mero 1-2 | Volume V (LXXX) | Lisboa 1984

brotéria genética

CITOGENÉTICA GENÉTICA MOLECULAR E MICROBI
ANA GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLAN
TAS GENÉTICA E MELHORAMENTO ANI
MAL GENÉTICA HUMANA E MÉDICA
GENÉTICA DAS POPULAÇÕES
E EVOLUTIVA GENÉTICA
DA DIFERENCIAÇÃ
O E DESENVO
LVIMEN
TO

RGÃO DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA

BROTÉRIA GENÉTICA

REVISTA QUADRIMESTRAL

ÓRGÃO DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA

Subsidiada pelo

Instituto Nacional de Investigação Científica

NÚMERO 1-2 VOLUME V (LXXX) 1984

ÓRGÃO DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA

CONDIÇÕES DE ASSINATURA PARA 1984:

Portugal: Esc.: 500$00 (oferecida gratuitamente pela Sociedade Portuguesa de Genética aos seus sócios)
Espanha e Países de expressão portuguesa. Dol. $7.00
Outros Países: Dol. $14.00
Número avulso: Esc. 200$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

BROTÉRIA-GENÉTICA, Lisboa, V (LXXX), 5-8 (1984)

NOVOS PROBLEMAS DE ENGENHARIA GENÉTICA

Luís J. Archer

As aplicações da engenharia genética têm incidido, até agora, sobretudo na produção industrial e mais económica de compostos com interesse comercial. Novas áreas que começam agora a desenvolver-se intensamente são: 1) a introdução deliberada no ambiente de organismos modificados por engenharia genética, e 2) a alteração genética do homem.

1) As normas para utilização, sem riscos, da engenharia genética têm sido baseadas em medidas de confinamento físico e/ou biológico dos organismos construídos. Isto é, tem-se garantido que eles, ou pelo isolamento físico dos laboratórios, ou pelas características biológicas próprias, não consigam escapar para o exterior ou, se o fazem, não possam aí sobreviver, multiplicar-se ou transferir para outros organismos o seu material genético.

Mas agora surgem projectos cujo objectivo é precisamente introduzir no ambiente novos organismos modificados por engenharia genética, e de modo a que eles aí se multipliquem em condições de poder vencer a competição dos organismos naturais. Exemplos são microrganismos usados para digerir manchas de petróleo ou poluentes tóxicos, vírus usados para controlar pestes no domínio da agricultura, testes de campo em tomateiros e plantas do tabaco transformados por elementos de engenharia genética, e dispersão de bactérias que retardam a formação de cristais de gelo. Este último projecto merece especial referência.

Elevam-se a 1-3 mil milhões de dólares por ano os prejuízos causados, nos Estados Unidos, pelas baixas temperaturas ambienciais sobre plantas como trigo, milho, feijoeiro, tomateiro e árvores de fruto. Verificou-se que estes danos são causados pela formação de cristais de gelo nas plantas, e que o processo de nucleação conducente à formação desses cristais é desencadeado por bactérias *Pseudomonas syringae* e *Erwinia herbicola* presentes como epífitos nessas plantas.

Por mutagénese química obtiveram-se mutantes dessas bactérias que são deficientes nessa capacidade de nucleação e que, portanto, na medida em que substituem as bactérias naturais, permitem maior sobrevivência das plantas

às mesmas baixas temperaturas. Há razões para crer que por engenharia genética se podem obter mutantes desse tipo que possam competir melhor, no ambiente, com as bactérias naturais (Fed. Reg. *48:* 24549, 24567), e assim as venham a substituir.

Porque as experiências de introdução no ambiente dos mutantes obtidos por mutagénese química não revelaram efeitos deletérios, o NIH aprovou o projecto correspondente de engenharia genética. Por essa aprovação a «Foundation on Economic Trends (D. C.)» processou o NIH em 14 de Setembro de 1983, acusando-o de não exigir os testes prévios que poderiam avaliar dos possíveis riscos para o ecossistema e até para o clima. Julga-se que estas bactérias são transportadas pelo vento e pelos insectos para a estratosfera e desempenham um papel no clima global.

Independentemente deste incidente legal, muitas experiências estão já em curso no sentido de avaliar os efeitos sobre os ecossistemas e sobre o ambiente em geral da introdução deliberada de organismos modificados por engenharia genética. Em especial a «Environmental Protection Agency» (EPA, Washington, D. C.) tem em curso um vasto programa de experiências de avaliação de riscos nesta área. Publicados foram já os resumos dos resultados relativos à sobrevivência, capacidade de multiplicação e de transferências génicas de uma grande variedade de microrganismos introduzidos, a diferentes concentrações, em amostras de água doce, terra, e efluentes domésticos, tanto na sua forma original como previamente esterilizados (Recombinant DNA Technical Bulletin, *5:* 177-180). Está prometido para meados de 1984 um artigo sobre o assunto no Federal Register.

2) As previsões para aplicação da engenharia genética ao homem, e respectivo calendário, foram já resumidas (Brotéria-genética IV:5-6). Enquanto o trabalho científico prossegue, continua também a discussão, em várias comissões internacionais, dos inconvenientes e riscos que elas poderão vir a implicar, e das medidas a adoptar.

a) Um dos problemas refere-se à construção de mapas genéticos detalhados. Esses mapas, cada vez mais completos (Brotéria-genética IV:79-80) têm a enorme vantagem de permitir a detecção precoce de várias enfermidades, e um número crescente de firmas nos E. U. A. prescreve aos seus empregados a apresentação desses mapas. Teme-se, no entanto, que na medida em que eles venham a permitir uma definição mais fina do perfil genético de cada indivíduo (incluindo tendências para certas formas de agressividade, violência, sexualidade, cobardia, etc.) possam ser utilizados por empresas e instituições várias para selecção dos seus funcionários dum modo que traumatize certos indivíduos com um estigma social, e ofenda o direito de privacidade da pessoa humana. Tanto mais que, ao que parece, esses genes apenas revelam uma predisposição

que pode ser ou não expressável em comportamentos deficientes, de acordo com factores culturais e experiências psicológicas do indivíduo.

Por isso se pensa em nova legislação que obvie a abusos nesta área, e o Conselho da Europa especificamente recomenda o «lay down principles governing the preparation, storage, safeguarding and use of genetic information on individuals, with particular reference to protecting the rights to privacy of the persons concerned in accordance with the Council of Europe conventions and resolution on data protection» (Recomendação 94 (1982): 7 d).

b) Quanto à terapia génica de células somáticas (Brotéria-genética IV:5-6) as suas vantagens são óbvias na cura de doenças, mas põem-se questões relativas à definição de «enfermidade». Certas formas de agressividade, violência ou inconformismo poder-se-ão considerar como tal? Não haverá o perigo, nesses casos, de que a terapia génica leve à diminuição da liberdade individual e à criação duma classe de indivíduos facilmente manipuláveis?

O parágrafo 7c da citada Recomendação 934 do Conselho da Europa sugere a preparação duma «list of serious diseases which may properly, with the consent of the person concerned, be treated by gene therapy», mas esta sugestão não parece viável e realista. Põem-se ainda questões éticas e legais sobre os limites dos direitos da pessoa humana sobre o seu próprio corpo.

c) Em relação à terapia génica da linha germinal (Brotéria-genética IV:5-6) põem-se os mesmos problemas da alínea anterior, agravados pela circunstância da transmissão para gerações seguintes, e pela possibilidade de ligação com técnicas de fertilização *in vitro* (bebé proveta) já em uso. Seria tecnicamente possível tratar por engenharia genética um óvulo humano recentemente fertilizado *in vitro,* à imitação do que já se tem feito com animais (Brotéria-genética II:81-82), como também dividir um blastocito em várias porções de modo a obter um correspondente número de gémeos univitelinos, podendo alguns dos fragmentos de blastocito serem congelados até ao momento oportuno da sua implantação na mucosa uterina.

