu plano internacional.

Incrementou com entusiasmo a investigação agronómica durante os 22 anos em que dirigiu a Estação e, na preocupação de difundir os trabalhos aí realizados, fundou em 1939 a revista «Agronomia Lusitana» e organizou em 1943 o «I Congresso Nacional de Ciências Agrárias».

A sua actividade cedo despertou o interesse dos dirigentes do «Consejo Superior de Investigaciones Científicas» de Espanha e o prestígio que aí alcançou teve largo reflexo no desenvolvimento da investigação científica sobre genética, nesse país.

Convidado para membro do «Consejo» para dirigir o Laboratório de Citogenética «J. C. Mutis» de Madrid e para Membro de Honra do Patronato «Alonso Herrera» em que se encontrava incluída a Estação Experimental de «Aula Dei», de Saragoça, ficou consolidado um intercâmbio científico no âm-

bito da Genética, que culminou em 1949 com a publicação da primeira revista espanhola de Genética, a «Genética Ibérica», de que António Câmara foi o primeiro director.

No desempenho do papel de orientador que lhe foi atribuído, Sousa da Câmara permanece vários períodos em Espanha e, no ensino da metodologia utilizada em Citogenética, participam ainda colaboradores seus, como Azevedo Coutinho, Mello-Sampayo e Noronha-Wagner. Também a Portugal vêm estagiar na EAN, em Sacavém, alguns elementos que são hoje figuras destacadas na Genética espanhola, como Sanchez-Monge, Alvaro del Amo e outros.

Foi durante a comemoração do 25.º Aniversário da fundação do Conselho Superior de Investigações Científicas, espanhol, em 1964, em que o Prof. Câmara estava à frente da delegação portuguesa, que ficou planeada a organização das «Jornadas de Genética Luso-Espanholas», que se têm efectuado, todos os anos, alternadamente em Espanha e em Portugal, com notável continuidade, e que muito têm contribuído para o progresso da Genética peninsular.

Embora na lista de publicações do Prof. António Câmara figurem mais de 150 títulos, a sua linha de investigação centrou-se particularmente na citogenética do trigo.

Assim, logo em 1934 publicou «Um estudo citológico do *Triticum monococcum* L.», seguindo-se dezenas de trabalhos do mesmo âmbito (Elementos para o estudo da indução de poliploides no trigo; Notas sobre espeltoídes; Citologia dos trigos tetraploides; O problema da fragmentação cromosómica operada pelos raios X, no *Triticum monococcum*; A expulsão de cromosomas pela centrifugação; Estudo comparativo de cariotipos do género *Triticum*; Cromosomas dos trigos hexaploides; Anomalias meióticas em trigos hexaploides; Um cromosoma dicêntrico transmissível em trigo; etc., etc., etc.).

Fora dessa linha realizou também trabalhos de grande mérito, como por exemplo os que apresentou relativos ao estudo da *Luzula*, que tiveram larga repercussão internacional (Cromosomas sem centrómero localizado. O caso da *Luzula purpurea* Link.; X-rays in the centromere problem of *Luzula purpurea* Link.; Advances in the centromere's problem; Cytogenetics of accessory chromosomes in *Luzula campestris* D. C.; etc.).

O mérito científico de toda a sua obra justifica plenamente as consagrações que lhe foram tributadas e assim foi eleito Académico efectivo na Academia de Ciências de Lisboa e Membro correspondente da Real Academia de Ciências Espanholas, tendo sido igualmente nomeado Conselheiro de Honra do Conselho Superior de Investigações Científicas de Espanha, membro honorário de numerosas Sociedades Científicas, além de muitas outras distinções.

Ao noticiar aqui, de forma um pouco extensa, a homenagem à pouco realizada, houve a deliberada intenção de associar a *Brotéria-Genética* a essa homenagem, prestada a quem foi um dos mais destacados vultos da Genética portuguesa.

OS «PERIGOS» DA ENGENHARIA GENÉTICA

Luís J. Archer

Foi em 1974 que os próprios cientistas que então descobriam as poderosas técnicas da engenharia genética lançaram um apelo a todo o mundo para que se suspendessem essas experiências até que se pesassem bem os riscos e perigos que poderiam estar envolvidos (*Science*, 185:303; *Nature*, 250:175).

Desde então, numerosas conferências internacionais se realizaram e muitas comissões nacionais se constituíram para estabelecer as normas de segurança a exigir para cada tipo de experiências. Em alguns países, a obediência a essas normas passou mesmo a ser urgida por lei.

Estes acontecimentos geraram reacções públicas emocionais de vários tipos, com amplas repercussões políticas e sociais (Luís J. Archer, *Temas Biológicos e Problemas Humanos*, Ed. Brotéria, 1981, pág. 48-65).

Várias organizações internacionais se preocuparam, então, com as diferenças de exigências prescritas pelos vários países, já que elas levariam as indústrias a transferir de uns países para outros os seus laboratórios, acentuando desequilíbrios económicos.

Para tentar a harmonização possível entre os países da Europa, a «European Science Foundation» (ESF) constituiu uma «Liaison Committee on Recombinant DNA» para a qual foi chamado um representante de cada país. A Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica nomeou-me representante de Portugal nessa Comissão.

Tivemos a primeira reunião em Estrasburgo, em Março de 1977. Seguiram-se várias outras, numa média de duas por ano. Na reunião de Janeiro passado considerou-se terminado o trabalho. O comunicado final dessa reunião é altamente significativo da mudança que se operou ao longo destes quase 4 anos, e por isso o passamos a transcrever na íntegra.

«The ESF Liaison Committee on Recombinant DNA, at its meeting on 14-15th January, 1981, unanimously decided that its work of promoting the necessary harmonisation of national recombinant DNA guidelines is now sufficiently complete for the Liaison Committee to be wound up. Although the national guidelines of some countries are still evolving towards the position already

reached by others, the Committee believes that there is no further need for formal and regular liaison at the ESF between representatives of national recombinant DNA committees.

Extensive information supports the view that recombinant DNA work entails no significant novel biohazards. This is already accepted by some national recombinant DNA committees and in those countries special safety precautions beyond good microbiological practise are no longer required for recombinant DNA work except when known pathogens or toxin producing organisms are involved; it is widely accepted that recombinant DNA techniques offer safer ways of studying and using pathogens and toxin producers than conventional methods. The Liaison Committee endorses these national decisions.

In several countries microorganisms produced by recombinant DNA methods are now being grown on an industrial scale and concern has been expressed about the biosafety of these large scale operations. The Liaison Committee points out that the fermentation industry already has long and extensive experience of large scale fermentation, including that of known natural and dangerous pathogens. Consistent with its statements in the preceding paragraph the Committee emphasises that the large scale fermentation of microorganisms produced by recombinant DNA methods does not pose novel or special problems.

Finally, the Liaison Committee reaffirms its opinion that there is no scientific justification whatsoever for legislation specific for recombinant DNA research and moreover, it sees no justification for further extensive recombinant DNA risk assessment programmes.»

GRANDES GRUPOS, GENÉTICA E EVOLUÇÃO

A. Madeira Lopes

A classificação geral dos seres vivos, «oficialmente» adoptada e mantida lei até fins do século passado, muito mexida e remexida tem sido de então para cá!

Os clássicos reinos das enraizadas e fotossintéticas PLANTAS e dos móveis e mastigadores ANIMAIS não conseguiram mais aguentar os seus sacos já cheios, e pediram um caixote do lixo para os organismos menos ortodoxos. Os PROTISTAS incluíam as algas e os protozoários, as esponjas e os fungos, e as bactérias.

As bactérias — animais de Leeuwenhoek, e plantas de Cohn — são motivo de nova reviravolta no esquema classificativo. Observações de citologia comparada, de microscopia electrónica, de bioquímica e de genética molecular, na era dos super-heróis, levaram à criação duma nova dicotomia ao nível dos super-reinos: os EUCARIONTES, de cromossomas complexos, dois ou mais aparelhos de síntese proteica ribossómica, sistema membranoso bem diferenciado, e os mais simples PROCARIONTES. Os eucariontes englobariam cinco reinos: animais, plantas, fungos, algas e protozoários, e os procariontes dois: bactérias e cianobactérias (estas retiradas das algas onde eram conhecidas como cianofíceas ou algas azuis).

São novamente as bactérias, ou melhor, as observações efectuadas em bactérias na área da genética molecular, que voltam a provocar alterações nos conceitos da taxonomia dos grandes grupos. As metanogénicas (como *Methanobacterium*), as fotossintéticas halófilas (como *Halobacterium*), as termoacidófilas (como *Thermoplasma*) tornam-se independentes e adoptam o nome de ARQUEBACTÉRIAS, opondo-se aos restantes procariontes — EUBACTÉRIAS, e formando um novo super-reino (J. Mol. Evol. 11, 245; 1978). A separação fundamenta-se essencialmente na estrutura dos tRNAs e rRNAs (tanto 16S como 5S), da subunidades da transcritase, e no factor de translocação da cadeia peptídica que, contrariamente ao EF-G eubacteriano, parece ser, como o dos eucariontes (EF-2), inibido pela toxina diftérica (Nature 287, 250; 1980).

A análise das características comuns e distintivas, ora atribuídas aos três super-reinos, e encarada dum ângulo evolutivo, deu já origem a duas teorias,

qualquer delas apoiada em fortes argumentos. Para uns (Nature 287, 248; 1980) as arquebactérias teriam provindo das eubactérias, por modificação da maquinaria da tradução, e originado os pré-eucariontes. Outros (Nature 289, 95; 1981) sugerem três linhas de descendência, separadas há três ou quatro mil milhões de anos; do progenote inicial teria saído a primeira eubactéria — possivelmente fotossintética (J. Mol. Evol. 13, 95; 1979); a primeira arquebactéria — metanogénica; e as primeiras estruturas citoplásmicas da quimera eucariótica.

O PROBLEMA DOS OLIGOELEMENTOS EM BIOLOGIA (*)

I

Juana Warden

Laboratório de Botânica. Faculdade de Ciências, Lisboa

ABSTRACT

Seventeen trace-elements are at present considered essential to animal organisms: Li, Cu, Zn, B, Al, Si, Sn, V, Se, Cr, Mo, Mn. Mn. F. I. Fe. Co. Ni. Their presence in the tissues of all living systems is certainly related to the prebiotic evolution in accordance with the principles of stability, economy and efficiency. They take part in basic physiological processes and constitute the active centre of numerous enzymes. They are necessary for the conservation of the biological equilibrium stimulating the immunological systems, detoxifying, reducing the effects of radiations and protecting genetical material against mutations including oncogenic ones. Any alteration of these elements, be it quantitative or qualitative, has negative repercussions leading to symptoms of chemical stresses, which manifest themselves as «civilization diseases». The recognition of this fact underlies the prophylactic campaigns which hopefully can broaden their field of action including in its programmes the prevention of some congenital malformations.

INTRODUÇÃO

A literatura científica actual dedica cada vez mais espaço aos problemas relacionados com os oligoelementos. A informação, muito vasta, de carácter interdisciplinar, cobre sectores tão vastos como geoquímica, biofísica, agronomia, medicina, ecologia, etc. O termo «oligoelemento», sinónimo de «microelemento», «elemento mínimo», ou «trace element» da literatura anglo-saxónica, não tem uma definição muito exacta, pois se refere tanto aos elementos efectivamente raros na crosta terrestre, como também aos elementos cuja con-

(*) Contribuição para a celebração do Dia Mundial da Alimentação, 16/10/81, sob o patrocínio da FAO.

centração só em meios biológicos é muito pequena, exprimindo-se em ppm, $\mu\text{g/g}$ ou $\mu\text{g/l}$. As concentrações mais frequentes são de ordem de $0, X - X0$ ppm, o que difere em várias ordens de grandeza dos valores relativos aos elementos mais abundantes, tais como cálcio, fósforo ou magnésio.

O notável progresso dos estudos sobre os oligoelementos, que se verificou nos últimos anos, foi possível graças ao desenvolvimento de métodos de análise extremamente sensíveis, tais como a espectrometria de absorção atómica e a activação neutrónica.

O grupo dos oligoelementos é formado por cerca de meia centena de elementos químicos (não incluindo os gases nobres, o grupo dos lantanídeos nem o de actinídeos). Alguns destes elementos são essenciais para os organismos vivos, outros são tóxicos, e os restantes não essenciais, pelo menos até que se descubra o seu papel no metabolismo animal ou vegetal. Efectivamente, a lista dos oligoelementos essenciais vai crescendo à medida que se vão aperfeiçoando as técnicas experimentais. Mas não só os oligoelementos não essenciais, como também os tóxicos, podem ascender à categoria dos essenciais, como o demonstram os exemplos de flúor e de selénio, cujos limites de toxicidade foram fixados muito antes de se terem revelado como essenciais. Por esta razão, devemos aceitar a referida classificação como convencional e flexível. Além disso, é bem sabido que todos os oligoelementos são potencialmente tóxicos, quando administrados em doses exageradas, sendo particularmente perigosos os elementos com faixa de segurança muito estreita, isto é, com pouca diferença entre a dose benéfica e a dose tóxica, como é o caso do flúor e do selénio.

Actualmente reconhecem-se como essenciais, tanto para os vegetais como para os animais, os seguintes oligoelementos: Li, Cu, Zn, B, Al, Si, Mo, Mn, Fe, Co. Os essenciais só para os organismos animais são: Sn, V, Se, Cr, F, I, Ni. Há pois, no total, 17 oligoelementos essenciais para os organismos animais. São bem poucos, mas indispensáveis para a conservação do equilíbrio ambiental, factor decisivo para a saúde. Estes elementos intervêm em processos fisiológicos fundamentais, constituindo a parte activa de numerosos enzimas, activando outros: auxiliam o organismo em situações difíceis, seja estimulando as defesas naturais, desintoxicando dos produtos de metabolismo ou ainda reduzindo os efeitos das radiações e ajudando a eliminar os metais pesados. Protegem o material genético contra as mutações, incluindo as de carácter oncogénico.

São esses elementos que orientam a luta no campo da Ecologia Profiláctica contra as «doenças da civilização» — tema de numerosas comunicações nos recentes congressos internacionais (*Mai*o 1980 — 2.º Symp. Intern. sobre Selénio em Biologia e Medicina, Texas Tech University, Lubbock, USA; *Nov.* 1980 — Semana Médica em Baden, (Baden-Baden), organizada pela Universidade de Heidelberg; *Nov.* 1980 — 1.º Symp. Nac. sobre Selénio em Biologia e Profilaxia, Cracóvia). Citemos como exemplo, o êxito na luta contra a «Keshan

Disease», uma doença epidemiológica numa região da China (Keshan Disease Research Group 1979; PASSWATER 1980).

Na prática, esta luta limita-se a iniciativas isoladas, em contraste com os programas de profilaxia em grande escala no campo da medicina veterinária, visando o combate ao cancro, às cardiopatias, à distrofia muscular, às malformações congénitas, à fibrose quística.

Parece vislumbrar-se uma luz de esperança para o controlo de alguns graves defeitos congénitos, ao demonstrar o efeito dum factor nutricional (ácido fólico) na correcção da alteração estrutural do cromossoma X, associada à debilidade mental (LEJEUNE 1981). A vantagem de deslocamento do centro de gravidade dos programas de diagnóstico citológico e bioquímico, visando a solução terminal, para os programas de profilaxia, como uma medida superior desde o ponto de vista ético, é óbvia.

No presente trabalho limitar-nos-emos a focar alguns aspectos bioquímicos, clínicos e ecológicos em relação com os oligoelementos essenciais, citando várias referências bibliográficas de informação mais completa (BOWEN 1966; BOSTRÖM and WESTER 1967; LISK 1972; RAPORT WHO 1973; SHAMBERGER *et al.*, 1973, 1975^a; BERRY and WALLACE 1974; PRASAD 1978, 1979; KABATA-PENDIAS and PENDIAS 1979). Em artigo subsequente mencionaremos a relação dos bioelementos com a estrutura submolecular da matéria e a teoria bioelectrónica da vida.

PAPEL DOS OLIGOELEMENTOS ESSENCIAIS NA FISILOGIA ANIMAL

Os elementos do 1.º grupo

Lítio:

Presente em todos os tecidos animais, particularmente no esmalte dos dentes, protegendo contra a cárie dentária (HADJIMARKOS 1973). Foi demonstrado o efeito favorável da adição do lítio na água potável sobre a redução de doenças do sistema circulatório (o que estaria relacionado com a redução do sódio no protoplasma induzida pelo lítio) e de doenças psíquicas (GLEN *et al.*, 1972; BAILEY *et al.*, 1975). Actua favoralmente tanto nos estados de excitação como nos estados depressivos. Actualmente há tendências para administrar sais de lítio no tratamento de pessoas alcoólicas e drogadas. Há experiências com resultados positivos, o que deveria encorajar o estudo de aplicação de métodos profilácticos em grande escala (ALEKSANDROWICZ 1976^a). Existem possibilidades de aproveitamento de sal gema e de salinas, como fonte de lítio.

Cobre:

Presente em todos os tecidos animais, sendo o fígado, os rins e o cérebro, os órgãos de maior acumulação. Diversos organitos celulares, e particularmente as mitocôndrias, contêm cobre. Pela sua grande capacidade de ligação com os ácidos nucleicos, pode alterar com carácter permanente a sua estrutura, e em consequência, as suas propriedades bioquímicas e genéticas (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979). Tem papel fundamental nos processos celulares de oxi-redução, formando parte activa de vários enzimas, como a citocrómio oxidase e ácido ascórbico oxidase. Estimula a síntese de hemoglobina e é indispensável para o correcto metabolismo do ferro. Alguns autores afirmam que o cobre é um dos mais poderosos inibidores de processos de crescimento celular nos animais de laboratório, desconhecendo-se por enquanto, se essa inibição também se poderá aplicar no caso das células humanas (GEORGIEFF, cit. por ALEKSANDROWICZ 1976^a).