Alguns sistemas jurídico-legais não estão ainda preparados para dar resposta a estas e outras situações, sobretudo nos países em que está pouco desenvolvido e explícito o direito dos nascituros.

d) Menos preparados ainda estão os sistemas ético-legais para encarar uma engenharia genética que venha a pretender o «melhoramento» da espécie humana (Brotéria-genética IV:5-6), pois que isso implica opções antropológicas básicas sobre a natureza do homem e sobre a direcção em que se deveria dar o melhoramento da espécie.

O parágrafo 7b da citada Recomendação 934 da Assembleia Parlamentar do Conselho da Europa pretende simplesmente eliminar toda esta área ao urgir «a explicit recognition in the European Convention on Human Rights of the right to a genetic inheritance which has not been artificially inter-

fered with» feita só excepção para a terapia génica. Mas esta atitude extremista tem sido criticada como valorizando os acasos da natureza e seus erros acima das capacidades da inteligência e tecnologia humanas.

Os progressos científicos e tecnológicos estão a dar-se a um ritmo que dificilmente pode ser acompanhado pela reflexão ética e jurídica. Neste contexto duas teses fundamentais se opõem: uma que defende que a investigação científica deve ser inteiramente livre, e que a ética e a lei só devem intervir a quando das suas eventuais aplicações a seres humanos; outra que opina que a comunidade social tem a obrigação de acompanhar os progressos científicos e, quando julgar que certa linha de investigação pode trazer graves inconvenientes para a nossa espécie, deve conseguir parar o seu desenvolvimento.

Infelizmente, esta última tese é, para já, provavelmente ingénua. Mas o debate em torno destas e outras posições é importante e urgente. A Ciência e a Tecnologia tornaram-se elementos fundamentais no governo dos homens e nas grandes opções do seu futuro. Por isso estes assuntos estão actualmente a ser estudados por Comissões internacionais na O. C. D. E., Conselho da Europa, C. E. E., e mais que uma Comissão nos Estados Unidos.

BROTÉRIA-GENÉTICA, Lisboa, V (LXXX), 9-12 (1984)

O CONCEITO DE TRÊS SUPER-REINOS E O SEU FUNDAMENTO GENÉTICO

A. Madeira Lopes

A divisão dos seres vivos em grandes grupos tem-se baseado essencialmente em características fenotípicas dos organismos. As classificações Plantas/Animais, Plantas/Animais/Protistas ou, mais recentemente, Procariontes/Eucariontes (esta já fundamentada em observações de índole citológica, bioquímica e biofísica), e as respectivas tentativas de estabelecimento de relações filogenéticas, raramente se basearam na análise de produtos génicos — caso do citocromo c (Scientific American 242 (3), 98-110; 1980) e quase sempre em aspectos morfológicos ou fisiológicos química e estruturalmente complexos — locomoção, fotossíntese, mitocôndrias, ribossomas, etc. (Naturália 2, 17-23; 1982).

Entretanto, já desde meados da década de setenta que se têm vindo a acumular observações de índole genética, apoiando a separação, dos Procariontes, de alguns organismos de características bem distintas (Journal of Molecular Evolution 11, 245-252; 1978. Brotéria Genética 2, 13-14; 1981. Scientific American 244 (6), 94-106; 1981. Naturália 2, 17-23, 1982). Neste sentido, são os seres celulares (por oposição aos «seres» subcelulares — vírus, viróides e plamídeos) divididos em três super-reinos: Arquebactérias, Eubactérias e Eucariontes (Quadro I).

Esta nova classificação dos organismos, se bem que tendo em conta diferenças fenotípicas de índole estrutural (celular e química) e fisiológica (sensibilidade a antibióticos), apoia-se fundamentalmente na distinção de produtos génicos primários — r RNA, t RNA, m RNA, ou secundários — polimerases, proteínas ribossómicas, e em propriedades do próprio DNA — transposição de genes. Examinemos cada um destes caracteres (Quadro II).

1. Tipo celular. A célula de estrutura eucariótica é mais complexa, tem volume geralmente superior a 50 μm^3, sistema membranoso bem diferenciado (incluindo membrana nuclear, retículo endoplásmico, aparelho de Golgi, mitocôndrias), dois ou mais aparelhos de síntese proteica ribossómica — no

QUADRO I

Super-reino	Reino	Género (exemplo)
Arquebactérias	Bactérias metanogénicas	*Methanobacterium*
	Bactérias termoacidófilas	*Sulfolobus*
	Bactérias halófilas extremas	*Halobacterium*
Eubactérias	Bactérias fototróficas (Clorobactérias, Rodobactérias, Cianobacbactérias, Proclorófitos)	*Thiospirillum*
	Bactérias quimiotróficas (numerosos grupos)	*Bacillus*
Eucariontes	Animais	*Homo*
	Plantas	*Pinus*
	Algas	*Dunaliella*
	Protozoários	*Tetrahymena*
	Fungos	*Saccharomyces*

QUADRO II

	Arquebactérias	Eubactérias	Eucariontes
1. Tipo celular	procariótico	procariótico	eucariótico
2. Peptidoglicano na parede celular (quando a parede está presente)	—	+	—
3. Ligação química dos lípidos das membranas	etérica	estérica	estérica
4. Homologia da sequência nucleotídica do r RNA 16 S/18 S		(ver texto)	
5.) Ansa procariótica do r RNA 5 S	—	+	—
6. Timina no t RNA	—	+	+
7. Intrões no m RNA	+	—	+
8. Transposição de genes	+	—	+
9. Aminoácido iniciador da tradução	metionina	formil-metionina	metionina
10. Sensibilidade dos ribossomas citoplásmicos			
à toxina diftérica	+	—	+
ao cloranfenicol	—	+	—
à anisomicina	+	—	+
à canamicina	—	+	—

citoplasma (ribossomas 80 S), nas mitocôndrias (ribossomas 70 S) e nos cloroplastos (ribossomas 70 S), e flagelos (ou cílios) do tipo 2×9+2. A célula de estrutura procariótica é mais simples, tem um só aparelho de síntese proteica ribossómica (ribossomas 70 S), o sistema membranoso é pouco diferenciado ou especificamente unidiferenciado (mesossomas, tilacóides, carboxissomas ou nitrogenossomas) e flagelos do tipo 1.

2. Os peptidoglicanos são heteropolímeros de cadeias de N-acetilglucosamina e de ácido N-acetilmurâmico, estando cada resíduo deste ligado a uma cadeia oligopeptídica. O conjunto das cadeias interliga-se através de determinados aminoácidos, formando uma rede que envolve toda a célula. Com excepção dos *Mollicutes* (géneros *Acholeplasma* e *Mycoplasma*) que não possuem parede, em todas as Eubactérias se tem encontrado peptidoglicano.

3. Os lípidos das membranas das eubactérias e dos eucariontes são ésteres de glicerol de ácidos gordos de cadeia linear. Os das arquebactérias são diéteres em que o glicerol se liga a fitanóis (cadeias ramificadas com grupos metílicos).

4. As arquebactérias e as eubactérias têm ribossomas (70 S) com RNA 16 S (além de 5 S e 23 S), ao passo que os eucariontes têm ribossomas citoplásmicos (80 S) com RNA 18 S (além de 5 S e 25-28 S). Quando se fragmenta enzimaticamente o RNA 16 S (ou 18 S), se determina a sequência nucleotídica de cada oligonucleótido resultante, e se compara a homologia dos oligonucleótidos respectivos provenientes de organismos diferentes, surgem três conjuntos de homologias bem distintas. Cada um destes conjuntos contém os RNA's (16 S ou 18 S) dos organismos correspondentes a cada um dos três super-reinos. Os RNA's dos organismos de cada super-reino têm grande homologia entre si, o que não acontece nas comparações inter-super-reinos. Além disso, não se encontra significativamente mais homologia entre arquebactérias e eubactérias, do que entre eubactérias e eucariontes, ou do que entre eucariontes e arquebactérias, o que indica três linhas evolutivas separadas (Science 209, 457-463; 1980).