Outra função fisiológica importante do cobre é o controlo do metabolismo do colesterol e protecção da estrutura da aorta. Na presença de baixa concentração do cobre, aumenta o nível de colesterol no sangue. A deficiência do cobre pode induzir nos lactentes a anemia, resistente à administração de ferro. Também são conhecidas as diarreias de lactante por falta de cobre. Uma deficiente absorção de cobre nos lactantes pode ser devida a uma anomalia geneticamente determinada, conhecida pelo síndrome de Menkes, cujos sintomas são: deterioração mental progressiva, queratinização anormal do cabelo, hipotermia, degeneração da parede da aorta (O. M. S. 1973).

A absorção de cobre, além do mencionado factor genético, pode também estar afectada pela presença nos alimentos de fitatos (ingestão excessiva de cereais integrais e seus derivados), de cádmio (inalado com o fumo de cigarros), como também pelo excesso de zinco, molibdénio e de enxofre na alimentação. Fontes boas de cobre: fígado, ostras, peixe, legumes verdes. Fontes pobres: leite, margarina, mel (O. M. S. 1973).

Prolongada ingestão de alimentos ou de água com elevado teor de cobre constitui risco de intoxicação, sobretudo para as crianças. A acumulação de cobre nos principais órgãos afecta o fígado e os rins, reduz o nível de hemoglobina e induz alterações patológicas das artérias coronárias.

Os fungicidas contendo cobre podem constituir risco de intoxicação, com manifestação de hemoglobinémia, hemoglobinúria, urémia e icterícia hemolítica.

O cobre tem aplicação em numerosas indústrias, principalmente na indústria eléctrica, devido às suas excelentes propriedades como condutor de electricidade. A maior contaminação do ambiente produz-se nas imediações de minas e fundições deste elemento. A contaminação da atmosfera nas cidades deve-se principalmente às emissões de fumos de combustão de carvão e dos

gases de tubos de escape dos veículos. O aumento de intensidade de tráfego é acompanhado pelo aumento da concentração de cobre na poeira atmosférica. As linhas de alta tensão, a execução irracional de práticas agrícolas (controle fitossanitário, adubação, etc.), contribuem também para a contaminação local do solo e das plantas (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

Os elementos do 2.º grupo

Zinco:

A sua importância para o normal desenvolvimento do organismo animal, foi demonstrada há mais de cem anos. Este elemento forma parte fundamental da enzima anidrase carbónica e de muitos outros metaloenzimas, como carboxipeptidases, fosfatase alcalina, proteinases, desidrogenases. Regula o metabolismo de hidratos de carbono e de proteínas. Forma ligações estáveis com o DNA, produzindo alterações estruturais e funcionais dos ácidos nucleicos, podendo interferir no desenvolvimento de certos vírus. A deficiência de zinco afecta a actividade da polimérase do RNA (KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 1979).

O zinco tem efeito favorável na formação das glândulas sexuais masculinas, na cicatrização de feridas, sobretudo as da pele. Nos casos de hipertrofia benigna de próstata, observa-se o aumento da concentração de zinco, ao contrário dos casos malignos, que estão acompanhados pela sua redução. A carência de zinco provoca malformações do feto na rata, sendo o tecido cerebral particularmente afectado (O. M. S. 1973).

A dieta normal contém quantidade suficientes de zinco. As sementes, e em particular as pevides de abóbora são fontes muito ricas de zinco. A sua deficiência deve-se geralmente a alteração da sua proporção em relação a outros elementos.

O efeito favorável do zinco sobre as membranas dos eritrócitos fauciformes estaria provavelmente relacionado com a inibição de formação de largas cadeias de hemoglobina S (PRASAD 1979).

Os factores mais importantes de poluição são a poeira das minas de zinco, as emissões das fundições e a combustão de carvão e de derivados de petróleo.

O zinco é relativamente pouco tóxico. Os casos de intoxicação têm em geral origem na ingestão de fruta ou legumes que tenham sido tratados com produtos à base de zinco, ou pela ingestão de alimentos guardados em recipientes de zinco. A aplicação de produtos farmacêuticos à base de zinco, pode produzir o aumento da sua concentração no organismo. (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

Elementos do 3.º grupo:

Boro:

Encontra-se presente em todos os tecidos animais, onde penetra tanto através do canal digestivo, como através das vias respiratórias. A sua maior concentração corresponde ao leite, a seguir ao cérebro, fígado, tecido adiposo, ósseo e dentes. Não se acumula no organismo, sendo eliminado rapidamente.

Desconhece-se ainda o papel exacto do boro na fisiologia animal. Os estudos mais recentes permitiram constatar, que nos ratos carenciados deste elemento, a sua administração estimulava a síntese de RNA hepático (O. M. S. 1973).

As intoxicações são geralmente de natureza accidental, tendo como origem a ingestão de produtos farmacêuticos ou produtos para a lavagem de roupa.

Elementos do 4.º grupo

Silício:

É o principal constituinte da litosfera. Encontra-se em tecidos animais, principalmente nos ossos, tendões, pele e pulmões. Desempenha papel importante no processo de calcificação óssea.

A inalação de poeiras contendo SiO_2 livre é tóxica, ao contrário de minerais de silício, que são em geral inofensivos com excepção de alguns sais de silício, de estrutura fibrosa (asbesto), que se consideram como um dos agentes oncogénicos (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

Estanho:

Presente em todos os tecidos animais. É indispensável para o correcto desenvolvimento do organismo, atribuindo-se-lhe um importante papel nos processos enzimáticos de oxi-redução. A sua carência na alimentação, que não foi detectada no homem, perturba o crescimento e altera a pigmentação normal dos dentes (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

Possui certo grau de toxicidade, afectando as glândulas sexuais e o sistema nervoso. Um dos factores que pode contribuir para a elevação excessiva da sua concentração no organismo, é a presença do estanho nas latas de conserva e no papel de embalagem dos produtos de consumo. A Organização Mundial de Saúde fixou os valores admissíveis para o teor do estanho nos ali-

mentos enlatados. Felizmente, na maioria dos países adoptou-se o sistema de revestimento interior das paredes das latas de conserva com uma camada de verniz (O. M. S. 1973). Graças a esta medida conseguiu-se reduzir muito a contaminação dos alimentos. Mas mesmo assim, em certas circunstâncias, as latas de conserva podem tornar-se potencialmente focos de contaminação, com consequências muito mais graves, e isto pelo simples gesto de deitar ao mar uma lata de conserva vazia. Verificou-se, que certas algas têm a capacidade de acumular quantidades enormes de estanho — que podem ser até 1000 vezes superiores à sua concentração no mar. O problema agrava-se ainda pelo facto de que o estanho assim acumulado, encontra-se na forma de composto orgânico, metilo e di-metilo, que são muitíssimo mais perigosas do que na forma metálica, inorgânica (SCIENCE & VIE 1979).

Os elementos do 5.º grupo

Vanádio:

Está localizado em todos os tecidos, principalmente nos pulmões, nos ossos e no tecido adiposo. A sua função biológica prende-se com a sua participação nos processos metabólicos de colesterol, lípidos e fosfolípidos, e nos processos de calcificação do tecido ósseo. Contribui nalguns casos para a redução da taxa de colesterol e de lípidos no sangue, sendo por esta razão considerado como um factor que melhora a circulação. (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

As quantidades de vanádio presentes nos alimentos são muito pequenas. O seu teor nos vegetais superiores é geralmente muito baixo, na ordem dos 0,0X—X ppm, sendo de destacar as folhas de alface e de plantas leguminosas, que possuem concentrações mais elevadas deste elemento. Dois grupos de vegetais inferiores — musgos e cogumelos — acumulam quantidades muito maiores de vanádio, na ordem dos 100 ppm.

O vanádio tem numerosas aplicações na indústria. A contaminação do ambiente pode originar-se através dos canais de esgoto, que conduzem os detritos, ou pela emissão atmosférica de partículas de vanádio durante a combustão de óleos. É esta segunda via, a principal responsável (em 90 %) da contaminação do ar nos centros industriais. A inalação da poeira atmosférica contaminada pelo vanádio pode desencadear processos cancerosos nos pulmões (YEN 1972).

Selénio:

Este elemento encontra-se presente em todos os tecidos animais. Até há pouco tempo era considerado como um elemento puramente tóxico. Não obstante, já há mais de 50 anos foi reconhecido o seu valor terapêutico, nomeadamente no tratamento do cancro.

O papel biológico do selénio, como elemento essencial, foi demonstrado por SCHWARTZ em 1957, quando após longos anos de pesquisa sobre a necrose hepática nos ratos, induzida pela alimentação deficiente em vitamina E e em tio-aminoácidos, conseguiu identificar o composto orgânico de selénio como constituinte essencial do Factor 3 (SCHWARTZ & FOLTZ 1958). Pouco depois ficou demonstrada a sua importância para outras espécies animais, incluindo o homem, e para os microrganismos. Entra na composição de numerosos enzimas, participando activamente no transporte de electrões.

As funções fisiológicas de selénio são variadas e de primordial importância para o organismo. Como componente essencial do enzima peroxidase glutatiónica (ROTRUCK *et al.*, 1972), tem, juntamente com a vitamina E, propriedades antioxidantes, catalisando a destruição dos peróxidos, eliminando-os, protegendo assim a integridade estrutural das membranas celulares, sobretudo das mais ricas em lípidos insaturados, como dos eritrócitos e mitocôndrias, contra o ataque dos radicais livres (DOWNES *et al.*, 1979).

Há uma estreita correlação entre a quantidade de selénio nos alimentos ingeridos e actividade da peroxidase glutatiónica nos tecidos (HOEKSTRA 1975; DOWNES *et al.*, 1979). A deficiência desta enzima induz vários sintomas patológicos, como a necrose do fígado e do pâncreas e a aterosclerose (SPRINKER 1971; DOWNES *et al.*, 1979). A deficiência da peroxidase glutatiónica seria também responsável, pelo menos em parte, pelos processos inflamatórios das articulações e pelas alterações de tipo oxidativo das proteínas da córnea, conducentes à catarata (PASSWATER 1980).

Entre outras seleno-proteínas animais, podemos mencionar o coenzima Q (a ubiquinona) e o coenzima 10. Este último parece intervir no sistema imunológico, aumentando as defesas naturais do organismo, sendo ainda pouco esclarecida esta função. Há referências indicando o coenzima 10 como valioso agente na luta contra as doenças infecciosas, cancro, doenças de coração, periodontite (FROST & Van POUCKE 1972; DOWNES *et al.*, 1979). Por sua vez, o coenzima Q asseguraria a vitalidade do músculo cardíaco, cujas lesões degenerativas parecem estar associadas ao estado de carência desta enzima (PASSWATER 1980).

Também se considera que a deficiência de selénio na dieta impede a produção de certas prostaglandinas, que controlam a viscosidade do sangue,

factor importante na regulação da pressão arterial (loc. cit.). Cita-se a eficácia do selénio na reversão da hipertensão induzida pelo cádmio (PERRY *et al.*, 1974).

Os resultados dos estudos epidemiológicos ao nível mundial demonstram que existe uma estreita correlação negativa entre a incidência de óbitos devidos a certos tipos de cancro (cólon, mama, esófago, língua, estômago, intestino, recto, bexiga, leucemia), aos enfartes de miocárdio, à hipertensão, esclerose múltipla, e o teor do selénio na água, no solo e nos alimentos. Embora este facto não constitua uma prova definitiva da relação entre a causa e o efeito, muitos cientistas consideram este elemento como de maior valor na luta profiláctica contra o cancro, recomendando a sua adição como suplemento na forma orgânica (150-250 μg por dia), além da inclusão na dieta corrente de produtos ricos em selénio, tais como: fígado, rins, peixe, mariscos, algas, levedura de cerveja, cereais integrais, germen de trigo, gema de ovo, leite e lacticínios, sementes de girasol, produtos à base de cereais integrais, pão (SCHRAUZER 1978, 1980; SHAMBERGER *et al.*, 1975 b, entre outros). SCHRAUZER recomenda, ao mesmo tempo, a redução de consumo de carne (o excesso de proteína na dieta dificulta a assimilação de magnésio, considerado desde há tempo, como um agente protector contra o cancro), gorduras, batatas e sobretudo a redução de açúcar. A estatística mostra uma estreita correlação entre a incidência de cancro e o consumo de açúcar. Mais: «It is, in fact, the food item with which breast cancer mortality statistics correlate most strongly» (SCHRAUZER 1980). De acordo com este autor, no caso da suspeita de predisposição, quanto mais cedo se modificar a dieta — melhor.

A função protectora do selénio na defesa contra o cancro apresenta três aspectos. Já mencionámos dois deles — referentes ao seu papel como anti-oxidante e como estimulador das defesas naturais do organismo. O terceiro aspecto relaciona-se com a capacidade do selénio de neutralizar as mitoxinas, incluindo a terrível aflatoxina — o poderoso agente biológico cancerígeno (NEWBERNE & CONNER 1974; ALEKSANDROWICZ *et al.*, 1976). Foi demonstrada a capacidade estabilizadora do selénio em relação aos segmentos de DNA ricos em G-C (MARCZYNSKI *et al.*, 1980). Recomenda-se o emprego de terras ricas em selénio, para corrigir a sua deficiência em terras pobres, considerando-se esta medida como uma estratégia muito promissora na luta profiláctica contra o cancro (ALEKSANDROWICZ 1976 a). Os estudos epidemiológicos indicariam uma estreita ligação entre a incidência do cancro (tumores, leucemia) e a contaminação do ambiente (solo, água, habitação) com certos fungos, p. ex. *Aspergillus flavus*, produtores de micotoxinas (WRAY 1975; ALEKSANDROWICZ & SMYK 1973; ALEKSANDROWICZ 1976 b).

Existem outras doenças induzidas, em parte, pela deficiência de selénio. São elas a «kwashikor» (malnutrição com carências graves calórico-proteicas), a fibrose quística (WALLACH, 1978) e a «Keshan disease» (uma cardiopatia). Esta última, detectada e estudada na China, de características epidemiológicas endémicas, está associada ao baixo teor de selénio no organismo e no solo. Actualmente está praticamente controlada, graças à adição na dieta de selenito de sódio (KESHAN DISEASE RESEARCH GROUP 1979; PASSWATER 1980).

Devemos mencionar mais duas funções protectoras do selénio: (1) — a sua capacidade de se ligar aos metais pesados, como o arsénio, o cádmio, o mercúrio e o chumbo, reduzindo a sua toxicidade (FROST y van POUCKE 1972, GANTHER *et al.*, 1972; STOEWSAND *et al.*, 1974; DOWNES *et al.*, 1979) e (2) — a sua capacidade de reduzir os efeitos de radiações, sendo considerado como «*excelente protector*» BADIELLO *et al.*, 1971; PASSWATER 1980); «*tremendous protectors* (natural selenium amino acid an protein compounds) against radiation» (COLOMBETTI & MUNTI 1971) e «*extremely protective* against irradiation by gamma rays» (ALEKSANDROWICZ 1976^b).

Os riscos de contaminação com selénio não são grandes. O factor que mais contribui para a poluição são as emissões resultantes de combustão de carvão, principalmente nas centrais eléctricas. (KABATA-PENDIAS 1979).

Crómio:

Presente em todos os tecidos animais, acumulando-se principalmente nos tecidos ósseo e muscular. A fracção celular mais rica em crómio corresponde aos núcleos e mitocôndrias.

Além da variação quantitativa do teor de crómio entre os habitantes de diferentes áreas geográficas, observa-se uma variação dependente da idade, que consiste na redução progressiva de concentração de crómio.

O crómio tem tendência para formar complexos com vários compostos orgânicos, como as proteínas e os ácidos nucleicos. Desempenha um importante papel no metabolismo da glucose através da acção do «glucose tolerance factor» (GTF) sobre a insulina (SCHWARTZ & MERTZ, 1957), de certas proteínas, e de lípidos, sobretudo colesterol (O. M. S. 1973; KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979). É componente de algumas enzimas (p. ex. a tripsina), e estimula a actividade de outras. Considerado um factor importante nos processos de crescimento e no fenómeno de longevidade, pela sua acção na síntese de proteínas.

A carência de crómio que conduz à redução da actividade da insulina, é o resultado tanto duma dieta pobre em crómio, como do consumo de açúcar, o que acelera a eliminação do crómio do organismo. O açúcar refinado con-

tém em média 50 ppb Cr, enquanto que o açúcar amarelo — 295 ppb Cr, e o mel — 290 ppb Cr. Nos indivíduos diabéticos, a administração de crómio restaura a tolerância à glucose. (FOUAD 1979; KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

A actividade biológica de crómio depende da forma química do composto do qual este elemento faz parte. Os compostos orgânicos são melhor assimilados do que sais inorgânicos. A melhor forma de fornecer crómio como suplemento dietético, seria ligando-o com os aminoácidos numa fonte rica em proteínas, seja de origem vegetal (p. ex. levedura de cerveja), ou animal. (FOUAD 1979). Como boa fonte natural podemos citar a soja e o grama — *Cynodon dactylon*.

É particularmente interessante a participação do crómio no metabolismo de colesterol, embora o mecanismo não esteja ainda esclarecido completamente. Supõe-se que o aumento da taxa de colesterol no soro das pessoas idosas esteja relacionado com a queda da concentração deste elemento no sistema circulatório. O enriquecimento da dieta pobre em crómio reduz a velocidade da subida do colesterol (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

Se bem que a sua toxicidade seja baixa, pode no entanto causar problemas locais, principalmente pelas emanções dos gases da indústria metalúrgica e pela combustão de carvão nas centrais eléctricas. Além disso, é componente de tintas (amarelas e encarnadas) e de fungicidas para a conservação de madeira.

Molibdénio:

É um elemento indispensável para o organismo, concentrando-se principalmente no fígado, nos rins e nos dentes. Forma parte da enzima que participa nos processos de oxi-redução e no metabolismo de purinas. Também é indispensável para os microrganismos, fixadores de azoto (ALEKSANDROWICZ 1976^a). O molibdénio favorece a acumulação de flúor, protegendo assim, indirectamente, contra a cárie dentária. Efectivamente, tem-se observado nas crianças das regiões ricas em molibdénio, menor número de cáries do que nas regiões vizinhas, mais pobres neste elemento (O. M. S. 1973).

Os estudos epidemiológicos indicam, que as regiões onde as águas são mais ricas em molibdénio, possuem muito menores índices de incidência de cancro de estômago. Como exemplo podemos citar o Japão, onde esta forma de cancro é frequente, e onde, ao mesmo tempo, a ingestão diária de molibdénio é muito baixa (ALEKSANDROWICZ 1980).

O excesso de molibdénio prejudica o metabolismo de cobre, podendo conduzir a anemia por falta de cobre. Também afecta o metabolismo de cálcio, reduzindo a sua concentração nos ossos e causando uma elevação

anormal da concentração de ácido úrico no soro, contribuindo para o aparecimento de gota (O. M. S. 1973).

Elementos do 7.º grupo:

Flúor:

Encontra-se presente em todos os tecidos, sendo particularmente abundante no tecido ósseo (onde se vai acumulando progressivamente) e nos dentes (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979). É um elemento essencial para os organismos animais, sendo ao mesmo tempo tóxico, com muito pouca margem de segurança entre a concentração benéfica e a prejudicial.

O papel fisiológico do flúor está relacionado com o processo de mineralização dos tecidos. Tem um papel benéfico sobre a dentição, sendo a sua eficácia limitada unicamente à fase anterior à erupção de dentes. Nas fases posteriores, a sua acção protectora deve-se às propriedades bactericidas. Há opiniões contrárias à adopção de medidas preventivas em grande escala contra a cárie pela fluorização da água, considerando-as perigosas e desnecessárias (ALEKSANDROWICZ 1976).

As principais fontes de flúor são: o chá (contém 400 ppm), os peixes de água salgada e a água potável.

A toxicidade causada pelo excesso de flúor — a fluorose — manifesta-se principalmente pela alteração do metabolismo de cálcio e de magnésio, levando à descalcificação do tecido ósseo e à calcificação de rins, pulmões e músculos, com redução da concentração do magnésio no sangue e o seu aumento nos ossos.

As emissões das centrais industriais — principalmente da indústria de alumínio e cerâmica, produção de adubos fosfatados — constituem fontes de poluição importantes.

Os adubos fosfatados contêm em média 1,40 % F. Após 12 anos de aplicação destes adubos, a concentração de flúor no solo aumenta ca de 50 ppm. Em comparação com outros oligoelementos que poluem o meio ambiente, o flúor, na forma de HF tem acção muitíssimo mais prejudicial sobre a produção agrícola (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

Iodo:

Está presente em todos os tecidos, correspondendo cerca de 80 % do seu conteúdo total no organismo à glândula tiroideia onde, após sofrer oxidação, se liga á tiroxina. O metabolismo do iodo está estreitamente ligado à

actividade das hormonas da tiroideia, as quais controlam o desenvolvimento psíquico e físico e participam em processos enzimáticos, relacionados sobretudo com a transformação de energia.

Devido à sua rápida eliminação, principalmente pelas vias urinárias, há necessidade de adiciononar diariamente, sendo suficiente 100 μg para uma pessoa adulta (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979). Os peixes de água salgada e o sal marinho não refinado são fontes importantes de iodo.

As primeiras medidas de luta profiláctica contra o bócio (devido, entre outros factores, à deficiência de iodo no organismo) foram adoptadas no princípio do século XX, na sequência de estudos epidemiológicos conduzidos ainda no decorrer do século XIX (ALEKSANDROWICZ 1976⁸). Há no entanto situações, em que a adição de iodo não é eficiente, devido à presença em certos vegetais (do género *Brassica*) de substâncias que se combinam com o iodo, impedindo a sua absorção e fixação na glândula tiroideia.

A poluição do ambiente pelo iodo levanta um problema grave, relacionado com a contaminação pelo I-131, o qual, juntamente com outros radioisótopos constitui o desperdício das centrais nucleares, entrando na cadeia alimentar do homem através da água, peixes, vegetação e leite de vaca (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

Elementos do 8.º grupo:

Ferro:

É um dos principais metais, a base da nossa civilização, presente em todos os tipos de ambiente geoquímico. Muito importante para o metabolismo dos vegetais, pela sua participação em diferentes reacções de oxi-redução, relacionados com processos tão fundamentais como a respiração, fotossíntese, síntese de clorofila, ou mais precisamente, para o metabolismo do RNA dos cloroplastos, ainda que não forme parte da clorofila.

Presente em todos os tecidos animais, sobretudo no fígado e no baço. Entre 60 e 70 % do teor total correspondente à hemoglobina e compostos metaloproteicos, que intervêm em processos celulares de oxi-redução. É bem conhecida a função da hemoglobina: cotransporte de oxigénio dos pulmões para os tecidos, e do anidrido carbónico em sentido oposto.

O conteúdo total de Fe nos alimentos não corresponde à quantidade assimilada. Esta última, oscila entre 5 a 20 %, dependendo da forma do composto, i.e., da sua actividade biológica e da presença de outros iões (ácido fítico, ácidos biliares, fosfatos, álcalis e metais pesados dificultam a absorção).

A deficiência de ferro conduz à falta de hemoglobina (anemia hipocrómica), com consequências perigosas sobretudo para as mulheres grávidas, pois

dá lugar às perturbações do processo de respiração celular, que podem afectar negativamente o posterior desenvolvimento mental da criança (ALEKSANDROWICZ 1976^a).

O problema da poluição não constitui perigo para os organismos humanos, a não ser no caso de poeiras radioactivas contendo Fe-55. Entrando na cadeia alimentar (plancton-peixe-homem) chega a acumular-se no organismo, com consequências muito graves, podendo alterar a estrutura dos eritrócitos. Os esquimós, cuja dieta consiste principalmente de carne de rena (musgos-renas-homem), acumulam até 19 nCi/l, quando para outras populações, este valor é muito mais baixo, em média 3,9 nCi/l (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

Cobalto:

Presente em todos os tecidos animais. Não se acumula no organismo. O cobalto favorece a actividade do sistema hematopoiético, tanto através da vitamina B₁₂ (cianocobalamina), como na forma de ião livre. Enquanto que a vit. B₁₂ é eficaz unicamente no caso de anemia perniciosa, o ião Co estimula em geral todo o processo de formação de eritrócitos, independentemente das causas da sua deficiência. (ALEKSANDROWICZ 1976^a). Cobalto participa também na activação de alguns processos enzimáticos de oxi-redução, estimula a síntese dos ácidos nucleicos, participa na síntese de timidina, ácido fólico, metionina, acelera a cariocinese favorecendo com isso os processos de regeneração dos tecidos. O seu efeito é particularmente favorável nos casos de anemia resultante de toxinas de origem infecciosa, derivada das doenças cancerosas, e nas que acompanham as doenças renais. A dose terapêutica diária elevar-se a 50-150 mg. (ALEKSANDROWICZ 1976^a).

De acordo com as observações de autores russos, existiria uma correlação negativa entre o teor em cobalto no solo, na água e na alimentação, por um lado, e a incidência de bócio, por outro (O. M. S. 1973).

Todas as plantas possuem cobalto, mas não na forma de cianocobalamina; esta encontrase em alimentos de origem animal, tais como: iogurte, carne (fígado e rins), ovos. Alguns vegetais fermentados podem também conter certa quantidade, embora bastante pequena. É de referir a presença de cianocobalamina nos nódulos das raízes das leguminosas, onde participa na síntese de ácidos nucleicos e nos processos de oxi-redução.

O cobalto é pouco tóxico, a não ser que se trate de doses exageradas, como p.ex. no caso de ingestão excessiva de cerveja, à qual se tenha adicionado cobalto para estabilizar a espuma, prática hoje abandonada (ALEKSANDROWICZ 1976^a).

A poluição atmosférica de cobalto deve-se às emissões das fábricas da indústria metalúrgica, e da combustão de petróleo e seus derivados (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

Os efeitos da contaminação pelo cobalto radioactivo, Co-60, relacionados com sua aplicação na medicina, podem reduzir-se graças a medidas protectoras, como p.ex. pela aplicação de extracto de timo, o «timo factor X», ou «TFX» (ALEKSANDROWICZ 1979).

Níquel:

Encontra-se em todos os tecidos animais. A sua importância fisiológica deve-se ao seu papel como activador de certas enzimas (arginase e carboxilase), e como estimulador de actividade hormonal. Supõe-se que desempenha uma função importante nos processos de oxidação de compostos orgânicos das membranas celulares, no metabolismo de lípidos e na estabilidade de ácidos nucleicos.

A concentração do níquel no soro sanguíneo eleva-se imediatamente após o enfarte de miocárdio, e em consequência de choque, queimaduras e outros traumatismos, sendo ainda pouco claro o mecanismo deste fenómeno.

O níquel é pouco assimilável através das vias digestivas, sendo rapidamente eliminado. Pelo contrário, introduzido através das vias respiratórias, com as poeiras atmosféricas, fica retido, acumulando-se nas glândulas linfáticas, e em parte também nos ossos e nos rins.

O excesso de níquel metálico, e os vapores de certos sais, prejudicam as vias respiratórias e as mucosas. A contaminação crónica pode induzir alterações cancerosas. O níquel, como os outros metais bivalentes, altera a estrutura dos ácidos nucleicos (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

São de considerar as seguintes situações de ingestão excessiva de níquel: risco profissional (refinaria de níquel), hábito de fumar (um cigarro contém 1,6–3,1 μgNi), ingestão de margarinas solidificadas pela aplicação de compostos contendo níquel.

Entre os vegetais que acumulam quantidades consideráveis de níquel podemos citar o cacauzeiro, cujos grãos contêm teor elevado deste metal.

As principais fontes de poluição do meio ambiente causada pelo níquel correspondem às emissões resultantes da combustão de carvão e de derivados de petróleo. As indústrias metalúrgicas, cerâmicas, vidreiras e de amianto contribuem também para a poluição do ambiente, com consequências mais graves para os vegetais do que para os animais (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

OS OLIGOELEMENTOS E A ECOLOGIA

Uma das características dos oligoelementos é a sua constante presença nos diferentes tecidos de todos os seres vivos, reflectindo a participação destes elementos químicos do ambiente no processo de evolução desde a fase pré-biótica.

A relação entre a composição química do ambiente e a dos seres vivos tem-se modificado ao longo do tempo. A dependência total dos organismos primitivos passou para a dependência parcial, graças à escolha «inteligente» dos recursos naturais. O desenvolvimento de barreiras biológicas foi o factor necessário para o início deste processo de assimilação selectiva, permitindo o lento mas contínuo caminho da evolução, caracterizado pelo perfeito equilíbrio entre os diferentes componentes da biosfera. Às alterações do meio ambiente, que em geral se operavam lentamente, respondiam os sistemas biológicos criando novas estruturas, seleccionando as formas de maior vantagem para a sobrevivência, «descobrimo» novos e mais eficientes caminhos metabólicos, como p.ex. os que iriam conduzir às maravilhosas «moléculas informacionais e informativas — os ácidos nucleicos» (ARCHER 1976).

É bem sabido que, em consequência da revolução industrial e do desenvolvimento técnico-científico, o ritmo das transformações do ambiente é cada vez mais acelerado. A actividade humana, pela ingerência caótica e exploração irracional dos recursos naturais, é responsável pela degradação progressiva das condições do ambiente, chegando até ao ponto de ameaçar a existência biológica do homem. Podemos distinguir três aspectos desta degradação ambiental:

1 — alteração da regularidade dos ciclos biogeoquímicos de elementos importantes para a vida (água, carvão, oxigénio, azoto, enxofre, fósforo e outros). O ciclo natural dos elementos caracteriza-se geralmente pelo equilíbrio entre a libertação dos elementos e a sua fixação em formações geológicas. Em ecossistemas naturais, estes ciclos biogeoquímicos sucedem-se em geral com certa regularidade, a qual está sendo afectada pela actividade económica do homem. Podem ficar interrompidos nalgum passo, ou podem alterar o seu ritmo, passando de cíclicos para acíclicos, em consequência da deficiência ou do excesso de algum dos elementos.

2 — alteração dos processos de migração dos elementos, onde os microrganismos e as plantas têm um papel fundamental, em relação com a transformação da matéria e da energia. Os responsáveis pelas práticas agrícolas deveriam ter em conta a necessidade de preservar este equilíbrio natural, baseado na interdependência, evitando a mobilização de elementos prejudiciais

para os ecossistemas e que, mais cedo ou mais tarde, pelo processo de migração, seriam gradualmente incluídos no ciclo.

3 — contaminação e poluição química do ambiente, constituindo uma ameaça grave para o equilíbrio natural, não só no aspecto local, mas ainda no aspecto mais amplo. Como na biosfera existe uma permanente migração de elementos, a contaminação ou poluição dum só componente (solo, água, ar), passará aos seres vivos, atingindo finalmente o homem, directa (água, ar), ou indirectamente (alimentação).

As alterações químicas do ambiente causam perturbações da homeostase dos ecossistemas, indispensável para a sua existência natural. Estas alterações constituem o factor do «stress» (stress) químico), com consequências negativas para o desenvolvimento individual tanto do organismo vegetal como animal. (RAPORT WHO 1972, ALEKSANDROWICZ, 1976^a).

Todos os elementos químicos, quando presentes em excesso, podem causar «stress»), mas os oligoelementos são particularmente activos e prejudiciais, devido ao papel específico que desempenham nos processos metabólicos, ou pelas interacções, de carácter sinérgico ou antagónico. Particularmente perigosos são os metais pesados. Atravessam em geral facilmente as membranas e formam complexos com proteínas, ácidos nucleicos e lípidos, atacando a estrutura e interferindo nos processos metabólicos e genéticos.

As plantas reagem rapidamente às alterações químicas do ambiente. Algumas conseguem adaptar-se, tolerando e acumulando determinados elementos, mas no entanto também reflectem as consequências do «stress» químico, que afecta sobretudo o curso normal do processo fotossintético. De acordo com os cálculos recentes, estima-se que a produção vegetal pode baixar em ca 50 % em relação aos valores actuais, no caso da duplicação de intensidade de poluição ambiental (KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979)).

Nos animais, a barreira biológica de protecção contra o «stress» químico é mais desenvolvida, conseguindo, dentro de certos limites, adaptar-se às alterações graduais da composição química do ambiente. Todos estes «stresses» químicos, bruscos ou graduais, mas persistentes, são a causa da degradação da saúde e perturbação do desenvolvimento.

No plano da vida, codificado na molécula de DNA há milhares de milhões de anos — verdadeira origem da engenharia biológica — foi fixado o mecanismo de utilização de certos elementos disponíveis, presentes no ambiente, como material de construção e fonte de substâncias energéticas. Não admira, pois, que a alteração quantitativa e qualitativa destes elementos, tenha efeitos diferentes dos «previstos».

É esta a pista que está a orientar os especialistas na busca das causas da deterioração progressiva da saúde e dos meios para as eliminar (os objectivos da Ecologia Profiláctica). A relação entre esta deterioração e alteração da biosfera, em consequência da actividade humana, é tão evidente, que se deno-

minaram como «doenças de civilização» aquelas cuja incidência aumenta progressivamente nos países mais industrializados: as doenças cardiovasculares, o cancro, as doenças psíquicas e distúrbios do sistema nervoso, diabetes, esclerose múltipla, reumatismo, etc. (ALEKSANDROWICZ, 1979; ALEKSANDROWICZ & DOBROWOLSKI 1979, 1980).

Existem provas, cada vez mais evidentes, de que a nossa saúde, tanto física como psíquica, depende da presença, em quantidades mínimas, de pouco mais de uma dúzia de elementos minerais — os oligoelementos e alguns elementos maiores, como p.ex. magnésio, além das vitaminas. Analisemos alguns exemplos.

Os maiores índices de mortalidade por causa de diferentes formas de leucémia (dados referentes ao ano 1971) correspondem aos países escandinavos, Suíça, USA, Nova Zelândia (entre 17,4 % e 13,8 %). Enquanto que os índices mais baixos, para o mesmo período, foram registados em Espanha, Japão e Venezuela (5,33 % — 3,6 %). Estas áreas correspondem à distribuição geográfica diferencial do selénio: solos mais pobres no primeiro grupo e muito mais ricos no segundo (ALEKSANDROWICZ 1976^a). É de salientar que o Japão constitui uma excepção — apesar de pertencer ao grupo dos países mais desenvolvidos, no entanto a sua população é muito saudável (excepto o cancro de estômago, que é um caso à parte). Para explicar este facto, admite-se a presença na alimentação tradicional dos Japoneses, de factores protectores contra as doenças de civilização. Efectivamente, a sua dieta à base de cereais integrais, peixe, algas, leguminosas, é particularmente rica em oligoelementos e outros elementos essenciais, à excepção de molibdénio — facto esse, a que se atribui, entre outras causas, a elevada incidência de cancro de estômago no Japão. (ALEKSANDROWICZ 1980).

Podemos mencionar outro caso «excepcional», mas desta vez tragicamente excepcional: o caso dos Finlandeses. Não sendo um país dos mais industrializados, no entanto a degradação rápida da sua saúde é alarmante. A Finlândia está à cabeça da lista das incidências de esclerose múltipla (que contrariamente ao habitual ataca aí também os indivíduos jovens), doenças cardiovasculares, cancro. Para explicar este facto segue-se a mesma linha de pesquisas do caso do Japão. E as conclusões a que se chegou são as mesmas, só que aqui estamos perante a inversão das circunstâncias. Qual é a fonte dos bioelementos dos Finlandeses? Ponhamos de parte a água, pois sendo de origem glacial, é de extrema pureza — sinónimo de pobreza em sais minerais. A alimentação, tradicional até há pouco tempo, foi substituída por outro modelo, mais «civilizado», com introdução de produtos refinados. De modo que foram privados da pouca, mas ainda que suficiente, protecção que tinham (ALEKSANDROWICZ, 1980).

Os estudos realizados na América do Norte, apoiam esta hipótese. Foi demonstrado que existe uma estreita correlação entre a riqueza de selénio na

dieta e a incidência de certas formas de cancro (SCHRAUZER 1976), o que veio confirmar os resultados dos ensaios de laboratório realizados pelo mesmo autor: a incidência espontânea de tumores de mama numa linha de ratos, baixou de 85 % a 10 %, pela adição de 2 ppm de selenito de sódio na dieta (SCHRAUZER 1977; GRIFFIN & LANE 1980).