5. A estrutura secundária do RNA ribossómico 5 S é semelhante nos três super-reinos em três das suas quatro regiões. A quarta região nas eubactérias, a «ansa procariótica», é diferente das suas homólogas nas arquebactérias e nos eucariontes.

6. A estrutura secundária dos RNA's de transferência (t RNA) tem sido assemelhada a uma folha de trevo, com pecíolo e três folíolos (zonas de nucleótidos não emparelhados). Um dos folíolos, chamado «braço comum» ou ainda «ansa timina-pseudouracilo-citosina», possui estes nucleótidos constantes (além

doutros variáveis) nas eubactérias e nos eucariontes, mas não nas arquebactérias. Nomeadamente, no lugar da timina, encontra-se uma outra base: pseudouracilo ou metilpseudouracilo (Nature 298, 684-685; 1982).

7. Em todos os eucariontes estudados (desde a levedura ao homem) se encontraram RNA's mensageiros contendo zonas «supérfluas» (intrões), que são excisadas antes da tradução do m RNA (Brotéria Genética I, 93-94; 1980). Este fenómeno foi recentemente também observado em arquebactérias (Nature 304, 685; 1983) mas ainda não em eubactérias.

8. Têm-se encontrado, tanto em eucariontes como em arquebactérias, mas não em eubactérias, sequências génicas repetidas, aparentemente obtidas por transposição de DNA duma zona para outra do cromossoma (Brotéria Genética II, 83-84; 1981/IV, 7-8; 1983. Nature 295, 384-389; 1982/229, 182-185; 1982/305, 682-688; 1983).

9. O aminoácido transportado pelo t RNA iniciador da tradução é metionina formilada em eubactérias; em arquebactérias a tradução inicia-se, como em eucariontes, com metionina.

10. É aparente a semelhança, na resistência a antibióticos de acção ribossómica, entre arquebactérias e eucariontes, apesar dos seus ribossomas terem constantes de sedimentação diferentes. A proteína ribossómica sensível à toxina diftérica é o factor de translocação da cadeia peptídica EF-2 (eucariótico e arquebacteriano), diferente do EF-G eubacteriano (Nature 287, 250-251; 1980). Encontrou-se recentemente que a arquebactéria *Sulfolobus* é resistente a todos os antibióticos testados (II Congresso Luso-español de Bioquímica; 1983).

Outros caracteres invulgares encontrados em arquebactérias são as proteínas ribossómicas muito ácidas, e RNA-polimerases com subunidades diferentes das conhecidas (Microbiological Reviews 46, 1-42; 1982), além das características dos nichos ecológicos donde têm sido isoladas (salinidade saturante, altas temperatura e pressão).

BROTÉRIA-GENÉTICA, Lisboa, V (LXXX), 13-36 (1984)

COMO SE CHEGOU À ERA DA GENÉTICA MOLECULAR

Luís J. Archer

Instituto Gulbenkian de Ciência e Universidade Nova de Lisboa

ABSTRACT

A brief historical account is given on the scientific developments, which paved the way to the establishement of classic and molecular genetics. Emphasis is given to the role played by scientific paradigms in making possible the long and difficult way to the molecular approach of genetics.

INTRODUÇÃO

Não foi pelo desenvolvimento da genética clássica (mendeliana e morganista) que se chegou à genética molecular. Nem mesmo através da sua articulação com a bioquímica e a microbiologia.

Também não foi simplesmente através da descoberta de mais finas tecnologias de observação. Watson e Crick, tal como Mendel ou Darwin, não inventaram propriamente técnicas novas. E as que se descobriram, de microscopia electrónica, bioquímica ou outras, só puderam em geral contribuir para a genética molecular depois de esta lhes apresentar modelos e situações concretas.

Tal como em muitas outras ciências, a história da genética (molecular e não só) não é, nem uma sequência pacífica de observações factuais cada vez mais pormenorizadas, nem uma sucessão de modelos subjectivos de origem teórica.

É antes um processo dialéctico entre modelos e experimentação. Só a partir desta se pode, extrapolando, construir intelectualmente as grandes sínteses científicas ou modelos de inteligibilidade que, nas suas linhas gerais, podemos identificar com os «paradigmas» de KUHN (1979). E só estes possibilitam o desenhar de novos tipos de experiências que os virão, em muitos

casos, a confirmar e, mais tarde, a desbancar em favor de novos paradigmas e novos tipos de experimentação.

Para que, neste fim de século, a engenharia genética possa finalmente realizar o sonho dos alquimistas da Idade Média de modificar, hereditariamente e duma forma orientada, a natureza e o próprio homem, foi preciso percorrer um longo e acidentado processo dialéctico entre paradigmas e experimentação, de que vamos salientar os passos principais, depois de algumas notas introdutórias sobre a genética clássica.

HEREDITARIEDADE SEM GENÉTICA

Antes de tudo, era fundamental estabelecer solidamente a possibilidade da genética como verdadeira ciência da transmissão hereditária. Mas isso não era sequer pensável até há pouco mais de dois séculos, apesar da ancestral aceitação dum certo atavismo, a que podemos chamar hereditariedade.

O próprio século XVII, que teve o enorme mérito de possibilitar a fundamentação do método científico ao propor o mundo como regido por leis fixas e inteligíveis, não incluía a hereditariedade nessa nobre zona. O paradigma desse tempo era o «preformacionismo» (JACOB, 1970, pág. 63-78). O «semen» dos animais e das plantas era concebido como contendo já, em ínfima miniatura, todos os órgãos e todas as estruturas não só do ser a que vai dar origem, mas também de todos os seus descendentes. Todos os seres vivos actuais e futuros tinham sido produzidos e existiam já no primeiro indivíduo da respectiva espécie. Só era preciso um estímulo para o seu desenvolvimento e crescimento. Não havia re-produção nem pro-criação. Não restava lugar para uma ciência genética no sentido duma verdadeira transmissão hereditária. O que o parecesse deveria restringir-se à influência do «meio ambiente» que os antepassados dum ser deveriam ter representado para ele.

Não seria o advento da microscopia nem os primeiros estádios da teoria celular que desbancariam o preformacionismo. Pelo contrário, numerosos microscopistas, já no século passado, deixaram desenhadas as suas observações de homúnculos encerrados ou no espermatozóide ou no óvulo (JACOB, 1970, pág. 136 e seg.).

A queda do preformacionismo inicia-se, sim, ainda no séc. XVIII, à medida que se acumulam objecções de vário tipo. São os cálculos mostrando que, para que um organismo inteiramente diferenciado estivesse contido no sémen dum outro, existente apenas 6 gerações antes, teria dimensões inferiores ao mais pequeno átomo. São experiências de repetidas regenerações de membros em invertebrados. São as semelhanças dos seres vivos, não só com um dos progenitores, mas com ambos.

O acumular destas e de outras objecções coincide, no tempo, com a confluência duma variedade de factores que na segunda metade do séc. XVIII, um século antes de Charles Darwin, impuseram uma mentalidade de tipo evolucionista.

Além dum novo conceito de matéria (extensivo e com massa) e do de progresso como categoria mental, surge a necessidade de explicação unitária para a cada vez maior diversidade encontrada num mundo em descoberta, em especial na multiplicidade das culturas e civilizações. O Barão d'Holbach (1723--1789) é já plenamente um evolucionista que tudo faz derivar da matéria e do movimento em progressão ininterrupta de combinações e agrupamentos (NAVILLE, 1943).