Além do selênio, outro elemento cuja deficiência está relacionada com a elevada frequência de «doenças de civilização», é o magnésio (dada a sua importância, incluímo-lo nesta discussão, embora não pertença à categoria dos oligoelementos). A sua carência pode em parte resultar do empobrecimento do solo em consequência de aplicação de adubos químicos e da poluição industrial (SO₂).

O teor do magnésio no organismo não depende unicamente da sua maior ou menor riqueza nos alimentos (seria p. ex. muito fácil e simples corrigir esta deficiência pelo uso de sal não refinado), mas reflecte também a agressão a que está exposto o homem, na forma de inalação de gases de escape dos motores (tetróxido de chumbo). O chumbo e o magnésio são elementos antagónicos — a presença de chumbo faz baixar o nível de magnésio. A deficiência deste último (agravada pela ingestão de álcool), facilita a assimilação de chumbo, que se acumula no organismo, sendo os tecidos jovens os que o assimilam mais intensamente. A importância do magnésio é fundamental para o correcto desenvolvimento estrutural e funcional do cérebro. A sua deficiência pode contribuir para o aparecimento de encefalopatias graves, com alteração de comportamento, agressividade, etc., o que caracteriza frequentemente os delinquentes juvenis. (ALEKSANDROWICZ 1976, 1979).

Já se aconselha a administração de sais de magnésio aos operários particularmente expostos à possibilidade de intoxicação pelo chumbo. Há também experiências positivas e animadoras que resultam da administração de sais de magnésio e de cálcio aos doentes cancerosos, com problemas cardíacos ou com «stress» psíquico.

Está actualmente em curso a realização dum importante projecto de extracção de bioelementos na sua forma natural, a partir das salinas venezuelanas, das mais ricas do mundo, como matéria-prima da indústria farmacêutica. É uma prova de reconhecimento do valor dos bioelementos como factor decisivo, que condiciona a saúde do homem. É de esperar, que o reconhecimento deste facto leve a adopção de medidas de protecção da biosfera, e em primeiro lugar, à preservação do equilíbrio entre os seus componentes. (ALEKSANDROWICZ 1979, 1980).

BIBLIOGRAFIA

- ALEKSANDROWICZ, J., 1976 a — A Ciência cria a Esperança. Ed. Wiedza Powszechna, Warszawa —, 1976 b — cit. in PASSWATER 1980, 1979 — Consciência Ecológica. Ed. Wiedza Powszechna, Warszawa, 1980 — Conferência de introdução ao Symp. Científico sobre a «Função biológica do selénio e perspectivas para a sua aplicação profiláctica», Acad. Pol. de Ciênc. 12 Nov. Kraków.
- ALEKSANDROWICZ, J., & B. SMYK, 1973 — The association of neoplastic diseases and mycotoxins in environment, Texas Rep. on Biol. and Med. 31 (4): 715-726.
- ALEKSANDROWICZ, J., J. LISIEWICZ, B. SMYK and S. SKOTNICKI, 1976 — The effect of sodium selenate on cytotoxic action of aflatoxin B₁ in regard to cultured human lymphocytes and to embryonic development of *Xenopus laevis*, Rev. Esp. Oncolog. 23: 7-11.
- ALEKSANDROWICZ, J., & J. DOBROWOLSKI, 1979 — Submolekulare Prophylaxe von Leukämie, Euromed 6 —, 1980 — Selénio em profilaxia ecológica das neoplasmas e leucemias, Symp. Científico sobre a «Função biológica do selénio e perspectivas para a sua aplicação profiláctica», Acad. Pol. de Ciênc. 12 Nov. Kraków.
- ARCHER, L. J. 1976 — Genética Molecular, ed. Brotéria, Lisboa.
- BADIELLO, R. et. al., 1971 — Intern. Journ. of Rad. Biol. 20(1): 61-68 (cit. in PASSWATER 1980)
- BAILEY E, et al., 1975 — The medical chemistry of lithium, Progress Med. Chem. 11: 193-273 (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).
- BERRY, W. L. & A. WALLACE, 1974 — Trace elements in the environment — their role and potential toxicity as related to fossil fuels — a preliminary study, Univ. of California, Los Angeles (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).
- BOSTRÖM, H. & F. O. WESTER, 1967 — Trace elements in drinking water and death rate in cardiovascular diseases, Acta Med. Scand. 181: 465-472 (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).
- BOWEN, H. J. M., 1966 — Trace elements in biochemistry, Acad. Press, London (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS).
- COLOMBETTI, G. & S. MUNTI, 1971 — Proc. European Bioph. Conf. 2: 45-53 (cit. in PASSWATER 1980).
- DOWNES, C. P., Ch. A. McAULIFFE & R. C. WINTER, 1979 — Selenium in Biochemistry, Inorg. Persp. in Biol. and Med. 2: 241-270.
- FOUAD, M. T., 1979 — Selenium and cancer, chromium and diabetes: two essential trace elements that have their merits as dietary supplements in human nutrition, Journ of Appl. Nutr. 31(1&2): 14-23.
- FROST, D. V. & R. van POUCKE, 1972 — Selenium and ubiquinones in host-defense mechanisms, Trace Subst. Env. Health 6: 259-266 (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).
- GANTHER, H. E., P. A. WAGNER, M. L. SUNDE & H. W. G. HOEKSTRA, 1972 — Protective effects of selenium against heavy metal toxicities, Trace Subst Env. Health 6: 247-258 (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).
- GEORGIEFF, (cit. in ALEKSANDROWICZ 1976 a).
- GLEN, A. I. M., M. W. B. BRADBURY & J. WILSON, 1972 — Stimulation of the sodium pump in the red blood cells by lithium and potassium, Nature 239: 399-401.
- GRIFFIN, C & H. LANE, 1980 — 2nd Int. Symp. on Selenium in Biol. and Medic, — Texas Univ., Lubbock, Texas (cit. in PASSWATER 1980).
- HADJIMARKOS, D. M., 1973 — Trace elements and dental health, Trace Subst, Env. Health 7: 25-30 (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

- HOEKSTRA, W. G., 1975 — Glutathione peroxidase activity of animal tissues as an index of selenium status, *Trace Subst. Env. Health* 9: 331-337 (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).
- KABATA-PENDIAS, A. & H. PENDIAS, 1979 — Trace elements in the biological environment, ed. Wydawnictwo Geologiczne, Warszawa.
- KESHAN DISEASE RESEARCH GROUP (Chinese Academy of Medical Sciences), 1979 — Epidemiologic studies on the etiologic relationship of selenium and Keshan disease, *Chinese Medical Journal* 92(7): 477-482.
- LEJEUNE, (cit. in ROSSION, P., 1981 — La débilité mentale: un manque de «folate», *Science & Vie*, 763).
- LISK, D. J., 1972 — Trace metals in soils, plants and animals, *Adv. Agron.* 24: 267-325 (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).
- MARCZYNSKI, B., D. ZAREMBA & J. CHMIELOWSKI, 1980 — Ligação de iões de selénio tetravalente com os ácidos nucleicos e sua influência no efeito mutagénico e processo de transcrição, *Symp. Científ. sobre selénio*, 12 Nov. Kraków.
- NEWBERNE, P. M. & M. W. CONNER, 1974 — Effect of selenium on acute response to aflatoxin B₁, *Trace Subst. Env. Health* 8: 323-328 (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).
- O. M. S., 1973 — Les oligo-éléments en nutrition humaine, *Série de Rap. Techn. N.º 532*, Genève.
- PASSWATER, R. A., 1980 — Selenium as Food & Medicine, Keats Publishing, New Canaan, Connecticut, USA.
- PERRY, H. M., E. F. PERRY & M. W. ERLANGER, 1974 — Reversal cadmium induced hypertension by selenium or hard water, *Trace Subst. Env. Health*, 8: 51-57 (cit in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).
- PRASAD, A. S., 1978 — Trace elements and iron in human metabolism, Plenum Press, N. York —, 1979 — Trace elements: Biochemical and clinical effects of zinc and copper, *Am. J. Hematol.* 6 (1): 77-88.
- RAPORT WHO, 1972 — IRAC monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man, Lyon (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979) —, 1973 — Water quality, trace elements and cardiovascular disease, *WHO Chronicle* 27: 115-123 (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).
- ROTRUCK, J. T., A. L. POPE, H. E. GANTHER et al., 1973 — Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase, *Science* 179: 588-590 (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).
- SCHRAUZER, G. N., 1976 — Selenium and Cancer: A Review, *Bioinorg. Chem.* 5: 275-281 —, 1977 — Inhibition of the genesis of spontaneous mammary tumors in C₃H mice: Effects of selenium and of selenium-antagonistic elements and their possible role in human breast cancer, *Bioinorg. chem.* 6 (3): 265-270 —, 1978 — Inorganic and Nutritional Aspects of Cancer, N. York, Plenum Press, (cit. in PASSWATER 1980) —, 1980 (cit. in UHLANDER, J. — Selenium, a mineral made to fight cancer, *Prevention, Feb.*: 128-132) —, D. WHITE & C. SCHNEIDER, 1977 — *Bioinorg. Chem.* 7: 36 (cit. in PASSWATER, 1980).
- SCHWARTZ, K. & C. M. FOLTZ, 1958 — *J. Biol. Chem.*, 233: 245 (cit in DOWNES et al., 1979, and in PASSWATER, 1980).
- SCHWARTZ, K. & W. MERTZ, 1957 — A glucose tolerance factor and its differentiation from Factor 3. *Arch. Biochem. Biophys.* 72: 515-518.
- SCIENCE & VIE, 1979 — Les algues aggravent la pollution, *Science & Vie*, 744: 82.
- SHAMBERGER, R. & C. WILLIS, 1971 — (Cit. in PASSWATER 1980) —, TYTKO & C. E. WILLIS, 1973 — Antioxidants and cancer, *Trace Subst. Env. Health* 7: 35-40

- (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979)—, &—, 1975 a—Selenium and heart disease, *Id. 9*: 15-22 (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979)—, M. GUNSCH, C. WILLIS & L. McCORMACK, 1975 b—Trace Substances in Environmental Health, ed D. Hemphill, Columbia, Univ. of Mississippi Press (cit. in PASSWATER 1980).
- SPRINKER, L. H., 1971—Nutritional Reports Intern 4 (6): 335-339 (cit. in PASSWATER 1979).
- STOEWSAND, G. S., C. A. BACHE & D. J. LISK, 1974—Dietary selenium protection of methylmercury intoxication of Japanese Quail, *Bull. Env. Contam. 11*: 152-156 (cit. in KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).
- WALLACH, J., 1978—Paper presented at the Workshop on Model Systems for the Study of Cystic Fibrosis, Bethesda, Maryland, U. S. A. (cit. in PASSWATER 1980).
- WRAY, B. B., 1975—Mycotoxin-Producing Fungi from House Associated with Leukemia, *Arch. of Environment Health 30*.
- YEN, T. F., 1972—Vanadium chelates in recent and ancient sediments, *Trace Subst. Env. Health 6*: 347-353 (cit. KABATA-PENDIAS & PENDIAS 1979).

HIDROCEFALIA — PROBLEMAS NA DETERMINAÇÃO DOS TIPOS DE HEREDITARIEDADE

Maria Teresa Lavandeira Pimenta

Serviço de Neurologia e Neurocirurgia do Hospital de S. João, Porto

M.^a da Purificação V. Sampaio Tavares

Serviço de Genética Médica da Faculdade de Medicina do Porto

A hidrocefalia constitui uma das malformações congénitas mais frequentes do tubo neural. Isolada ou associada a outras malformações de maior ou menor gravidade, põe sérios problemas de ordem familiar, social e médica.

Em sentido lato, o termo hidrocefalia significa a acumulação de líquido cefaloraquidiano (LCR) intracraniano; por hidrocefalia interna entende-se o aumento de LCR dentro do sistema ventricular, e por hidrocefalia externa a sua acumulação no espaço subaracnoideu.

De um modo geral, quando se fala em hidrocefalia congénita, referimo-nos a hidrocefalia interna, seja ela provocada por uma obstrução (estenose, forking) à circulação do LCR ao nível do aqueduto de Sylvius ou, em menor número de casos, sem essa obstrução.

Quando esta acumulação do LCR se produz rapidamente, a pressão intracraniana aumenta, apresentando-se uma hidrocefalia aguda, cujos sinais clínicos serão muito mais espectaculares e graves.

Porém, na maior parte dos casos, a acumulação faz-se lenta e progressivamente, com períodos de exacerbação em que a pressão fica aumentada — hidrocefalia crónica.

Qualquer destas hidrocefalias, em especial a crónica, pode estacionar durante algum período de tempo e até definitivamente.

Estas noções tornam-se importantes para se poder compreender os aspectos clínicos e a evolução das hidrocefalias.

SINAIS CLÍNICOS — A criança com hidrocefalia congénita tem, ao nascimento, um perímetro cefálico já aumentado, uma frente muito proeminente — frente olímpica —, uma desproporção entre crânio e face e entre crânio e torax notória, a rede venosa do couro cabeludo muito visível, as fontanelas aumentadas, sobretudo a anterior, por vezes com as suturas dos ossos

craneanos muito separadas e, à palpação nota-se um aumento da pressão e uma diminuição da pulsatilidade habitual.

Outro sinal característico das hidrocefalias de pressão aumentada é o sinal de sol poente (o globo ocular fica desviado para baixo, sendo visível apenas a metade superior da íris). Os ossos craneanos são finos, e o cortex cerebral mostra, por vezes, achatamento da circunvoluções em virtude de estar comprimido entre o LCR intraventricular e a calote; disto resulta, como é óbvio, o desaparecimento do espaço subaracnoideu, uma obstrução secundária do LCR, entrando-se num círculo vicioso que vai agravando a situação.

Daqui se infere que a situação de hidrocefalia é grave e o seu tratamento urgente, sobretudo quando em fase aguda.

A compressão do cortex cerebral e a diminuição de irrigação sanguínea que daí deriva, se não for imediatamente corrigida, conduz a lesões definitivas, graves, das quais se salienta o atraso mental, associado ou não a cegueira e paralisia dos membros inferiores.

Problemas na determinação do tipo de hereditariedade

A dificuldade de avaliação da frequência destas malformações resulta do pequeno número de famílias observadas, da deficiente informação acerca de nados-mortos e do desconhecimento do determinante genético causador.

A frequência de hidrocefalia congénita é de 0,61/1000 nascimentos, sendo variável de país para país.

De entre estas, as que são causadas por estenose do aqueduto, tendo associados sinais como o atraso mental, a espasticidade dos membros inferiores e a adução dos polegares foram descritos por Adams e Bickers em 1949. Este tipo de hidrocefalia representa 2 % de todos os casos e tem uma hereditariedade, bem conhecida, condicionada por um gene recessivo, ligado ao cromossoma X.

No entanto, os dados revelam uma baixa incidência de hidrocefalia em irmãos de indivíduos afectados com hidrocefalia primária. O risco de recidiva é de 2,1 % (2/95); entre irmãos de indivíduos afectados com hidrocefalia por estenose do aqueduto de Sylvius a recorrência já é de 5,7 % (2/35).

Está demonstrada, no entanto, uma correlação estatística entre a incidência de hidrocefalia congénita e as idades paterna e materna.

Um outro tipo de transmissão, esta agora provavelmente autossómica dominante, verifica-se para as hidrocefalias congénitas comunicantes; há ainda casos que sugerem uma transmissão autossómica recessiva, sendo as restantes consideradas de causa multifactorial, de aconselhamento difícil. A grande dificuldade de interpretação resulta dos casos numerosos de crianças com hidrocefalia congénita, isolada ou associada a outras lesões, sem história familiar, como também acontece na anencefalias e nas espinhas bifidas.

A origem embriológica destas anomalias é evidente e remonta aos estados precoces de formação do tubo neural, se bem que, em alguns casos se pense ser mais tardio, já fetal; mas o mecanismo da lesão responsável é ainda muito discutido.

O estudos feitos em embriões humanos (50 % das malformações do tubo neural são provavelmente rejeitadas no decurso da gestação), ou em estudos experimentais induzindo hidrocefalia em animais, quer provocando deficiência de zinco, injectando caulino e outros teratogéneos, quer, mais recentemente, estudando a produção e reabsorção de LCR e a sua circulação, têm levado a uma melhor compreensão da patogénese da hidrocefalia.

Em 1900, Burr e McCarthy tentaram induzir hidrocefalias agudas, injectando soluções irritantes no ventrículo cerebral de gatos. Desde então muitas experiências têm sido empreendidas com conclusões permanentemente em questão, transmitidas a um público cada vez mais interessado.

Vejam os alguns teratogéneos com pontos de acção conhecidos:

- A radiação ionizante, usada em experiências desde há muito e que provoca frequentemente malformações do SNC, dependendo da fase de desenvolvimento embrionário, da dose e do tempo de exposição. De notar que, em muitas destas experiências, a hidrocefalia só se manifesta posteriormente ao nascimento.
- Outra das causas, atingindo igual ou até maior número de casos, são as infecção intrauterinas. Jobusen, Kilham e Margolis estudaram as hidrocefalias causadas por infecções víricas.
- A hipervitaminose A durante a gestação de ratinhos produz hidrocefalia, para além de outras malformações. Os salicilados (entre eles a aspirina) são teratogéneos no ratinho e no rato (O'Toole e Warkany), assim como a ciclofosfamida, a tiotropina, o metiltiou-racilo, o telerium e muitos outros.
- As deficiências nutricionais são capazes de provocar hidrocefalia, como a avitaminose A, a deficiência em riboflavina, ácido fólico, vit. B₁₂, cobre e zinco (este último pode induzir malformações congénitas por deficiências transitórias limitadas a alguns dias durante a gestação).

No momento actual começamos já a ouvir falar em prevenção destas anomalias; mas pelo menos, se houver uma detecção e diagnóstico precoces, poder-se-ão evitar graves sequelas e melhorar significativamente a vida destas crianças através de um tratamento bem orientado, bem assim como um aconselhamento genético com informação do risco às famílias atingidas, cuja perspectiva de resultados, a curto e a médio prazo, começa a ser encorajador.