O século XIX viria a acentuar esta dinâmica. O mundo deixa de ser plano; adquire uma terceira dimensão — o tempo — como parâmetro de inovação e diversidade. É a mentalidade evolucionista que, ainda antes de Darwin, é imposta por Herbert Spencer (1820-1903), o qual, com a sua «Filosofia Sintética» pretendeu estender da sociologia a todos os sectores da realidade (acentuando particularmente o biológico), o conceito dum evolucionismo regido pelas leis da mecânica (SPENCER, 1850 e 1852).

O preformacionismo era insustentável neste novo contexto cultural. Cada ser vivo que surge ao longo do tempo terá de ser inovação, novidade. É produzido e criado de novo (re-produzido, pro-criado). Desenha-se o conceito de «reprodução» que Buffon, já desde 1748, procura estender a todos os processos de geração biológica (BUFFON, 1774).

Dentro da nova química de Lavoisier, a reprodução é concebida analogamente à produção dum sal a partir dum ácido e duma base. E isso significava, para o tempo, que cada ser vivo seria uma combinação nova, uma nova reestruturação de elementos dos progenitores. Quais fossem esses elementos era a pergunta que atormentaria os dois séculos seguintes. Mas o importante é que se declarava, desde Buffon, que a hereditariedade deveria ser regida por leis físicas exactas. Uma genética científica tornava-se possível. Do possível ao existente, no entanto, seria ainda longo o caminho a percorrer.

«GENÉTICA» SEM GENES

De Maupertius a Darwin começa a consolidar-se um conceito que o último designou de «pangénese». Segundo esta teoria, cada fragmento do corpo e cada célula produziriam uma pequena gémula que seria enviada para as células sexuais com a missão de desenvolver características semelhantes no futuro organismo (JACOB, 1970, pág. 225).

Neste esquema, que julgava encontrar apoio na teoria celular que então se desenvolvia e consolidava, é importante notar o seguinte.

O que se transmitia era algo da mesma natureza das estruturas biológicas responsáveis pelas características visíveis. As gémulas não eram mensagens informativas de natureza diferente (como mais tarde, os genes) mas sim pequenas amostras de cada uma das estruturas do ser vivo, que depois se multiplicariam no novo indivíduo.

Genes e genótipo não eram, então, concebíveis. Tudo se passava ao nível do que hoje chamamos o fenótipo. Por isso mesmo, os caracteres adquiridos pelo organismo durante a sua vida também deveriam fazer parte dessa mensagem, e ser transmitidos à geração seguinte — tese aceite por Darwin e bem aproveitada por Lamarck.

Quando a pangénese estava no seu apogeu, coerentemente integrada no sistema evolutivo de Darwin que, desde 1859, ganhava crescente apoio científico, aparece Mendel, em 1865, a demonstrar que a hereditariedade se verifica nas ervilheiras segundo leis completamente diferentes. Na posição de Mendel, por exemplo, ervilheiras de sementes rugosas podem transmitir para a geração seguinte «factores» causadores de sementes lisas.

Este conceito de «factor» mendeliano estava, portanto, em absoluta contradição com as gémulas da pangénese, uma vez que ele estranhamente se distanciava do nível das estruturas fenotípicas. Como poderia uma planta enviar para as suas células sexuais uma gémula daquilo que ela não é?

Além disso, o pressuposto mendeliano de que as células somáticas albergariam *dois* factores de caracteres alternativos (um dominante, o outro recessivo), e as células sexuais apenas *um*, deveria soar a um artificialismo bizarro.

Todas as leis de Mendel contradiziam a pangénese. E não seria evidentemente a impecável demonstração matemática de Mendel ou a irrespondível clareza dos seus resultados, bem anunciados em público e em particular, que iriam mudar o rumo da ciência, pois não é assim que se revoluciona um paradigma científico (ILTIS, 1932).

Para piorar ainda mais a situação, Mendel, a seguir às experiências com as ervilheiras, tentou buscar confirmação das suas leis numa outra espécie — a erva hierácio — e não a encontrou. Hoje sabemos que isso se deveu ao facto de se dar frequentemente apomixia nessa espécie. Mas Mendel não o sabia, e julgou que as leis por ele verificadas no caso das ervilheiras não se aplicariam a outras espécies (STURTEVANT e BEADDE, 1962). Desistiu. E morreu, quase 20 anos depois, sem ver o mais leve impacto da sua teoria.

Nem se sabe de ninguém que, durante essas décadas, tivesse sequer repetido as experiências de Mendel. Um cientista dificilmente aceita planear e executar experiências que não façam sentido em relação ao paradigma científico vigente.

Mas, entretanto, a citologia fazia progressos notáveis e rápidos. Começando em 1875, O. Hertwig, seguido de Fol, Strasburger e outros, fazem a

descrição exacta da fertilização e do destino do núcleo do gâmeta masculino depois de penetrar o feminino (COOK, 1937).

A partir de 1885, Weissmann transfere para o nível celular a distinção de Nägeli entre trofoplasma (substância somática) e idioplasma (substância germinal, disseminada por todo o organismo e substrato da hereditariedade). Weissmann demonstra que se dá cedo, na embriogénese, a separação entre células germinais e somáticas, estas últimas não intervindo, portanto, na transmissão hereditária. Na expressão de Butler, não é a galinha que produz o ovo, mas sim o ovo que encontra, na galinha, um modo cómodo de se reproduzir, fazendo outro ovo.

O material hereditário transmite-se directamente das células germinais de uma geração às células da linha germinal da geração seguinte, sem passar pela linha somática (WEISSMANN, 1892).

Esta importante verificação marcava o fim do paradigma da pangénese e da consequente transmissão hereditária dos caracteres adquiridos. A proveniência das características hereditariamente transmitidas passava, assim, da *totalidade do organismo* (pangénese) para as *células* da linha germinal.

O GENE COMO INFORMAÇÃO CROMOSSÓMICA

Essa viragem implicava, também, que os elementos transmissores já não podiam ser gémulas dos vários tecidos somáticos. O que se transmite tem de ser algo das células germinais, não diferenciado, mas capaz de especificar diferenciação. Prepara-se, assim, o conceito de informação, e a distinção entre fenótipo e genótipo, o que seria ininteligível no tempo da pangénese, mas se torna imprescindível para entender Mendel.

Entretanto, Flemming, van Beneden, Strasburger e outros, já tinham detectado os cromossomas, e verificado a sua multiplicação por fissura longitudinal, além de notarem a constância do seu número dentro de cada espécie (COOK, 1937). Estes factos estavam comprovados em 1885 e, baseado neles, Weissmann predisse a meiose, que Boveri e outros de facto confirmaram na gametogénese. Também a meiose vinha testemunhar em favor da segregação mendeliana.

Agora, sim, era possível entender e repetir as experiências de Mendel. E em 1900 aparecem três comunicações independentes (de Vries, Correns e Tschermack) que, sem conhecimento mútuo, apresentam mais de uma dezena de casos novos, em organismos bem diferentes, em que as leis de Mendel se confirmavam (COOK, 1937).

Também independentemente, Sutton, Correns e Boveri acentuam, em 1902, o paralelismo entre a segregação mendeliana dos caracteres e a separação

dos cromossomas homólogos na meiose. Que a ervilheira de sementes rugosas possa transmitir, para a geração seguinte, um «factor» causador de sementes lisas é perfeitamente compreensível, agora que a transmissão hereditária já não se concebe como dando-se directamente de fenótipo para fenótipo, mas sim através do genótipo.

O que se herda já não são as estruturas biológicas visíveis mas factores doutra natureza e que contêm informação potencial para eventualmente as produzir.