BIBLIOGRAFIA

- ADELOYE/WARKANY — Experimental congenital hydrocephalus — *Child's Brain* 1976. (325-360).
- BICKERS e ADAMS — Hereditary stenosis of the aqueduct of Sylvius as cause of congenital hydrocephalus — *Brain*, 1949, 72.
- JANSSEN — Sex-linked hydrocephalus — *Develop. Med. Child Neurol.* 1975.
- SAJID — Familial aqueductal stenosis and basilar impression — *Neurology* 1968.
- TRASLER — Aspirin-induced cleft lip and other malformations in mice — *Lancet* 1965 606-607)
- MARGOLIS, KILHAM — Experimental virus-induced hydrocephalus — *J. Neurosurgery* 1969 (31:1-9).
- SATOSHI MATSMOTO e col. — Comparative study of various models of experimental hydrocephalus — *Child's Brain* 1975.
- SETEVENSON, JOHNSTON, STEWART e GOLDING — Congenital Malformations. A report of a study of series of consecutive birth in 24 centers — *Bull. Wld. Org.* 1966 (Suppl).
- Incidência de hidrocefalia no Hospital de S. João — Experiência de 10 anos — T. LAVAN-DEIRA PIMENTA, CAROLINA GARRETT, M. P. SAMPAIO TAVARES, LUIS VOUGA.
- NOVA, H. R. — Familial communicating hydrocephalus, posterior cerebellar agenesis, mega cisterna magna, and port-wine nevi. Report on five members p of one family *J. Neurosurg.* 1979 51/6 (862-865).
- BAY, KERZIN, and HALL — Recurrence risk in hydrocephalus — *Birth Defects orig. artic. ser.* 1979 15/5 C (95-105).
- IMAIZUMI — Congenital hydrocephalus in Japan: Paternal age, maternal age, and birth order — *Congen. Anomal. (Tokyo)* 1979 19/1 (21-30).

CYTOGENETIC STUDIES ON *CHORTHIPPUS JUCUNDUS*
(FISCH.) (ORTHOPTERA: ACRIDIDAE).
I. HETEROCHROMATIC SEGMENTS IN SPANISH
WILD POPULATIONS

J. Gosálvez *, C. Garcia de la Vega *, C. López Fernández * and J. S. Rufas **

* Departamento de Genética.

** Departamento de Citología e Histología C-XV, Facultad de Ciencias,
Universidad Autónoma de Madrid, Madrid — 34 (SPAIN).

RESUMO

Foram estudados os segmentos heterocromáticos de três populações distintas do gafanhoto *Chorthippus jucundus* (Orthoptera: Acrididae) usando a técnica de C-banding. Os bivalentes L_2 , M_6 , M_7 e S_8 apresentam zonas heterocromáticas. O segmento heterocromático que afecta os cromossomas de S_8 aumenta o tamanho do cromossoma para cerca do dobro. Em duas das populações existem cariomorfos correspondentes aos três tipos de bivalentes (bb, bh, hh) e a sua frequência ajusta-se às expectativas da distribuição de Hardy-Weinberg. No diplóteno dos três cariomorfos, não se verificaram variações quanto a frequência dos quiasmata. Discute-se a possível origem do segmento heterocromático extra, localizado em S_8 .

INTRODUCTION

Chromosome polymorphisms involving extra chromatin (supernumerary segments and B-chromosomes) occur in a large number of plant and animal species (BATTAGLIA, 1964; WHITE, 1973). Polymorphisms for supernumerary heterochromatic material are particularly widespread in orthopteroid insects (see reviews by JOHN, 1973; SCHROETER and HEWITT, 1974). The identification of such polymorphisms has normally involved conventional staining techniques, but the use of C-banding procedures provides an especially favourable method for demonstrating them.

It has been shown that the grasshopper *Chorthippus jucundus* is polymorphic for the presence of heterochromatic segments on the largest L chro-

mosome in the complement (JOHN, 1973). The present paper is based on an analysis of the supernumerary segments present in three isolated Spanish populations of *Chorthippus jucundus*.

MATERIAL AND METHODS

Adult males of *Chorthippus jucundus* (Orthoptera: Acrididae) were collected from three quite separate localities near Madrid: (AU) Universidad Autónoma, (GR) Gredos and (SG) Segovia. Testes of late instars or adults were fixed in the field in 3:1 (Absolute ethanol: glacial acetic acid), stored in 70 % ethanol under refrigeration (-10°C) and subsequently squashed in lactoacetic orcein. The C-banding method was employed as reported by LOPEZ-FERNANDEZ and GOSALVEZ (in press).

RESULTS

a) *Geographic situation and karyotype description*

Ch. jucundus is restricted in its distribution to wet rushy places; most of its populations are therefore isolated, from one another. Individuals were collected from three populations in the vicinity of the Sistema Ibérico Central (Spain). Two of the populations (AU and GR) are situated on the South side while the third (SG) lies on the North side of this chain of mountains. Since the populations are not large, we have been careful to take only small samples in each case.

The standard male complement includes eight autosome pairs and a single X chromosome. Three of the autosome pairs are metacentric (L_1-L_3). The remainder are telocentric, including one pair of small size (S_8) and a range of medium pairs (M_1-M_7). The unpaired X chromosome is the largest of the telocentrics (JOHN, 1973) (Fig. 1a).

b) *Supernumerary segments and heterochromatic zones*

Two populations (AU and SG) proved to be polymorphic for a supernumerary heterochromatic segment on the S_8 chromosome. This extra segment consists of heterochromatic material located on the distal end of the chromosome, which increases its size by some 100 % (Fig. 1c, d and 2c).

Three different types of S_8 bivalent can be distinguished, namely: bb, normal bivalent; bh, heterozygous for a supernumerary segment, and hh, homozygous for the supernumerary segment (Fig. 1b, c, d).

The heteromorphic S_8 bivalent of bh individuals divides equationally during anaphase-I and reductionally in anaphase-II. In a very few cases reductional separations are detected in metaphase-I (Fig. 1e). Following equational separation at anaphase-I the resultant half bivalents include two unequal chromatids, and so are readily distinguishable at metaphase-II (Fig. 1f).

The M_6 bivalent is usually associated with the X chromosome and M_7 sometimes is also. When the heterochromatic segment is present on S_8 , it also becomes associated with the X (Fig. 1g).

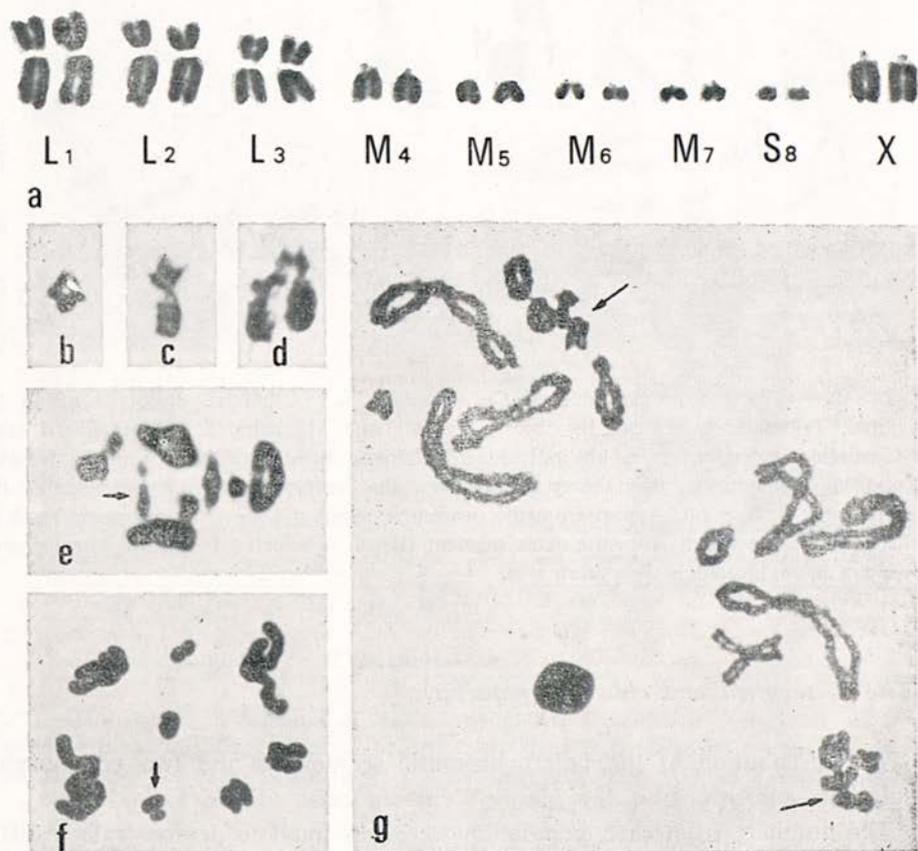


Fig. 1 a.—Mitotic complement from a female of *Ch. jucundus*. b-g.—Orcein-stained cells and selected bivalents of *Ch. jucundus*. b.—Basic S_8 bivalent (bb). c.—Heterozygous S_8 bivalent (bh). d.—Structural homozygous S_8 bivalent (hh) e.—Reduction separation of the S_8 bivalent in metaphase-I (arrow). f.—Metaphase-II. An equational division in S_8 bivalent leads to the formation of a heteromorphic half-bivalent with unequal chromatids (arrow). g.—Associations among X-chromosome and M_6 , M_7 and S_8 pairs, in two diplotene cells. Note that the heterozygous S_8 bivalent is attached by the heterochromatic segment (arrow).

In the standard complement there are small centric blocks of heterochromatin in all the chromosomes which are C-band positive. In all the analyzed individuals two telomeric bands located on the M_6 and M_7 bivalents can be observed when the C-banding procedure is utilized (Fig. 2a, b). This method also reveals the presence of a band near the centromere region in the short arm of the L_2 pair (Fig. 2b, d). A telomeric band is visible on S_8 chromosomes when the supernumerary segment is not present (Fig. 2b, c).

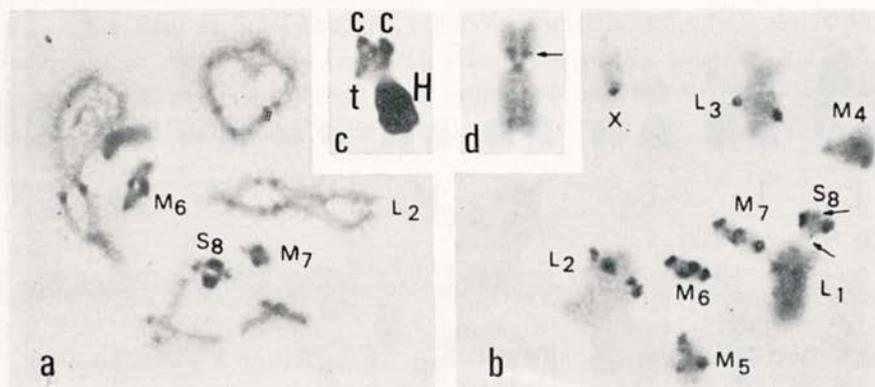


Fig. 2 a-d.—C-banded preparations of *Ch. jucundus*. a.—C-banded diplotene of an hh individual. Telomeric bands can be observed in M_6 and M_7 pairs. b.—Metaphase-I after the C-banding procedure in a bb individual. Telomeric bands are present in S_8 (arrow), M_6 and M_7 bivalents. L_2 pair shows a band near the centromere. c.—Appearance of the heteromorphic S_8 bivalent. Apart from the procentric bands (C), note the telomeric band (t) in the chromosome which lacks the extra segment (H). d.—Selected L_2 mitotic chromosome showing a band located in the short arm.

c) The S_8 segment and chiasma frequency

The distribution of the heterochromatic segment in the two polymorphic populations conformed to the Hardy-Weinberg ratio (Table 1).

The numbers from each population were too small to demonstrate a difference in chiasma frequency caused by the heterochromatic segment. Therefore, an analysis of variance was carried out on the chiasma frequencies of bb individuals (Fig. 3) between the three populations and no significant difference was found (Table 2). Then the data of the three populations were added together (Fig. 4) and a Student's t-test carried out to compare the mean chiasma frequency of individuals with and without heterochromatic segments (bb vs. bh + hh). No significant difference was found (Table 3).

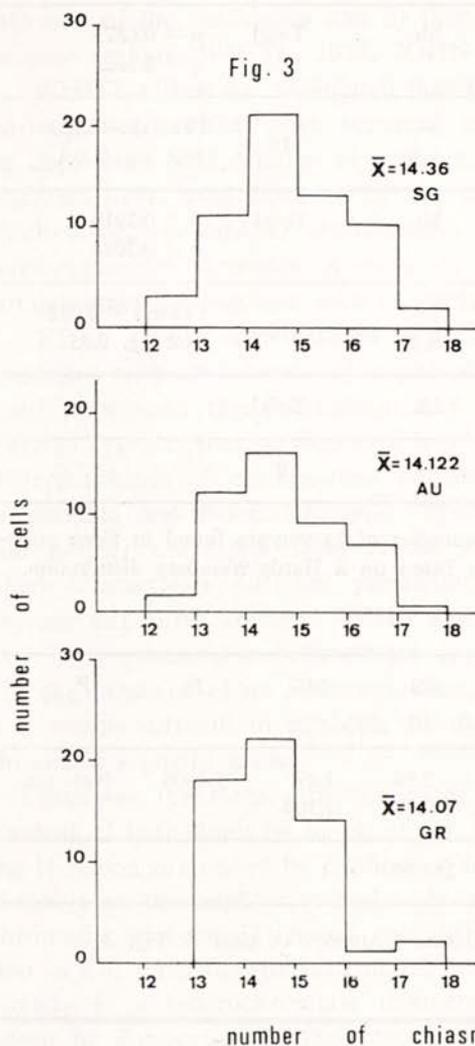


Fig. 3—Distribution histograms of mean diplotene cell chiasma frequencies in 17 bb individuals from the three populations.

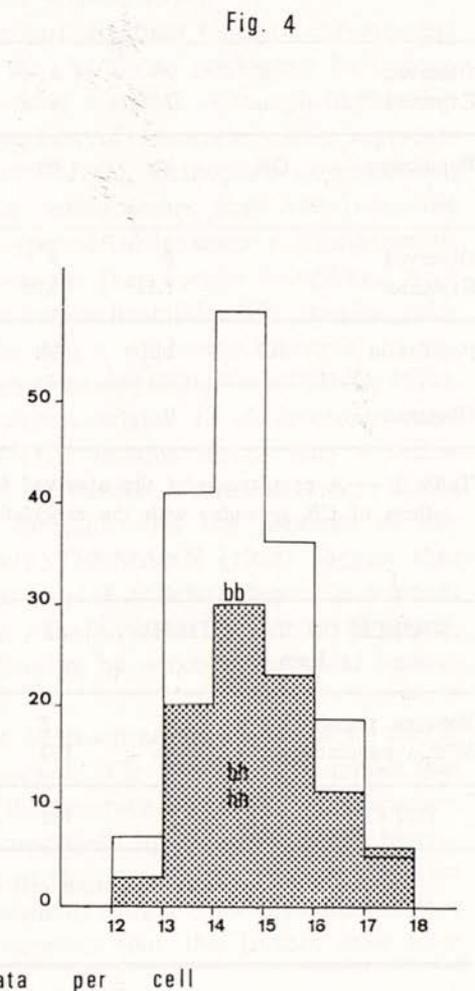


Fig. 4—Distribution histograms of mean diplotene cell chiasma frequencies in bb individuals (GR, AU, SG populations) and bh-hh individuals (GR and AU populations).

DISCUSSION

There are many references reporting the presence of supernumerary segments, either interstitial or distal, in the chromosome complements of Orthoptera, as well as the existence of chromosome polymorphisms related to them

Population	AU	bb	bh	hh	Total	p = 0.6875 q = 0.3125
Observed		9	4	3	16	(Yates) = 1.523 Not sig. 0.5-0.3
Expected		7.56	6.87	1.56		
Population	GR	bb	bh	hh	Total	p = 0.7916 q = 0.2083
Observed		8	3	1	12	(Yates) = 0.052 Not sig. 0.95
Expected		7.51	3.95	0.52		
Population	SG	bb	bh	hh	Total	
Observed		9	—	—	9	

Table 1 — A comparison of the observed frequencies of karyotypes found in three populations of *Ch. jucundus* with the expectation based on a Hardy-Weinberg distribution.

SOURCE OF VARIATION Item	df	SS	MS	F _s	P _{0.01}
Between populations	2	2.98	1.49	1.1408	Not. sig.
Within populations	163	212.92	1.306		
TOTAL	165	215.90			

Table 2 — ANOVA of mean cell chiasma frequency of data in Fig. 3

	\bar{X}	σ^2	n	t ₂₅₈	P _{0.01}
Basic individuals	14.192	1.1402	166	1.4415	Not. sign.
bh and hh individuals	14.414	1.223	94		

Table 3 — t-«Student» test from data in Fig. 4

(see HEWITT, 1979 for review). These segments are heterochromatic and C-banding usually reveals them (KING and JOHN, 1980). However, their origin has not still been clarified. When trying to explain the presence of these segments in the chromosome sets of Orthoptera two hypotheses have been forwarded: i) they arise following the translocation of B-chromosome material

onto one of the autosomes and ii) they stem from direct duplication of chromosome regions (WHITE, 1973; JOHN and KING, 1977).

WHITE (1969) has postulated that the most frequent kinds of chromosome rearrangements which have occurred in the Acrididae phylogeny have been the duplication and deletion of heterochromatic material. Although duplication processes have been involved in the formation of heterochromatic segments which affect the smaller chromosome pairs of the Orthoptera complements, heterochromatin increases in some of the chromosomes may have occurred through other mechanisms, such as special types of chromosome rearrangements.

KEYL (1961) demonstrated in *Chironomus* that certain inversions, were associated with an increase of constitutive heterochromatin. The possible relationship between this mechanism and the origin of heterochromatin in the species *Cryptobothrus chrysophorus* has been discussed (JOHN and KING, 1977). Different kinds of chromosome polymorphisms related to chromosome rearrangements and heterochromatic regions exist in this insect. But it seems that neither the fixed distal blocks nor the floating supernumerary blocks which characterize different populations correlate with the presence of any obvious structural change. WEBB and WESTERMANN (1978) suggest that there is a relationship between the appearance of a heterochromatic segment and the presence of an isochromosome in *Phaulacridium marginale*. However, it is usually difficult to establish the mechanism by which a particular heterochromatic segment arose.