Todos os dados citológicos e genéticos começam a harmonizar-se num novo paradigma científico — a teoria cromossómica da hereditariedade. O modo como os cromossomas se emparelham, se separam, se entrecruzam ou sofrem mutações de vário tipo explica a distribuição complexa de todos os caracteres ao longo das gerações. Estabelece-se a genética como ciência da hereditariedade e da variação. A proveniência das características hereditariamente transmitidas passa das *células* da linha germinal para os *cromossomas*. Os factores mendelianos passam a chamarse «genes». (BATESON, 1909).

Rapidamente se desenvolveu este novo paradigma, durante a primeira metade do nosso século, através do estudo pormenorizado das muitas situações diferentes.

Morgan descobre em *Drosophila* os genes ligados ao sexo, o entrecruzamento e, a partir daí, a teoria da ligação e a possibilidade de localizar os genes com base nas suas frequências de entrecruzamento. Sturtevant elabora, em 1913, o primeiro mapa cromossómico.

Seguem-se muitas outras descobertas como os fenómenos de não-disjunção, a hereditariedade da variabilidade contínua, os métodos estatísticos e genética de populações, a mutação, poliploidia, etc., (STURTEVANT e BEADLE, 1962).

GENES COMO DETERMINANTES DE ENZIMAS

Por outro lado, a bioquímica fazia progressos notáveis no estudo das cadeias de reacções que constituem as vias metabólicas para a síntese ou degradação dos vários compostos, no isolamento das enzimas que catalisam cada uma das reacções, na caracterização destas e de outras proteínas, e no estudo da actividade enzimática *in vitro*.

A aproximação possível entre a genética e a bioquímica do tempo foi obtida pelo brilhante trabalho de G.W. Beadle e E.L. Tatum iniciado nos princípios dos anos 40 em *Neurospora*, e que mostrava que o objecto dos geneticistas (gene) e o dos bioquímicos (enzima) se articulam como causa e efeito. Era a hipótese «um gene — uma enzima»: cada gene, dotado de segregação

mendeliana, é responsável pela produção duma enzima destinada a catalisar um dado passo metabólico (BEADLE, 1958).

Linus Pauling e colabs. também demonstraram, em 1949, que os doentes de anemia de células fauciformes (doença identificável pela forma em foice dos glóbulos vermelhos e transmissível segundo as leis de Mendel) acusam uma diferença química na composição da sua hemoglobina. Nos homozigóticos para a doença toda a hemoglobina tem essa constituição alterada, enquanto nos heterozigóticos apenas cerca de metade da hemoglobina é alterada (PAULING *et al.*, 1949).

Verificava-se, assim, uma correlação causal entre *genes* segregados mendelianamente e *proteínas* detectadas bioquimicamente.

Mas todos os procesos decorridos entre a causa e o efeito, ou seja entre genes e proteínas, eram completamente ignorados, nem poderiam ser esclarecidos enquanto os genes não fossem quimicamente identificados.

Hoje é fácil ver que faltava determinar a estrutura dos genes, e justificar quimicamente, tanto a forma incrivelmente fiel pela qual eles se multiplicam e transmitem através das gerações, como o modo específico pelo qual se expressam em proteínas.

Mas toda esta área fundamental de conhecimento que viria a constituir a genética molecular, apesar de representar hoje um entrelaçar de áreas bioquímicas e genéticas, nunca poderia desenvolver-se a partir destas duas ciências, pelo menos no modo como elas eram então concebidas.

Tratava-se dum nível diferente — mais básico e mais universal. Não o da transmissão de caracteres duma geração sexuada para a seguinte (sobre a qual a genética centrava todo o seu interesse) mas o da transmissão de informação dos genes para o fenótipo.

Seria preciso começar por estudar os organismos mais simples — os procariotas. Mas estes, por serem desprovidos de mitose e meiose, não eram tomados a sério pelos geneticistas.

Uma genética de bactérias só começou a ser tomada mais a sério quando o Prémio Nobel Lederberg, ao descobrir o que hoje sabemos ser conjugação bacteriana, erradamente interpretou os seus resultados como significando que *Escherichia coli* se sujeitava também à fusão de células sexuais, cariogamia e meiose: «The occurrence of recombination types [em *E. coli*] has been interpreted by us [...] as a consequence of cell fusion, «karyogamy» and meiosis with crossing over». «It is, rather, our view that, since we have been able to demonstrate no appreciable point of difference between the features of gene exchange in this strain of *E. coli* and in the classical materials of Mendelian experimentation, the most economical conclusion is that the mechanisms involved are also similar» (LEDERBERG, 1947).

Elogio semelhante deduzia também Max Delbrück de algumas experiências com os seus fagos: «their reproduction must involve manoeuvers analogous to those occurring in meiosis and conjugation of higher organisms» (DELBRÜCK, 1949). É que nesses tempos, conjugação e meiose constituiam o cartão de entrada para o clube da genética.

O GENE COMO UNIDADE ALGÉBRICA ABSTRACTA

Além disso, a genética tinha-se tornado uma complexa especialidade cheia de símbolos, complicadas fórmulas e terminologias. Os geneticistas foram criando dos genes uma imagem cada vez mais abstracta e cada vez menos interessada na sua estrutura molecular. «This fact was unnecessarily chemical. All that most of them (the geneticists) wanted out of life was to set their students onto uninterpretable details of chromosome behaviour or to give elegantly phrased, fuzzy-minded speculations over the wireless on topics like the role of the geneticist in this transitional age of changing values» (WATSON, 1968, p. 53)

Ou, como disse Max Delbrück (1969): «Genes at that time (meados dos anos 30) were algebraic units of the combinatorial science of genetics and it was anything but clear that these units were (...) analyzable in terms of structural chemistry».

Aliás, isso não interessava nada aos geneticistas. Foi o próprio Morgan que o proclamou em Estocolmo ao receber o Prémio Nobel em 1934: «It does not make the slightest difference whether the gene is a hypothetical unit, or whether the gene is a material particle» (MORGAN, 1934). E identifica «hypothetical unit» com «fictitious unit» (MORGAN, 1934).

Não era de esperar, portanto, que fosse a florescente genética morganista a conduzir, algum dia, ao surgir da genética molecular... E não foi.

Quase o mesmo se pode dizer da química e bioquímica do tempo. Os poucos químicos que trabalhavam com ácidos nucleicos eram químicos orgânicos que nada entendiam nem queriam saber de genes e genética (WATSON, 1968, pág. 23). Além disso, pensava-se que os genes poderiam ser sistemas submicroscópicos em estado de equilíbrio ou, então, algo não analisável em termos de química como tinha dito Niels Bohr (1933).

Enquanto esta mentalidade perdurasse, não seria de análises químicas (nem muito menos genéticas) que se poderia esperar o esclarecimento da natureza do gene.

O GENE VISTO PELA FÍSICA QUÂNTICA

Preciso era conceber uma estrutura que, minimamente confirmada pela química e pela genética, desse uma explicação global da fidelidade de replicação génica, da possibilidade de mutação, e do comando da síntese proteica.

Ora a capacidade de conceber esta estrutura não pertenceria nem aos bioquímicos nem aos geneticistas, mas sim aos físicos quânticos. E, de facto, foram estes que vieram a lançar a ponte entre aqueles, e poderosamente contribuiram para o surgir da genética molecular.

Em 1945 Schrödinger (um dos fundadores da física quântica) publicava um livro intitulado «What is Life?». Esta obra teve um enorme e imediato impacto, principalmente sobre um bom número de físicos que, desgostosos do lento progresso da física atómica e da sua utilização bélica, se voltaram então para a genética.

Max Delbrück, também físico, já o tinha feito alguns anos antes, impulsionado pela posição do seu Mestre Niels Bohr que, ao formular a teoria quântica, já em 1933 a considerava como a superação dum paradoxo irresolúvel pela física clássica, e estendia analogamente o mesmo conceito à genética. Esta, então inexplicável pela física, poderia construir um novo nível de paradoxos que viriam a ser superados pela descoberta de novas leis físicas (BOHR, 1933). Daí, o interesse dos físicos.

Em 1913, Niels Bohr tinha aplicado ao átomo de Rutherford, com enorme êxito, a teoria quântica de Max Planck. O átomo de hidrogénio concebia-se como constituído por um electrão circulando em torno dum protão. Mais tarde, os orbitais foram definidos como elipses, e caracterizados por três números quânticos (n, l, m). Bohr pressupõe que o átomo só poderia existir em certos «estados estacionários» e que as transições entre eles se dariam por «saltos quânticos» relacionados com radiação.

O posterior desenvovimento matemático da teoria permitiu a Schrödinger mostrar que a existência de estados estacionários dos átomos e das moléculas é uma consequência imediata da teoria quântica.

Em 1927, W. Heitler e F. London aplicam-na à ligação covalente da molécula de hidrogénio e mostram que a energia dessa ligação é estabilizada em termos dum fenómeno de mecânica quântica — a troca de electrões. Desenvolve-se a teoria quântica, e julga-se possível calcular os estados estacionários duma dada molécula: o estado basal, os vários estados isoméricos, e todos os estados excitados.

Tratava-se agora de aplicar ao gene a teoria quântica.

O GENE COMO MOLÉCULA

É óbvio, hoje, que o primeiro passo para o estabelecimento duma genética molecular teria de ser o admitir que o gene possa ser uma molécula, ou parte dela, nos termos da moderna física quântica. Simplesmente, isso não era aceite.

O primeiro que defendeu e tentou provar essa tese foi Max Delbrück. Nesse sentido, e também no de impulsionador de toda a mentalidade que possibilitou um raciocínio a nível molecular, Delbrück pode ser considerado o fundador da genética molecular. E pouco importa, para esse efeito, que a maior parte dos modelos concretos que ele propôs tenham resultado errados.

Já desde os anos 30, Max Delbrück sublinhava (TIMOFEEF-RESSOVSKY *et al.*, 1935) a profunda analogia entre as leis fundamentais da genética e a teoria quântica. A espantosa estabilidade de muitos caracteres ao longo de numerosas gerações e variadas condições, leva-o a considerar o material genético como sendo uma molécula num estado estacionário, com átomos solidamente estabilizados na sua posição e estado electrónico. As mutações corresponderão a «saltos quânticos» para formas isoméricas. Delbrück calcula a probabilidade desses saltos em termos de mecânica quântica e obtem valores que são grosseiramente compatíveis com as frequências de mutação.

O GENE COMO CRISTAL APERIÓDICO

O citado livro de Schrödinger «What is Life» vem, em 1945, a apoiar, desenvolver e divulgar estes conceitos, e torna-se a cartilha oficial da visão quântica do gene. O gene teria que ser uma molécula cristalina, mas não um cristal periódico como os que normalmente são estudados pelos físicos. Deveria ser um *cristal aperiódico,* em que a sucessão, irregular mas significativa, dum pequeno número de estruturas isoméricas, represente um código hereditário.

Já nesse livro de 1945 Schrödinger usa o termo «código genético» explicando o conceito nos termos gerais de hoje, exemplificando com o código de Morse, e calculando o enorme número de mensagens que se podem construir pelo variado ordenamento de um pequeno número de sinais.

Restava, agora, determinar a natureza exacta desses sinais.

Mas também este passo não poderia ser dado só pela bioquímica ou pela genética.

Prova disso é o trabalho de Avery, MacLeod e McCarty desde os princípios dos anos 40, e finalmente publicado em 1944. Não há análise bioquímica mais directa e concludente. DNA isolado de pneumococus capsulados foi prolixa e exaustivamente purificado de quaisquer proteínas, lípidos e polissa-

carídeos. Nessa forma puríssima, foi fornecido a pneumococus não capsulados. Em consequência, alguns destes foram estavelmente transformados em pneumococus capsulados.

As experiências foram tão exaustivas nos controlos e tão cuidadosas em todas as análises e contraprovas, que frequentemente são consideradas, hoje, a primeira «prova» de que o DNA é o material genético. Parece-nos assim, a nós que já aceitámos e vivemos o paradigma da genética molecular. Mas não o era, nem o podia ser, para o tempo. Os próprios autores reconheciam não se excluir a possibilidade de que uma outra espécie molecular contaminante, apesar de existir em quantidades dificilmente detectáveis, tivesse o papel principal na hereditariedade.

E o impacto sobre a comunidade científica foi praticamente nulo. Não é assim que se mudam paradigmas científicos.

Mesmo no laboratório de Avery, continuou durante muitos anos a não ser permitido afirmar que o DNA é o agente transformador ou o material genético (HOTCHKISS, 1966). Num artigo em que BEADLE (1946) discute a natureza química do gene, não cita Avery *et al.*, e ignora na discussão os seus resultados. O excelente volume «Genetics in the 20th Century» (DUNN ed., 1951) que resume as conquistas da genética de 1900 a 1950, cita apenas uma vez o trabalho de Avery *et al* e, mesmo nesse caso, ocupa-se muito mais longamente das razões pelas quais o DNA não deverá ser o material genético do que a referir as experiências de Avery *et al.* E ainda mais tarde, SCHRADER (1953), aponta o perigo de se estar a dar ao DNA uma importância desproporcionada na constituição do gene, perdendo de vista a possibilidade de que outras substâncias do cromossoma desempenhem papeis muito importantes.

Não seria por este caminho, com purificações cada vez mais exaustivas e análises cada vez mais finas, que algum dia se poderia promover o DNA a material genético.

O GENE TIPIFICADO NO BACTERIÓFAGO

Importante era encontrar um modelo, coerente com a variedade de dados experimentais, que apresentasse um mecanismo explicativo da fiel auto-replicação do gene e da sua capacidade de influir no fenótipo.

Foi com este objectivo que, já em 1938, Max Delbrück se associou com Luria e Hershey para constituir o célebre «grupo dos fagos».

A ideia que estava por detrás da constituição deste grupo era, essencialmente, a seguinte.

Dos bacteriófagos ou fagos (vírus bacterianos), descobertos por d'Hérelle uns 20 anos antes, não se tinha, de modo nenhum, a imagem que hoje temos.

Só muito mais tarde puderam ser visualizados por microscopia electrónica (LURIA e ANDERSON, 1942). E só mais tarde ainda se entendeu que, ao infectar as células, os fagos injectam apenas o seu DNA, abandonando no exterior as suas proteínas, sem mais função a cumprir (HERSHEY e CHASE, 1952).

Segundo o conceito possível em 1938, o fagos apresentavam flagrantes analogias com genes individuais. Estes últimos deveriam ser, nas plantas e animais, de natureza nucleoproteica, uma vez que já há muito se sabia ser essa a constituição dos cromossomas. Ora os fagos também se revelam constituídos por ácidos nucleicos e proteínas. Tanto os genes como os fagos apresentavam capacidade de auto-replicação e, em ambos os casos, só dentro da célula. Tanto uns como outros estavam sujeitos a mutação, ou seja alteração genética sem perda de auto-replicação. Pelas medições grosseiras então possíveis, os fagos pareciam ter dimensões da ordem de grandeza que era calculada para alguns genes individuais.

Uma vez que para as possibilidades técnicas da época seria impossível pretender isolar um gene animal ou vegetal para estudo pormenorizado, os bacteriófagos pareciam o modelo ideal para o estudo do gene. Cada fago seria um gene desgarrado, de multiplicação fácil e independente. «The similarity between virus and molecule is particularly apparent from the fact that virus crystals can be stored indefinitely without losing either their physico-chemical or infectious properties. Therefore we will view viruses as molecules (...). We want to look upon the replication of viruses as a particular form of a primitive replication of genes» (DELBRÜCK, 1937).