Studying the three different zones of heterochromatin revealed in the S_8 bivalent of individuals bh or hh of *Ch. jucundus* (Fig. 2c), we can suppose that the H region originated by duplication of the heterochromatic t zone. However, if this is so, the duplication had to be accompanied by a change in the heterochromatin, as t and H regions now differ in their staining properties. The fact that in *Ch. jucundus* the supernumerary segment occurs on a chromosome that already as a heterochromatic telomere suggests that the former may have arisen by duplication of the latter.

b) Heterochromatin and chiasma frequency

The heterochromatin located in the chromosome sets of orthopteroids and other organisms can influence the control of chiasma frequency at two levels: i) on the different bivalents of the chromosome set and ii) within the bivalent affected by the heterochromatic segment.

The data from the three populations reported on here indicate that supernumerary material has no pronounced effects on chiasma frequency. The range distribution of the chiasm number is very similar to that reported by JOHN (1973) in S_8 -bb individuals of *Ch. jucundus* from another different Spanish popu-

lation. In this population significant differences exist when the frequencies are grouped according to karyotypes bh and bb, but in this case the heterochromatic segment is placed in the short arm of the largest chromosome pair. These results effectively confirm that the localization of the heterochromatic segment in the S_8 bivalent does not influence recombination in the other bivalents.

Change in chiasma frequency control, related to heterochromatic regions located in some particular chromosome, as it occurs in *Chorthippus parallelus* (HEWITT and JOHN, 1968; WESTERMANN, 1969), *Myrmeleotettix macculatus* (JOHN and HEWITT, 1965) and *Oedaleonotus phryneicus* (SCHROETER and HEWITT, 1974), suggests that the genetic recombination in some grasshoppers is probably under polygenic control as demonstrated in *Drosophila* (CHINNICI, 1971).

The influence in chiasma frequency within bivalents has been analyzed in *Locusta* employing C- and G-banding techniques. It can be observed that heterochromatic regions form either few or no chiasma during male meiosis (FOX, 1973). The G bands particularly seem to represent a gross mechanism which suppresses or even eliminates chiasma formation within their confines and appears to be superimposed upon a finer mechanism controlling chiasma frequency variation along the chromosome. Although this would be a mechanical control, i.e. through physical interference, rather than control directly depending on heterochromatin, it is evident that these heterochromatic regions influence the control of chiasma frequency.

In most of the cases there is an equational division of the S_8 supernumerary at anaphase-I and this must be caused by a single chiasma in the bivalent (Fig. 1f). Occasionally a reductional division at anaphase-I was observed. This could possibly have been due to a chiasma forming on an achromatic short arm beyond the centromere. It is conceivable that the S_8 can pair without any chiasma forming, but there is no evidence for this (Fig. 1e). Therefore, it seems that there is no modification due to the presence of the segment on S_8 bivalent in the normal pattern of its chiasma position.

The location of any hybrid zone between the populations here on reported and that studied by JOHN in 1973 could throw some light on the nature and the origin of the segments affecting both L_1 and S_8 bivalents.

ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to thank Prof. B. John for the critical reading of the first manuscript, Dr. A. W. Harvey for his suggestions on this manuscript, Dr. G. Schroeter for statistical assistance and D. E. Morales Agacino for taxonomic determination.

REFERENCES

- BATTAGLIA, E., 1964 — Cytogenetics of B chromosomes. *Caryologia* 17 n.º 1, 245-299.
- CHINNICI, J.P., 1971 — Modification of recombination frequency in *Drosophila*. I Selection for increased and decreased crossing-over. *Genetics* 69, 71-83.
- FOX, D.P., 1973 — The control of chiasma distribution in the locust, *Schistocerca gregaria*. *Chromosoma (Berl.)* 43, 289-328.
- HEWITT, G.M., 1979 — Animal Cytogenetics. Vol. 3: Insecta I Orthoptera. Gebrüder Borntraegen, Berlin Stuttgart.
- HEWITT, G.M. and JOHN, B., 1968 — Parallel polymorphism for supernumerary segments in *Chorthippus parallelus* (Zetterstedt) I. British populations. *Chromosoma (Berl.)* 25, 319-342.
- JOHN, B., 1973 — The cytogenetic systems of grasshoppers and locusts. II The origin and evolution of supernumerary segments. *Chromosoma (Berl.)* 44, 123-146.
- JOHN, B. and HEWITT, G.M., 1965 — The B-chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb.). I. The mechanics. *Chromosoma (Berl.)* 16, 548-578.
- JOHN, B. and KING, M., 1977 — Heterochromatin variation in *Cryptobothrus crysophorus* II. Patterns of C-banding. *Chromosoma (Berl.)* 65, 59-79.
- KEYL, H.G., 1961 — Chromosomenevolution bei *Chironomus* I. Strukturabweichungen an Speicheldrüsen-Chromosomen. *Chromosoma (Berl.)* 12, 26-47.
- KING, M. and JOHN, B., 1980 — Regularities and restrictions governing the C-band variation in acridoid grasshoppers. *Chromosoma (Berl.)* 76, 123-150.
- SCHROETER, G. and HEWITT, G.M., 1974 — The effects of supernumerary chromatin in three species of grasshoppers. *Can. J. Genet. Cytol.* 16, 281-296.
- WEBB, G.C. and WESTERMANN, M., 1978 — G- and C-banding in the Australian grasshopper *Phaulacridium vittatum*. *Heredity* 41, 131-136.
- WESTERMANN, M., 1969 — Parallel polymorphism for supernumerary segments in *Chorthippus parallelus* (Zetterstedt). II. French populations. *Chromosoma (Berl.)* 26, 7-21.
- WHITE, M.J.D., 1969 — Chromosomal rearrangements and speciation. *Ann. Rev. Genet.* 3, 75-98.
- WHITE, M.J.D., 1973 — Animal cytology and evolution. Third edition. Cambridge University Press.

POLYPHENOLOXIDASE ISOZYMES IN COFEE PLANTS DIFFERING IN A SINGLE GENE FOR RESISTANCE TO *HEMILEIA VASTATRIX*

M. Eduarda M. Guedes

Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, Oeiras, Portugal

RESUMO

O estudo foi feito com plantas de *Coffea arabica* L. pertencentes ao 1.º retrocruzamento de híbrido entre Matari e Dilla & Alge, Geisha, Kent's, Caturra e Híbrido de Timor, retrocruzados para Matari, todos deferindo por um gene que condiciona a resistência à *Hemileia vastatrix* Brk. & Br. As formas moleculares da polifenoloxidase foram separadas por meio de electroforese de disco em gel de acrilamida e coradas por coloração específica da enzima. As isoenzimas da polifenoloxidase foram calculadas na base da mobilidade electroforética expressa por valores do Rf.

INTRODUCTION

There have been efforts looking for resistance *Coffea* spp. to the orange rust (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.), particularly in the work carried out by the Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro (CIFC) (RODRIGUES BETTENCOURT e col., 1975). The genetic basis of the resistance to *Hemileia vastatrix* in *Coffea* spp. was first proved in India by MAYNE (1936). Later, in the CIFC six factors SH1, SH2, SH3, SH4, SH5, SH6, were identified as responsible for resistance to a certain number of rust races (NORONHA-WAGNER & BETTENCOURT; 1967; BETTENCOURT & NORONHA-WAGNER, 1971). Attempts to correlate host resistance with polyphenoloxidase activity in Coffee leaf extracts have made (BRUGES & CONTREIRAS, 1967).

The polyphenoloxidase isozyme spectrum in Coffee plants with different degrees of resistance to the rust races has also studied in the CIFC (1974).

The object of this study was to extend work of (GUEDES and RODRIGUES, 1974) to differing in a single gene for resistance to the races of *Hemileia vastatrix* to the same cultivars.

MATERIALS AND METHODS

The leaves used for the extraction of the soluble proteins were collected at the terminal or sub-terminal node of plagiotropic branches. Polyphenoloxidase extraction was done by the method of (GUEDES & RODRIGUES, 1974). Electrophoretic separation was done according to (DAVIS, 1964) using 300 g of protein determined by the biuret method (LAYNE, 1957). Electrophoresis in acrylamide gel was carried out using gels of 7.5 % acrylamide and Tris-glycine buffer at pH 8.3. Site of activity of the studied enzymes in the developed gels were detected by incubating them into a mixture of 1 mg 3-4-dihydroxyphenylalanine (L-Dopa) and 1mg L-proline per ml of 0.1 M phosphate buffer pH 6.5. The incubation time of about 1 hour. The gels were then stored in 7 % acetic acid and photographed in storage tubes.

RESULTS AND DISCUSSION

All the BCl plants studied showed a slow-moving band near the starting point. The low banding intensity is assumed to be due to a weak activity.

Figure 1 is a diagrammatic representation of the electrophoretic patterns of the polyphenoloxidases determined. It is shown that there are at least 9 polyphenoloxidase isozymes, all of them anodic, among the Coffee cultivars and hybrids worked out.

In table I are given the Rf's of the three polyphenoloxidase isozymes of the mother parent «Matari» with values ranging from 0.13 to 0.24, and of the father parents Ca, Bs, Ke, Ge, Ht with values ranging between 0.13 and 0.76.

In table II indicates the Rf's of the polyphenoloxidase isozyme spectra of the BCl hybrids, which range from 0.13 to 0.27.

It should be pointed out that the isozymes of the polyphenoloxidase in the hybrids do not cover the total spectrum of the parents. The isozymes with Rf values of 0.13 and 0.18 (bands 1 and 2), present in the mother and father parents, are also present in the hybrids.

The specific isozymes for the father parent Ge, with Rf values ranging between 0.51 and 0.76 (Table 1) do not participate in the spectrum of the hybrid Ma × Ge).

The results obtained in this work seem to indicate that in the case of the Coffee plants there is no apparent correlation between the polyphenoloxidase isozyme spectra and the resistance to the rust.

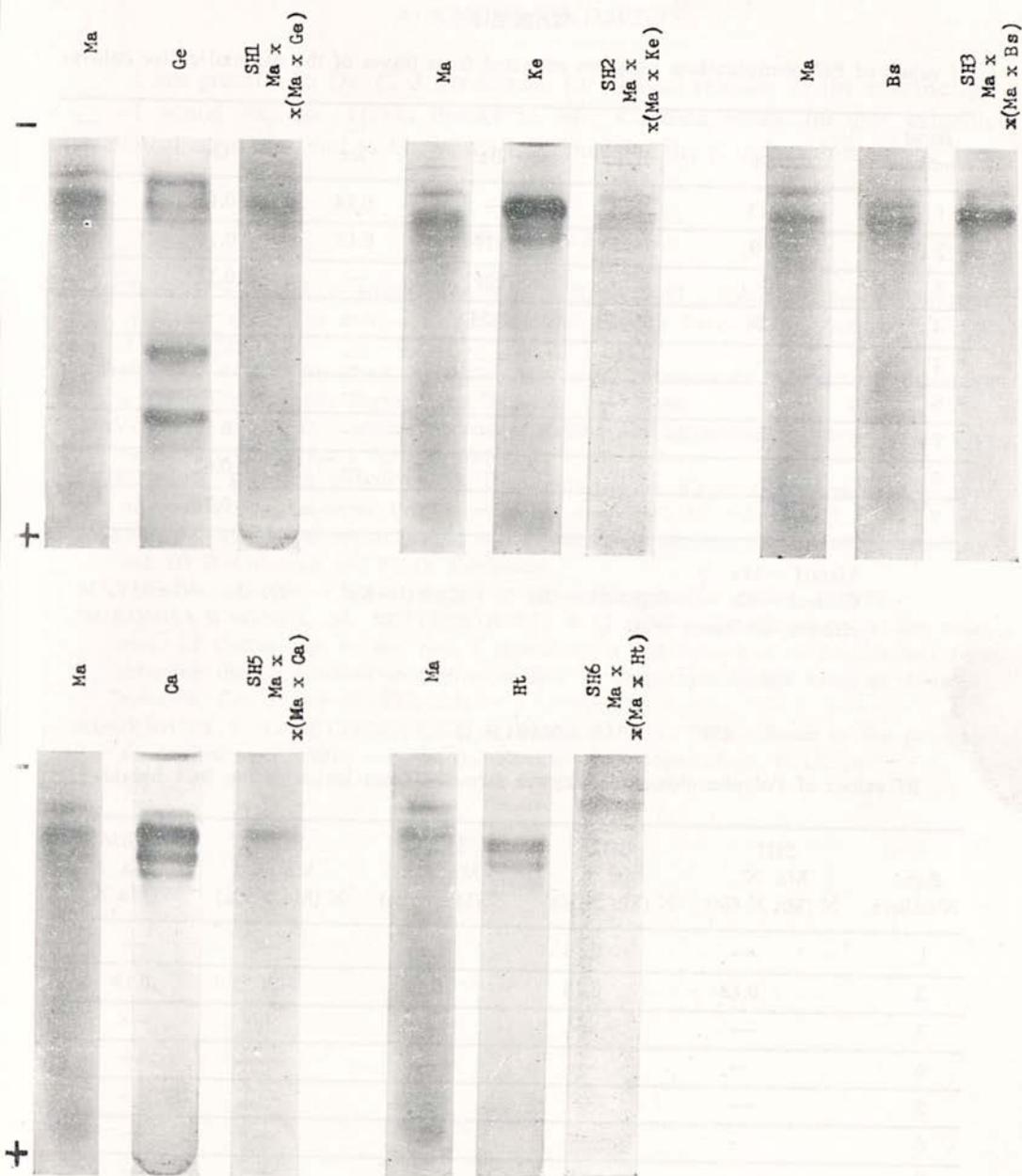


Fig. 1 — Polyphenoloxidase isozymes in coffee plants differing in a single gene for resistance to *Hemileia Vastatrix*.

TABLE I

Rf values of Polyphenoloxidase isozymes extracted from leaves of the parental coffee cultivar

Band Numbers	Ma	Ca	Bs	Ke	Ge	Ht
1	0.13	0.13	—	0.14	0.13	0.13
2	0.19	0.17	0.17	0.18	0.18	0.18
3	—	0.20	0.21	—	0.22	0.21
4	0.24	0.25	0.25	—	—	—
5	—	—	—	—	—	0.28
6	—	0.35	—	—	—	0.33
7	—	—	—	—	0.51	—
8	—	—	—	—	0.62	—
9	—	—	—	—	0.76	—

Matari — Ma ♀
 Caturra — Ca S.288-23 — Bs Kent's — Ke Geisha — Ge
 Híbrido de Timor — Ht ♂

TABLE II

Rf values of Polyphenoloxidase isozymes extracted from leaves of the BC1 hybrids

Band Numbers	SH1 Ma × × (Ma × Ge)	SH2 Ma × × (Ma × Ke)	SH3 Ma × × (Ma × Bs)	SH5 Ma × × (Ma × Ca)	SH6 Ma × × (Ma × Ht)
1	—	0.13	0.13	—	—
2	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
3	—	—	—	—	—
4	—	—	—	—	—
5	—	—	0.27	—	—
6	—	—	—	—	—
7	—	—	—	—	—
8	—	—	—	—	—
9	—	—	—	—	—

Matari — Ma ♀
 Caturra — Ca Kent's — Ke Geisha — Ge S.288-23 — Bs
 Híbrido de Timor — Ht ♂

ACKNOWLEDGMENTS

I am grateful to Dr. C. J. Rodrigues for critical reading of the manuscript.

I would like to express thanks to Mrs Cândida Sousa for her valuable technical assistance and to Mr Vasco Lourenço for the photographs of the gels.

REFERENCES

- BETTENCOURT, A. J. & NORONHA-WAGNER, M. 1971 — Genetic factors conditioning resistance of *Coffea arabica* L. to *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. *Agronomia Lusit.* 31: 285-292.
- BRUGES, J. & CONTREIRAS, J. 1967 — Aspects biochimiques de la resistance du caféier à l'*Hemileia vastatrix* Portug. *Acta Biol.* 10: 1-2: 75-88.
- DAVIS, B. J. 1964 — Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 121: 404-427.
- GUEDES, M. E. M. & RODRIGUES, C. J. 1974 — Disc. electrophoretic patterns of phenoloxidase from leaves of Coffee cultivares. *Acta Biol.* 13: 1-2: 169-177.
- LAYNE, E. 1957 — Spectrophotometric and turbidimetric methods. In *methods enzymology*, vol. III P Colowick and N. O. Kaplaneds.
- MAYNE, W. J. 1936 — Annual Report of the coffee scientific officer, 1935-36.
- NORONHA-WAGNER, M. BETTENCOURT, A. J. 1967 — Genetic study of the resistance of *Coffea* spp. to leaf rust. I Identification and behaviour of four factors conditioning disease reaction in *Coffea arabica* to twelve physiologic races of *Hemileia vastatrix*. *Can J. Bot.* 45: 2021-2031.
- RODRIGUES, C. J., BETTENCOURT, A. J. and RIJO, L. 1975 — Races of the pathogen and resistance to coffee rust. *Annual Review of Phytopathology*, 13-15: 70.

A NOVEL METHOD FOR THE ANALYSIS OF ACTIVE CHROMOSOMAL LOCI BY AN ENDOGENOUS HYBRIDIZATION TECHNIQUE (EHT)

Maury Miranda¹, M. L. Garcia and Carlos Alonso

Instituto de Biología Molecular, CBM. Depart. de Bioquímica y Biología Molecular.
Universidade Autónoma. Canto Blanco Madrid.

¹ Instituto de Biofísica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

RESUMEN

En el presente trabajo se describe una metodología que permite la visualización de regiones cromosomales activas en transcripción. Esta metodología se basa en la posibilidad de producción de híbridos entre el DNA cromosomal y el RNA de nueva transcripción y en la digestión del RNA cromosomal que no está en forma de híbrido con el DNA cromosomal. De este modo se podrá inequívocamente afirmar que las regiones cromosomales marcadas radioactivamente, han sintetizado RNA durante el periodo de incubación con el nucleótido radioactivo. Se concluye que los cromosomas de un tejido tan especializado como la glándula salival de los dípteros, desde un punto de vista citológico, se pueden considerar transcripcionalmente activos en su mayor parte.