O «grupo dos fagos», que foi aumentando em número até várias dezenas de investigadores (muitos deles físicos), esclareceu, de 1938 a 1952, uma variedade de aspectos básicos do processo da infecção fágica. Aperfeiçoou-se a técnica de titulação de lisados. Encontraram-se métodos para determinar a eficiência do plaqueamento. Determinaram-se com rigor as taxas de adsorção fágica, em função duma variedade de factores incluindo a multiplicidade de infecção. Estudou-se isoladamente um só ciclo de infecção sincrónica, e analisou-se o período de eclipse e o período de latência. Encontraram-se métodos artificiosos para rápida lise das células durante o processo de infecção («lise por fora»), e assim se pôde determinar o tempo a que se começam a acumular, dentro das células, novos fagos activos.

Note-se que boa parte dos resultados citados até aqui, além de outros (como mutação fágica e recombinação intracelular de fagos) foram obtidos num tempo em que se assumia que fagos fossem puras moléculas.

Mas poucos anos depois de se começarem a visualizar os fagos por microscopia electrónica (LURIA e ANDERSON, 1942), esse conceito caiu. Os fagos apresentavam-se constituídos por uma estrutura complexa, específica e diver-

sificada — cabeça, cauda, fibras, etc. Cada um deles não era uma molécula, mas um conjunto estruturado de várias moléculas.

Consequentemente, o objectivo inicial do «grupo dos fagos» de estudar uma molécula genética isolada não se pôde atingir com este material. Mas, em compensação, aquele trabalho teve uma enorme importância no correcto enunciar dos modelos teóricos necessários para preparar a posterior formulação do dogma central da genética molecular. Por essa razão, os fundadores do grupo dos fagos (Max Delbrück, Hershey e Luria) receberam em 1969 o prémio Nobel. Vamos dar alguns exemplos desses modelos.

O GENE E OS SEUS MODELOS MOLECULARES

Uma variedade de resultados conduziram à persuasão de que o material genético (qualquer que fosse a sua composição química) teria que exercer duas funções: uma, autocatalítica, de se auto-replicar com enorme fidelidade (como se verificava no caso dos fagos); outra, heterocatalítica, de comandar a síntese dos constituintes do fenótipo (este, caracterizado, nos fagos, por microscopia electrónica e por soros anti-fágicos). A consciência clara e exemplificada da necessidade destas duas funções seria importante para a identificação da molécula genética.

Outro aspecto. Concebendo o gene como de natureza nucleoproteica, PAULING e DELBRÜCK (1940) logicamente propuseram que DNA e proteína seriam complementares (isto é, dotados de atracção específica mútua). A auto-replicação do gene dar-se-ia por separação dessas duas substâncias, sintetizando-se novo e idêntico DNA sobre o molde polipeptídico, e novas cadeias proteicas sobre o molde de DNA. Este modelo era proposto pouco depois de ASTBURY (1939) ter relatado semelhanças de distância entre nucleotídeos (no DNA) e entre aminoácidos (nas cadeias polipeptídicas). Este modelo não se confirmou, mas teve o mérito de orientar a busca no sentido de duas cadeias complementares não idênticas.

Outro modelo foi proposto pelo grupo de Delbrück ao verificar que, durante o processo da infecção fágica, se formam proteínas precursoras dos fagos, as quais se encontram dissociadas de qualquer DNA. A conclusão lógica foi a de que o material genético dos fagos seria de natureza proteica. Isto pouco depois de HAUROWITZ (1950) ter apresentado um modelo bastante pormenorizado para a replicação proteica baseado no conceito de cristalização. Seria uma cadeia polipeptídica que serviria de molde para a síntese duma nova cadeia polipeptídica complementar.

Mas pouco depois, HERSHEY e CHASE (1952) apresentaram a sua célebre experiência que vamos descrever.

Os autores infectaram com fagos T_2 duas culturas de *E. coli* — uma em que a única fonte de enxofre continha o radioisótopo S^{35}, e outra em que a única fonte de fósforo continha o radioisótopo P^{32}. Deste modo, na primeira amostra, só as proteínas dos novos fagos (as quais, ao contrário do DNA, contêm enxofre) ficariam marcadas pelo S^{35} enquanto, na outra amostra, só o DNA do novos fagos (o qual, ao contrário das proteínas, contém fósforo) deverá ficar marcado pelo P^{32}.

Depois de terem infectado com uns e outros fagos uma nova cultura de *E. coli*, Hershey e Chase verificaram que mais de 80 % do S^{35} ficava no exterior das células, e praticamente nenhum se incorporava nos novos fagos.

Pelo contrário, quase todo o P^{32} penetrou nas células, e mais de 30 % aparecia incorporado nos novos fagos.

Esta experiência indicava que, ao infectar as células, os fagos injectam nelas o seu DNA, abandonando no exterior as suas proteínas sem mais função. Consequentemente mostrava que, pelo menos neste caso, as proteínas não se auto-replicam, e que a razão da constância da sua especificidade de geração para geração tem de ser buscada noutra estrutura molecular de que elas dependam.

Hoje, diz-se geralmente, em bons livros de texto, que aquelas experiências de Hershey e Chase «provaram» que o DNA é o material genético. Mas não foi essa, nem podia ser, a conclusão tirada pelos autores. Eles sublinhavam, muito ao contrário, que poderia haver, além do DNA, uma outra substância não marcada pelo S^{35}, que penetrasse as células e se incorporasse no genoma dos novos fagos. Essa substância não identificada poderia ser o verdadeiro material genético.

Não seria ainda por este caminho que se poderia chegar à identificação do material genético. Mas tinha-se preparado o caminho para a descoberta, através da definição do seu perfil, que passamos a resumir, antes de prosseguir.

O gene aparecia como devendo ser uma entidade química e não uma unidade algébrica abstracta.

Tal entidade química deveria ser uma molécula.

Essa molécula teria estrutura de cristal aperiódico.

Tal aperiodicidade seria informação a expressar-se no fenótipo, através dum «código genético».

Por outro lado, a mesma aperiodicidade informativa deveria poder replicar-se fielmente através duma estrutura complementar de molde-contramolde.

Mas as unidades complementares não serão proteína-proteína nem proteína - DNA.

Haveria ainda que atentar a possibilidade de replicação DNA - DNA. Mas, até 1949, julgava-se que as 4 bases do DNA se encontravam representadas em quantidades equi-moleculares («hipótese tetranucleotídica»), e por isso os

acidos nucleicos eram geralmente considerados como tendo uma composição demasiado simples, monótona e pobre para se poderem candidatar a fautores das complicações barrocas dos geneticistas.

O GENE COMO DNA

A partir de 1949, Chargaff verificou que as quantidades relativas das 4 bases do DNA variam de espécie para espécie mas se mantêm em todos os indivíduos da mesma espécie e em todos os seus órgãos. Verificou, também que o RNA, esse varia, nas quantidades relativas das suas bases, de órgão para órgão (CHARGAFF, 1950). Por isso, CHARGAFF (1950) aventava timidamente a hipótese de que o DNA fosse responsável pela transmissão das características hereditárias, e o RNA estivesse implicado no processo da diferenciação.

Evidentemente que não seriam estes dados (como não foram os de Avery *et al.*) que iriam persuadir do novo paradigma a comunidade científica. Mas convenceram suficientemente um ou outro dos seus membros, como por ex. James Watson, que em 1952, afixava sobre a sua mesa de trabalho a seguinte profecia:

$$\text{DNA} \rightarrow \text{RNA} \rightarrow \text{proteína}$$

E explicava que as setas não significam reacções químicas mas a direcção do fluir da informação (WATSON, 1968, pág. 98).

O problema estava em aduzir bons argumentos para defender a sua convicção. E ele julgou que os poderia encontrar ao tentar construir um modelo tridimensional do DNA, apoiado em dados de difracção de raios X.