A long-standing problem in the field of biology of animal genomes centers into the question how chromatin structure relates to transcription. Thus, due to the characteristic well defined band-interband structure of polytene chromosomes of diptera, which reflects the differential chromomere — interchromomere organization of the chromosomal material, the synthetic activity of individual loci has been intensively studied in order to establish whether there is any relationship between the degree of chromatin fiber packing of specific chromosomal loci and transcription. It has been observed that the precursor (³H uridine) incorporates not only into puffs but into other chromosome regions (PELLING, 1964; BERENDES, 1970; ZHIMULEV & BELYAEVA, 1975; ALONSO & GROOTEGOOD, 1973).

In recent years the resolution power of *in situ* hybridization has added up to these studies the potentiality of mapping, in the chromosomal structure, transcripts isolated from cell compartments (PARDUE *et al.*, 1970; WIMBER & STEFFENSON, 1970; ALONSO *et al.*, 1977) as well as chromosomal natural transcripts by specific *in situ* hybridization (LIVAK *et al.*, 1978). By such methodology it is possible to correlate cytological genetic units to specific DNA or RNA probes.

Contrary however to the well defined location of hybrids along the chromosomes in *in situ* hybridization experiments, the ^3H -uridine pulse labelling of salivary glands of diptera may show only one approximation of the location of transcription sites. The large accumulation of RNP particles on chromosome regions (BERENDES *et al.*, 1973) and the difference in time to reach a plateau of chromosomal labelling and the transcription time (CASE & DANEHOLT, 1977) probably indicate that some labelled RNA stores on chromosomal regions other than their actual transcription sites. If this storage takes place, the labelling of a chromosomal region would not be an unequivocal indication of its transcriptional activity. Consequently it is necessary to develop a procedure which will undoubtedly detect, along the chromosomal structure, regions actually engaged in transcription.

For our studies we have taken advantage of the original approach used by ABDELHAY and MIRANDA for the isolation of active genes from *Rynchosciara angela* (ABDELHAY & MIRANDA 1975). The rationale of their approach is based on the assumption that active genes could be detected if their DNA would be able to form hybrids with newly synthesized chromosomal RNA.

If the hybrids could be isolated, it would be possible to obtain the DNA of active genes in pure form. According to that approach, we speculated that active genes could also be detected in polytene chromosomes if the chromosomal DNA were able to form hybrid molecules with the endogenous newly synthesized chromosomal RNA labelled to high specific activity. An RNase treatment which digested the bulk of RNA not in hybrid form with the DNA would erase the noise introduced by the stored or transient labelled chromosomal RNA.

We have introduced some modifications to those used by ABDELHAY and MIRANDA specially adapted to *Drosophila* in order to optimize conditions which would allow the analysis of *loci* which may be operating at low transcriptional level. These modifications refer to an efficient chromosomal DNA denaturation *in situ* in 50% formamide (versus 90%) in very low ionic strength buffer (0.25 mM EDTA pH 8 vs $0.1 \times \text{SSC}$) at 50°C for 4 min, and to the incubation time of isolated salivary glands in 1 μCi ^3H -uridine/ μl saline Poels medium (POELS, 1972). By increasing the amount of available DNA for hybrid formation and the amount of newly synthesized ^3H RNA

on the chromosome, the possibility of detecting active genes will also increase. After the incubation period the salivary glands were fixed in ETOH: acetic acid (3:1) and squashed in 45 % acetic acid.

Following denaturation, the chromosomal DNA was hybridized with the newly synthesized RNA by immersing the slides in 100 ml of 50 % formamide: $2\times$ SSC at 37° C. The subsequent RNase treatment was in 2 SSC at 60 μ g/ml for 1 hr at 37° C. This treatment digested the abundant cytoplasmic as well as the labelled chromosomal RNA from non denatured chromosomes (Fig. 1).

The EHT showed that 2 minutes of hybridization were enough to obtain DNA: RNA hybrids (Fig. 2). In accordance the velocity of the reaction seems to be only compatible with the chromosomal RNA molecules as being the counterpart of the hybrids. Although very unlikely, it can not be theoretically excluded, however, that hybrids might also be formed with finished or stored RNA located close to the chromosomal region where it was transcribed and transferred to it through a ligand mechanism. Hybrids can not be formed with RNA in solution during 2 min hybridization time. All in all, the grains observed in the autoradiographs reveal exclusively the location of DNA complementary to newly synthesized RNA labelled during incubation with 3 H-uridine and, therefore, of chromosomal sites actually engaged in transcription. An overview of the labelling over the chromosomes (Fig. 2) shows that the radioactivity locates at random on the chromosomes over most of the regions, suggesting therefore that a significant fraction of the genome of a specialized tissue, terminally differentiated, such as the salivary gland, is active in RNA synthesis.

The formation of hybrids between newly transcribed RNA and chromosomal DNA by the EHT was clearly observed in the nucleolar area. In *Drosophila hydei* at the middle third instar the nucleolar DNA can be clearly visualized as a bundle of fibers over a particular region of the nucleolus. The prediction would be that most of the DNA: RNA hybrids resulting from the transcriptional activity of the nucleolus will be therefore localized over the DNA, so that the labelling should be mostly restricted to a particular nucleolar area: the DNA fibers. In pulse labelling experiments the nucleolar newly transcribed RNA does not show any preferential location but it is found distributed at random over the entire nucleolar area.

When the EHT was applied to salivary gland squashes after a labelling time of 35 min (the nucleus was highly labelled in control glands), the radioactive grains were observed over the expected place: on the DNA fibers (Fig. 3). The cytological distribution of grains was similar to the reported distribution of ribosomal RNA probes in *in situ* hybridization experiment (Fig. 3). The efficiency of hybridization, however, was less efficient in *in situ* hybridization experiments than in the EHT, in spite of the high amount of rRNA used *in situ* hybridization.

The RNA endogenous hybridization technique allowed us to study some chromosomal transcriptional problems which we think can not otherwise be

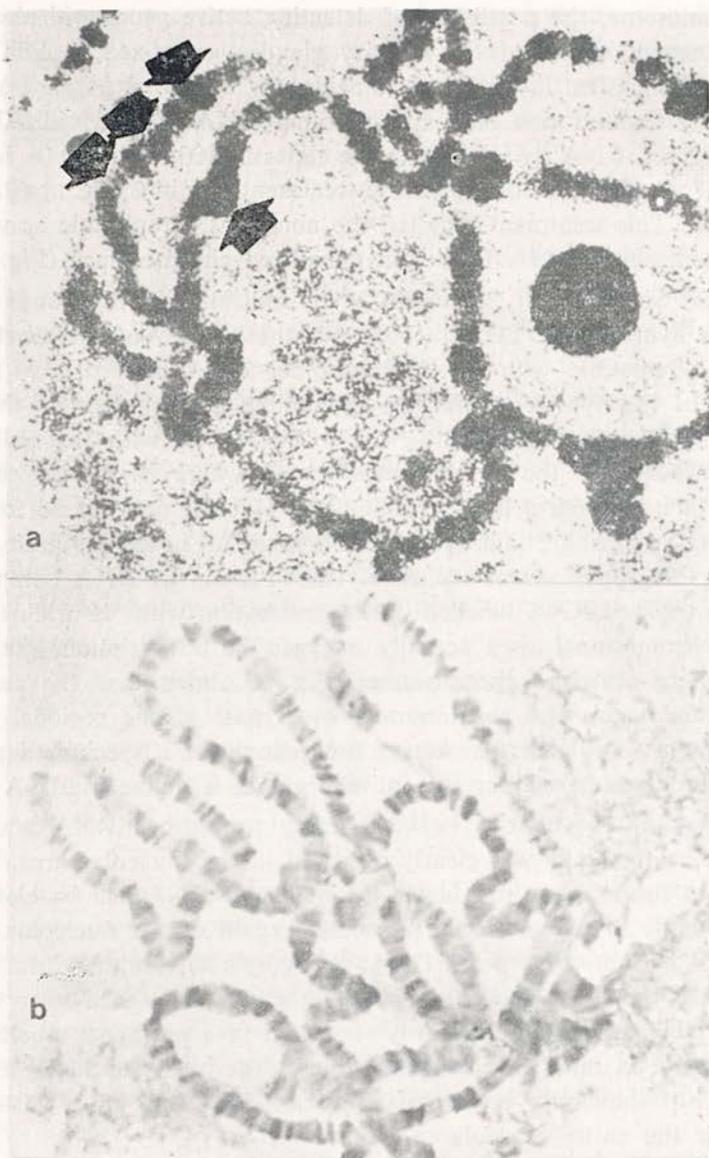


Fig. 1—Autoradiographs of polytene chromosomes after 2 hr. of ^3H -uridine pulse in vitro ($1 \mu\text{Ci}/\mu\text{l}$) (a) The fixed chromosomes were denatured in 0.25mM EDTA: 50% Formamide at 50°C for 4 min. (b) The fixed chromosomes were treated with $60 \mu\text{gr}/\text{ml}$ pancreatic RNase. Arrows indicate regions of light and heavy labeling.



Fig. 2— Autoradiographs of polytene chromosomes after 2 hr. of ^3H -uridine pulse in vitro ($1 \mu\text{Ci}/\mu\text{l}$). The fixed chromosomes were denatured in $0,25\text{mM}$ EDTA: 50% Formamide at 50°C for 4 min. and immersed in 100 ml of 50% Formamide: $2 \times \text{SSC}$ for 5 min. Subsequently they were treated with $60 \mu\text{gr}/\text{ml}$ pancreatic RNase. The exposure time was for 15 days.

resolved using standard autoradiographic method. One of these problems is the dilemma of whether or not there are any chromosomal *loci* which may be active without showing morphological signs of transcriptional activity. Such is the case of the heavy band in locus $2-23\text{B}_{1-2}$ accomodating the 5 S RNA cistrons as revealed by «*in situ*» hybridization experiments.

As indicated by ALONSO and BERENDES (1975), a short uridine pulse (2 min) did not result in specific labelling region $2-23\text{B}_{1-2}$ while a large labelling pulse (10 min) did. After this labelling period, however, the accumulation of radioactivity over a region may not be an undoubtfull sign of transcriptional activity. It was proposed, therefore, that during third instar, in polytene tissues, the 5 S RNA synthesis could occur at a low rate, that only a few cistrons actively transcribe or that the synthetic activity of the locus has stopped. The EHT made possible the determination of band $2-23 \text{B}_{1-2}$ as a transcription site, during the third instar as revealed by the formation of hybrids between DNA of band $2-23 \text{B}_{1-2}$ and newly synthesized RNA (Fig. 4).

Due to the small amount of DNA: ^3H RNA hybrids accumulated on this band in the form of autoradiographic grains, in spite of the large amount of DNA citrons (5 S) existing in this region, we suggest that the transcriptional activity of that *locus* during the third intar is low being that the reason why

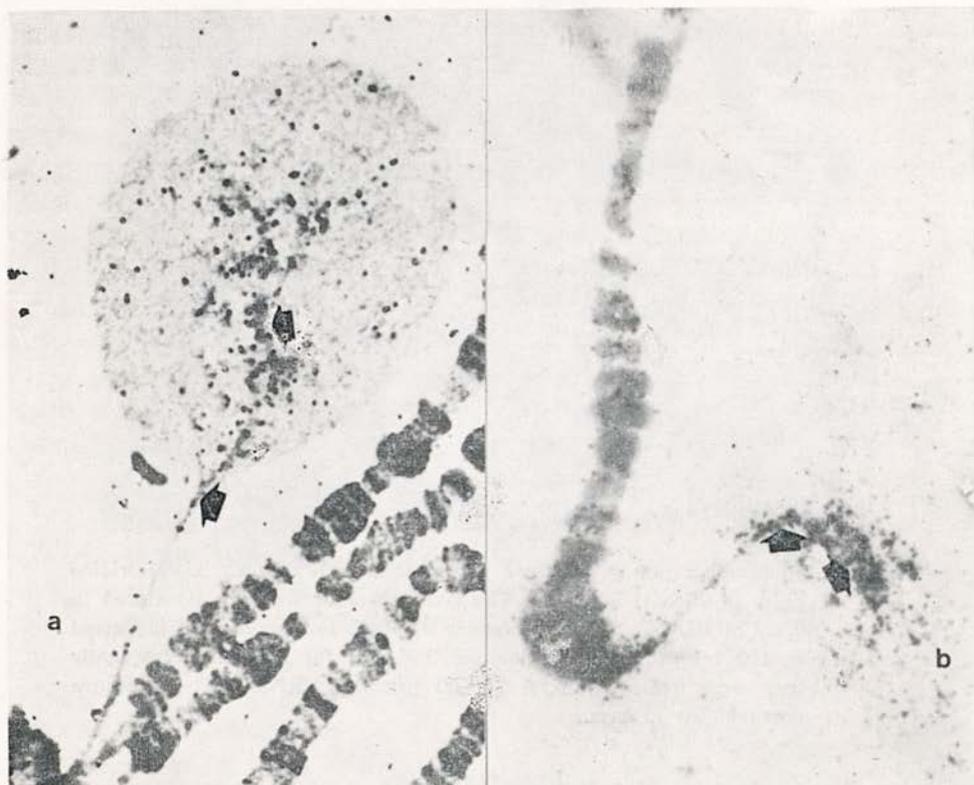


Fig. 3 — a) In situ hybridization of 1.2 μ gr of 28 S and 18 S 3 H-RNA (120,000 cpm/ μ gr). The radioactive material was dissolved in 100 μ l of $6 \times$ SSC at 67° C and placed over the squashed material. The incubation was for 15 hr at 67 C and the exposure time was 4 months.

b) Autoradiographs of polytene chromosomes after 35 mm of 3 H-uridine pulse in vitro (1 μ Ci/ μ l) The fixed chromosomes were treated as in Fig. 2. The arrows indicate the autoradiographic grains following the nucleolar DNA fibres connecting to the base of the X chromosomes.

the 5 S RNA coding region does not display clear signs of transcriptional activity (grains or RNP particles) in conventional autoradiographic analysis.

In a similar way, the EHT enabled us to detect that transcription occurs in the temperature sensitive locus 2-48B at early third instar in a non puff configuration (Fig. 5).

The technique we have just described, which will allow the detection of real transcription sites in polytene chromosomes, is a combination of the standard autoradiographic methods used for the analysis of transcription sites in 3 H-uridine pulses, and *in situ hybridization*. It has, therefore, some fundamental uncertainties, as far as quantitation is concerned, derived from both types of experimental systems. We hope, however, that further characteri-



Fig. 4— Autoradiographs of polytene chromosomes after 2 hr. of ^3H -uridine pulse in vitro ($1 \mu \text{Ci}/\mu\text{l}$). The fixed chromosomes were treated as in Fig. 2. The arrows indicate the band 23B_{1-2} (location of 5S DNA).



Fig. 5— Autoradiographs of polytene chromosomes after 2 hr. of ^3H -uridine pulse in vitro ($1 \mu \text{Ci}/\mu\text{l}$). The fixed chromosomes were treated as in Fig. 2. The arrows indicates region 2-48 B in a non puffing configuration.

zation of the conditions used for denaturation of the DNA and for DNA:RNA hybrids formation will undoubtedly help to visualize with high resolution whether or not particular chromosomal sites are transcriptionally active at a given time in development of polytene chromosomes.

REFERENCES

- ABDELHAY E. and MIRANDA M., 1975. Isolation of active genes in Rincoschiara Angela. Ann. Academie Ciencia Brasileira. vol. 47, n.º 3-4 p563».
- ALONSO, C. and BERENDES, H. D., 1975. The location of 5 S (ribosomal) RNA genes in *Drosophila hydei*. Chromosoma 51: 347.
- ALONSO, C. and GROOTEGOOD, G. A., 1973. RNA synthesis in polytene salivary glands of *Drosophila hydei* maintained under in vitro conditions. Cell Differentiation 2: 107.
- ALONSO, C., PAGES, M. and LOPEZ, M. I., 1977. DNA distribution and intrachromosomal organization of moderately repetitive sequences. Cell Biol. Inter. Reports 1 n.º 4: 325.
- BERENDES, H. D. 1970. Polytene chromosome structure at the submicroscopical level. I A map of the region X 1-4 E of *Drosophila melanogaster*. Chromosoma 19: 118.
- BERENDES, H. D., ALONSO, C., HELMSING, P. S., LEENDERS, H. F., and DERKSEN, G. 1973. Structure and function in the genome of *Drosophila hydei*. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 38: 645.
- CASE, S. T. and DANEHOLT, B. 1977. Cellular and molecular aspects of genetic expression in chromosomes salivary glands. Inter. Rev. of Biochem. Biochemistry of Cell Differentiation II. vol. 15: 45.
- LIVAK, J. K., FREUND, R., SEHWEEBER, M. WENSINCK, PU. C. and MESELSON, M. 1978. Sequence organization and transcription at two heat shock loci in *Drosophila*. Proc. Natl. Acad. Sciences. USA. Vol. 75, n.º 11, pp. 5613-5617.
- PARDUE, M. L., GERBI, S. A., ECKHARDT, R. A., and GALL, F. G., 1970. Cytological localization of DNA complementary to ribosomal RNA in polytene chromosomes of Diptera. Chromosoma 29: 268.
- PELLING, C., 1964. Ribonukliensaure-Synthese der Riesenchromosomen. Autoradiographische Untersuchungen an Chironomus tentans. Chromosoma 15: 71.
- POELS, C. L. M., 1972. Mucopolisaccharide secretion from *Drosophila* salivary gland cells as a consequence of hormone induced activity. Cell Differ. I. 63-67.
- WIMBER, D. E. and STEFFENSON, D. M. 1970. Localization of 5 S RNA genes on *Drosophila* chromosomes by RNA-DNA hybridization Science 170: 639.
- ZHIMULEV, I. F. and BELYAERA, E. S. 1975. Proposals to the problem of structural and functional organization of polytene chromosomes Theor. and Appl. Genetics 45, 335-340.

XVII JORNADAS LUSO-ESPAÑHOLAS DE GENÉTICA E I JORNADAS DE GENÉTICA MÉDICA

Realizam-se este ano no Porto as Jornadas de Genética, que todos os anos congregam a maioria dos geneticistas portugueses e espanhóis, num convívio salutar e fecundo, pelo intercâmbio de experiência e ideias. Desta vez, isola-se o componente médico, constituindo-se as I Jornadas Luso-Espanholas de Genética, que se deseja continuem a celebrar-se simultaneamente com as Jornadas de Genética, dada a conhecida conveniência de cooperação da Genética Geral com a Genética Humana e Médica.

As Jornadas celebram-se de 24 a 26 de Setembro, na Faculdade de Medicina do Porto, e têm o alto patrocínio do Instituto Nacional de Investigação Científica. Estão previstas as secções de Genética Molecular, Genética Bioquímica, Citologia, Genética e melhoramento de plantas, Genética e melhoramento de animais, Evolução, Genética de populações e quantitativa, e Genética Humana e médica.

Os boletins de inscrição podem ser solicitados para a Secretaria das XVII Jornadas Luso-Espanholas de Genética e I de Jornadas de Genética Médica, Serviço de Genética Médica, Faculdade de Medicina do Porto.

Os resumos deverão ser enviados até 20 de Agosto, segundo modelo a fornecer com o boletim de inscrição.

910

FICHEIRO DOS MEMBROS DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA

- ALMEIDA, Maria Leonor Osório Solano de — Instituto Gulbenkian; Oeiras. Ensino Universitário. Investigação; Genética Molecular e Microbiana. Linhas de Investigação em que trabalha: Estrutura primária de ácidos nucleicos particularmente ácidos nucleicos de transferência de cloroplastos; localização de genes desses ácidos nucleicos no D. N. A. cloroplástico.
- ARCHER, Luís Jorge Peixoto — Instituto Gulbenkian de Ciência (Grupo de Genética Molecular); Departamento de Biologia Bioengenharia; Faculdade de Ciências e Tecnologia; Univeridade Nova de Lisboa — 2781 Oeiras Codex. Ensino Universitário. Investigação; Genética Molecular e Microbiana. Linhas de investigação em que trabalha: Mecanismos moleculares de transformação e transdução em *Bacillus subtilis*. Estudo dos genes da utilização da arabinose e da produção do antibiótico bacitracina. Engenharia Genética com genes da esporulação.
- BAGULHO, Francisco João Cortes — Estação Nacional de Melhoramento de Plantas. (ENMP) 7350 Elvas. Investigação; Genética e Melhoramento de Plantas. Linhas de investigação em que trabalha: Melhoramentos de trigos (moles e duros), cevadas (para malte e alimentação animal), aveias e triticales.
- BARRADAS, Manuel Joaquim das Torres Antunes — Estação Nacional de Melhoramento de Plantas. 7350 Elvas. Investigação; Genética e Melhoramento de plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Melhoramento genético de cereais antogâmicas.
- BOELPAEPE, Robert Emile Angèle De — Instituto Universitário dos Açores; Departamento de Ecologia Aplicada — Rua da Mãe de Deus — Ponta Delgada - S. Miguel - 9502 Açores - Codex — Ensino Universitário: Investigação; Mutagénese Aplicada. Linhas de Investigação em que trabalha: Efeitos mutagénicos e toxicológicos dos pesticidas selectivos sobre predadores pulgões (Coccinelídeos).
- BRANDÃO, Celeste Fernandes da Silva — Instituto de Antropologia; Faculdade de Ciências; Universidade do Porto — (IAUP) 4000 Porto. Ensino Universitário. Investigação; Genética das Populações e Evolutiva. Genética Humana. Linhas de Investigação em que trabalha: Biologia e Ecologia das Populações Humanas.

- CARNIDE, Olinda da Conceição Pinto — Instituto Universitário de Trás-os-Montes e Alto Douro — Av. Almeida Lucena — 5000 Vila Real. Ensino Universitário. Investigação: Genética e Melhoramento de Plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Melhoramento de cereais (trigos, centeios e triticales).
- CARVALHO, Miguel António Ponces de — Rua da Bela Vista à Lapa, 55 — 1200 Lisboa. Actividades: Ensino Liceal.
- CASTRO, António Ferreira de — Instituto Superior de Agronomia — Departamento de Botânica — Tapada da Ajuda — 1399 Lisboa - Codex. Ensino Universitário: Investigação; Genética e Melhoramento de Plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Investigação aplicada, no âmbito do melhoramento do milho, com especial incidência na obtenção de plantas haplóides, a partir da cultura de anteras e posterior utilização em esquemas especiais de melhoramento.
- CORREIA, Jorge Calado Antunes — Departamento de Genética — Escola Superior de Medicina Veterinária — Rua Gomes Freire — 1199 Lisboa - Codex. Ensino Universitário. Investigação Citogenética; Genética das Populações e Evolutiva; Genética e Melhoramento Animal. Linhas de Investigação em que trabalha: Compensação de dosagem dos genes ligados ao sexo. polimorfismos bioquímicos em mamíferos e peixes. Melhoramento genético de porcos e coelhos.
- COUTINHO, Miguel Pereira — Departamento de Botânica do Instituto Superior de Agronomia — Tapada da Ajuda — 1399 Lisboa - Codex. Ensino Universitário. Investigação; Genética e Melhoramento de Plantas: Linhas de Investigação em que trabalha: Melhoramento de videira, particularmente quanto a resistência a doenças criptogâmicas.
- FEIJÓ, Maria de Jesus Portas — Departamento de Genética; Faculdade de Ciências Médicas; Universidade Nova de Lisboa — Campo de Santana, — 1300 Lisboa. Ensino Universitário. Investigação; Genética Humana; Genética da Diferenciação e Desenvolvimento. Linhas de Investigação em que trabalha: Genética Clínica; Diferenciação e Desenvolvimento sexual humano.
- FERNANDES, Abílio — Instituto Botânico da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra (C. O. I.) — 3049 Coimbra. Aposentado. Investigação: Citogenética. Linhas de Investigação em que trabalha: Citotaxionomia das plantas vasculares da flora de Portugal. História da Botânica em Portugal.
- FIGUEIREDO, Maria Teresa Rangel de — Divisão de Genética e Melhoramento de Plantas do Instituto Universitário de Trás-os-Montes e Alto Douro I. U. T. A. D. — 5000 Vila Real. Actividade: Aluna universitária. Investigação; Citogenética; Genética e Melhoramento de Plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Citogenética.

- FREITAS, Alberto Palyart do Carmo e — Departamento de Fitopatologia da Estação Agronómica Nacional — 2780 Oeiras. Investigação; Genética de Melhoramento de Plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Estudos fitopatológicos e genéticos de parasitas e hospedeiros, particularmente de *Triticum* e *Puccinia recondita*. Relações hóspede: hospedeiro. Obtenção de fontes de resistência.
- GONÇALVES, Aires Humberto da Penha — Faculdade de Farmácia de Lisboa — 1600 Lisboa. Ensino Universitário. Investigação; Genética Molecular e Microbiana. Linhas de Investigação em que trabalha: Mecanismos genéticos de resistência bacteriana. Mutações induzidas em vírus. Micoplasmas. Anaeróbios.
- LOPES, Amândio Joaquim Madeira — Grupo de Microbiologia; Instituto Gulbenkian de Ciência — Apartado 14 - 2781 Oeiras - Codex. Ensino Universitário. Investigação; Genética molecular e Microbiana. Linhas de Investigação em que trabalha: Acção de antibióticos no perfil térmico de leveduras. Indução e isolamento de montantes superamiloíticos de leveduras.
- LOUÇÃO, Maria Amélia Martins — Faculdades de Ciências de Lisboa — 1200 Lisboa. Ensino Universitário. Investigação; Genética da Diferenciação e Desenvolvimento. Linhas de Investigação em que trabalha: Indução e diferenciação da calogénese de *Lobularia maritima* — Alterações coriológicas. Estudos fisiológicos e comológicos sobre o estabelecimento duma simbiose fixadora do N atmosférico em *Ceratonia*, siligna L.
- MAIA, José dos Santos Nascimento — INIA — CRIDA de Entre-Douro e Minho — Gualta — Braga — 4700 Braga. Investigação; Citogenética, Genética Melhoramento de Plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Melhoramento de milho; Melhoramento de milho no sentido de resistências a doenças e pragas; Melhoramento de milho no sentido do aumento em conteúdo de proteína.
- MARQUES, Duarte Victorino — Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro (C. I. F. C.) Quinta do Marquês (Estação Agronómica Nacional), 2780 Oeiras. Investigação; Genética e Melhoramento de Plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Genética e melhoramento do cafeeiro para resistência à *Hemileia vastatrix*, Cultura de tecidos de plantas *in vitro*.
- MELHEIRO, Maria Isabel da Silva Nogueira Bastos — Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar — Porto. Ensino Universitário. Investigação; Citogenética Humana. Linhas de Investigação em que trabalha: Cromossomopatias.
- MARTINS, Antero Lopes — Secção de Botânica; Instituto Superior de Agronomia — Tapada da Ajuda — 1399 Lisboa - Codex. Ensino Universitário. Investigação; Genética e Melhoramento de Plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Melhoramento da videira, por via sexual e clonal.

- MARTINS, João Manuel Neves — Instituto Superior de Agronomia; Dep. de Botânica Aplicada à Agricultura. Calç. da Ajuda — 1399 Lisboa - Codex. Ensino Universitário. Investigação; Genética e Melhoramento de Plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Melhoramento da videira (1.ª linha de acção do centro). Estudos dos constituintes proteicos no *Lupinus albus*; *luteus* e *mutabilis*, com vista ao melhoramento.
- MENDES, Maria Cesaltina dos Santos — Departamento de genética, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa, Campo Mártires da Pátria, 130 — 1198 Lisboa. Ensino Universitário. Investigação; Citogenética; Genética Humana. Linhas de Investigação em que trabalha: citogenética (carióticas, cromatina sexual) e Bioquímica electroforese em gel cromatografia. Determinação de alterações metabólicas.
- MONTEIRO, Luís Sieuve — Laboratório de Genética Aplicada; Instituto de Ciências Biomédicas «Abel Salazar» — Largo da Escola Médica, n.º 2 — 4000 Porto. Ensino Universitário. Investigação; Genética e Melhoramento Animal; Genética das Populações e Evlutiva. Linhas de Investigação em que trabalha: Variação genética da eficiência do crescimento.
- MOTA, Miguel — Departamento de Genética; Estação Agronómica Nacional — 2780 Oeiras. Investigação; Citogenética; Genética Molecular e Microbiana. Genética e melhoramento animal; Genética e Melhoramento de Plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Poliploidia e anfidiplóidia. Estrutura e movimento dos cromosomas. Ultraestrutura celular.
- PENEDA, Isabel Maria de Salles Guerra Jonet de Almeida — Estação Agronómica Nacional (I. N. I. A.). Investigação; Citogenética; Genética e Melhoramento de Plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Citogenética de trigo. Localização de genes responsáveis por caracteres componentes da produção em trigo hexaploide.
- PINTO, Henrique de Pinho Guedes — Divisão de Genética e Melhoramento de Plantas; Instituto Universitário de Trás-os-Montes e Alto Douro — Apartado 202 — 5000 Vila Real (actualmente ligado ao Grupo de Citogenética do Instituto Gulbenkian de Ciências) — Apartado 14 — 2781 Oeiras Codex. Ensino Universitário. Investigação; Citogenética; Genética e Melhoramento de Plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Citogenética e melhoramento de tritcale e trigo.
- QUEIROZ, Maria Clara de Almeida de Barros — Departamento de Botânica, Faculdade de Ciências — Rua Escola Politécnica — 1200 Lisboa. Ensino Universitário. Investigação; Mutação. Linhas de Investigação em que trabalha: Processo de expressão da mutação.
- RAMOS, Albino Aroso — Hospital de St.º António — 4000 Porto. Ensino Universitário. Investigação; Genética Humana.
- REBIMBAS, Maria do Céu Tavares — Instituto de Antropologia «Dr. Mendes Correia»; Faculdade de Ciências; Universidade do Porto — 4000 Porto.

- Ensino Universitário. Investigação; Genética das Populações e Evolutiva; Genética Humana. Linhas de Investigação em que trabalha: Biologia e Ecologia das Populações Humanas.
- REIS, Lesseps José António Lourenço — Faculdade de Ciências Médicas; Departamento de Medicina Legal e Toxicologia Forense — Trav. Conde da Ribeira — 1300 Lisboa. Ensino Universitário. Investigação; Genética das Populações e Evolutiva; Genética Humana. Linhas de Investigação em que trabalha: Toxicologia (clínica e forense); Farmacogenética, Psicofarmacogenética e Ecogenética. Aplicação do estudo de polimorfismos genéticos em Medicina Legal e Toxicologia forense.
- ROSÁRIO, Jorge Luís Appéré Lopes do — Departamento de Genética; Faculdade de Ciências Médicas; Universidade Nova de Lisboa — Campo de Santana 130 — 1198 Lisboa - Codex. Ensino Universitário. Investigação; Citogenética, Genética Molecular e Microbiana Genética das Populações e Evolutiva; Genética Humana; Genética da Diferenciação e Desenvolvimento.
- SALAVESSA, João José Duarte Santos — Departamento de Zootécnia. Escola Superior de Medicina Veterinária — Rua Gomes Freire — 1199 Lisboa - - Codex. Ensino Universitário. Investigação; Melhoramento Animal. Linhas de Investigação em que trabalha: Melhoramento Genético de coelhos; Polimorfismos bioquímicos em mamíferos.
- SAPAYO, Tristão José de Mello — Instituto Gulbenkian de Ciência — Apartado 14 — 2781 Oeiras - Codex. Ensino Universitário. Investigação; Citogenética; Genética e Melhoramento de Plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Citogenética de trigo.
- SANTOS, António Manuel Amorim dos — Instituto de Antropologia; Faculdade de Ciências; Universidade do Porto — 4000 Porto. Ensino Universitário. Investigação; Genética das Populações Humanas.
- SANTOS, Heloísa Maria Fernandes Gonçalves dos — Dep. de Genética; Fac. de Ciências Médicas; Universidade Nova Lisboa. Ensino Universitário. Investigação; Genética Humana. Linhas de Investigação em que trabalha: Citogenética; Aconselhamento genético.
- SEQUEIROS, António Jorge dos Santos Pereira de — Laboratório de Citogenética; Instituto de Ciências Biomédicas «Abel Salazar» — 4000 Porto. Ensino Universitário. Investigação; Citogenética; Genética Humana. Linhas de Investigação em que trabalha: Doenças hereditárias neurológicas, degenerativas, tardias (em especial, Polineuropatia, Amiloidótica Familiar e Machado-Joseph Disease) e anomalias cromossómicas humanas...
- SILVA, Maria Cecília Cabeça — Grupo de Microbiologia, Instituto Gulbenkian de Ciência — Apartado 14 — 2781 Oeiras. Investigação; Genética Molecular e Microbiana. Linhas de Investigação em que trabalha: Indução e isolamento de mutantes superamilolíticos de leveduras.

- SILVA, Rui Vidal Correia da — Faculdade de Farmácia de Lisboa — Av. das Forças Armadas — 1699 Lisboa - Codex. Ensino Universitário. Investigação; Genética Molecular e Microbiana. Linhas de Investigação em que trabalha: Caracterização e estudo de ácidos ribonucleicos ribossomais, de P. M. baixo (2s a 6s) (excluindo 4s), nomeadamente por «RNA e DNA sequencing»; Estudo de plasmídeos e de DNA mitocondrial por Engenharia Genética.
- TAVARES, Amândio Gomes Sampaio — Serviço de Genética da Fac. de Medicina, Universidade do Porto — 4200 Porto - Codex. Ensino Universitário. Investigação; Citogenética; Genética das Populações e Evolutiva. Genética Humana. Linhas de Investigação em que trabalha: Patologia Humana de Etiologia Genética, em especial por alteração dos cromossomas e efeito populacional das doenças hereditárias e da variação destas por tratamento e conselho genético.
- TEIXEIRA, Rogério dos Santos Cardoso — Biologia Médica; Fac. de Medicina da Universidade de Coimbra — 3049 Coimbra - Codex. Ensino Universitário. Investigação; Citogenética; Genética Humana. Linhas de Investigação em que trabalha; Citogenética Humana (determinação do cariótipo e cromatina sexual) e aconselhamento genético.
- VIEIRA, Dina Manuela da Trindade Morais Masseneiro — Rua Nery Delgado n.º 6, r/c.-Dt.º — 2 775 Parede; Ensino Liceal.
- VIEIRA, Maria Rita de Almeida Madeira Clemente da Mota — Instituto Botânico da Universidade de Coimbra — 3049 Coimbra - Codex. Ensino Universitário. Investigação; Citogenética, Genética e Melhoramento de Plantas. Linhas de Investigação em que trabalha: Citogenética dos tritricales; Isolamento fusão e cultura de protoplastos.
- VOUGA, Luís Carlos Ferreira Pinto — Serviço de Patologia Geral; Fac. de Medicina do Porto; Centro de Estudos de Genética Humana e Biologia Social — 4200 Porto. Ensino Universitário. Investigação; Citogenética. Genética Humana. Linhas de Investigação com que trabalha: Citogenética Humana; Citogenética e Bioquímica do Esperma Humano.
- WARDEN, Juana — Faculdade de Ciências; Universidade de Lisboa. Investigação; Citogenética; Genética da Diferenciação e Desenvolvimento. Linhas de Investigação em que trabalha: Controlo de actividade meristemática em folhas de Bryophyllum. Evolução do gradiente da EP em folhas de *Br. czenalum*. Morfogenese foliar (cezafofia).

SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA

INSTITUTO GULBENKIAN DE CIÊNCIA

Rua da Quinta Grande — OEIRAS

Tels. 243 14 31 - 243 14 08

BROTÉRIA GENÉTICA

REVISTA QUADRIMESTRAL

ÓRGÃO DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA

PROPOSTA PARA SÓCIO

Propomos para sócio ⁽¹⁾ _____

o Sr. ⁽²⁾ _____

Profissão _____

podendo enviar-se a sua correspondência e cobrar-se as suas quotas de sócio na morada seguinte:

O sócio efectivo

O sócio efectivo

Assinatura legível

Assinatura legível

_____, _____ de _____ de 19____

⁽¹⁾ Efectivo, Agregado, Correspondente ou Benemérito

⁽²⁾ Nome