A disposição espacial dos átomos em cristais pode ser determinada medindo os ângulos e as intensidades com que é difractado, pelos orbitais dos electrões, um feixe de raios X de determinado comprimento de onda. Assim, a análise por raios X de cristais de cloreto de sódio mostra que os átomos de Na^+ e Cl^- estão dispostos numa rede de estrutura cúbica.

Também é possível utilizar difracção de raios X para moléculas mais complexas. No princípio dos anos 30 William Astbury começou a aplicá-lo a proteínas ,e verificou que a fibra de algodão (essencialmente constituída por queratina) produz um perfil regular de difracção de raios X com uma periodicidade de unidades de cerca de 0,45 nm.

Mais tarde, Robert Corey e Linus Pauling estudaram os perfis de difracção de aminoácidos, dipeptídeos e tripeptídeos, e desse modo deduziram a estrutura exacta da ligação peptídica: distâncias entre os átomos, seus ângulos permissíveis, ligações rígidas e ligações que, pelo contrário, permitem rotação. Com

estes dados, e com a ajuda da construção de modelos tridimensionais, Pauling conseguiu interpretar os perfis de difracção de raios X da fibra de queratina, e concluir que ela tem uma estrutura regular e helicoidal — uma hélice α.

O grande êxito desta descoberta, que veio a dar a Pauling o seu primeiro Prémio Nobel, gozava, em 1951, dum nítido apogeu. Foi nesta altura que Crick e Watson se propuseram aplicar métodos semelhantes para dilucidar a estrutura do DNA.

Já desde 1938 que ASTBURY (1947) tentava desvendar o DNA por difracção de raios X. Os resultados sugeriam uma estrutura extraordinariamente regular (como «uma pilha de moedas») com uma repetição, ao longo do eixo, cada 34 Å.

Maurice Wilkins e Rosalind Franklin aperfeiçoaram a técnica e obtiveram resultados que sugeriam, como altamente provável uma composição helicoidal de mais do que uma cadeia (provavelmente três). Estes resultados não chegariam, porém, para desvendar a estrutura do DNA (WILKINS, 1956).

O GENE COMO ESPIRAL POLINUCLEOTÍDICA DUPLA

O mérto de Watson e Crick consistiu em criar um modelo que, além de compatibilizar todos os dados existentes (químicos, estereoquímicos e de difracção), dá uma explicação unitária da fiel auto-replicação do DNA, da sua transcrição e mutação. Esse modelo, apresentado em 1953, conseguiria aquilo que nenhuma análise química ou genética havia logrado: persuadir a comunidade científica de que o material genético é DNA.

Os dados químicos então existentes já eram completos e claros sobre as ligações existentes em cadeias polinucleotídicas. Já se sabia que o eixo fundamental dessas cadeias é constituído, por unidades alternantes de desoxirribose e ácido ortofosfórico, esterificando-se este último, por um dos lados, com uma posição 3′ da desoxirribose, e pelo outro, com a posição 5′ da da outra unidade desoxirribose.

Também já se sabia que é à posição 1′ de cada desoxirribose que se liga covalentemente uma das 4 bases do DNA (adenina, guanina, timina, citosina), que essa ligação é glicosídica do tipo β, e se dá à posição N_9 das bases púricas (adenina e guanina) e ao N_1 das bases piridímicas (timina e citosina).

Igualmente se sabia, desde 1947, que a viscosidade do DNA se mantem constante entre pH 5,6 e 10,9, mas rapidamente baixa a valores de pH inferiores ou superiores àqueles limites, e que esse declínio em viscosidade não implica quebra de ligações covalentes. Estes resultados sugeriam, portanto, ligações de hidrogénio a unir cadeias polinucleotídicas próximas, o que era

confirmado por outros tratamentos conhecidos como destruidores de ligações de hidrogénio.

O que não se sabia era entre que átomos das cadeias polinucleotídicas se dariam essas ligações de hidrogénio. E aí começou o trabalho de Watson e Crick.

Os resultados de difracção de raios x da fibra de DNA de qualquer origem (animal, vegetal ou bacteriana) revelaram perfis idênticos e uma provável estrutura helicoidal duma perfeita regularidade.

Uma vez que as 4 bases do DNA, pelas suas diferentes dimensões e sequência variável, são a fonte de irregularidade, a primeira tentativa de Watson e Crick consistiu em construir modelos tridimensionais em que os eixos fosfato-açúcar de três cadeias polinucleotídicas se enrolassem no interior da molécula, deixando para fora as bases. Nesse modelo as ligações fracas dar-se-iam entre oxigénios dos grupos fosfatos de cadeias diferentes, através dum catião divalente como o Mg^{++}.

Mas quando, a pedido dos autores, Maurice Wilkins e Rosalind Franklin visitaram o modelo, este colapsou irremediavelmente: os ângulos das ligações fosfo-diestéricas eram inaceitavelmente diferentes de uns nucleotídeos para outros, e os iões Mg^{++} (que deveriam estar rodeados de água) de modo nenhum poderiam servir para ligações entre as cadeias (WATSON, 1968, pág. 63-67).

Pouco depois deste primeiro fracasso, Crick começou a acalentar a ideia de ligações de hidrogénio entre as bases, e pediu ao químico teórico John Griffith que lhe estudasse essa possibilidade. Dessa sondagem resultou uma certa preferencialidade de ligação entre adenina (A) e timina (T), e, por outro lado, entre guanina (G) e citosina (C). Esta hipótese era atraente, porque explicaria os resultados recentes de Chargaff indicando que, apesar das variações, de espécie para espécie, nos conteúdos das 4 bases, sempre as razões A/T e G/C eram próximas de 1 (CHARGAFF, 1950).

Mas discussões de Chargaff no verão de 1952 não encorajaram esta hipótese, e as tentativas de Crick de encontrar, em meio aquoso, atracções específicas A-T e G-C fracassaram (WATSON, 1968, pág. 83-93).

Entretanto, já em Janeiro de 1953, Pauling e Corey escrevem um artigo em que propõem um modelo para a estrutura do DNA: 3 cadeias polinucleotídicas com o eixo fosfato-açúcar no centro e as bases para o exterior. As ligações de hidrogénio eram concebidas como dando-se entre os fosfatos de cadeias diferentes. Para conseguir essas ligações directamente, Pauling tinha que imaginar que alguns dos hidroxilos dos fosfatos não estariam ionizados, servindo os respectivos hidrogénios para as ligações fracas entre as cadeias.

Esse artigo de Pauling (que seria Prémio Nobel no ano seguinte), foi rapidamente publicado (PAULING e COREY, 1953), mas sem que nin-

guém o pudesse tomar a sério, mesmo depois duma segunda publicação com correcções. É que os perfis de difracção de raios X eram obtidos com DNA em forma de sal, não havendo portanto, nos grupos fosfato, átomos de hidrogénio livres para servirem de ligação entre as cadeias. Além disso, deveria dar-se repulsão entre as cargas negativas dos fosfatos. E, como se isso ainda não bastasse, algumas das distâncias van der Waals eram demasiado pequenas.

Entretanto, constava que dados mas finos de difracção convenciam Rosalind Franklin de que as bases deveriam estar no centro da molécula. Apesar disso, Watson tentou ainda, com modelos tridimensionais mais precisos, construir uma estrutura regular de duas cadeias polinucleotídicas com as bases para o exterior. E então tornou-se claro que tal estrutura era incompatível com os dados de difracção.

Watson volta-se, então, para o esquema oposto, com bases no interior da molécula, e decide arbitrariamente, começar só com duas cadeias. Primeiro, constrói os dois eixos açúcar-fosfato. Verifica que o ângulo de rotação entre duas bases adjacentes resulta de 30° a 40°, o que era aceitável em termos dos perfis de difracção. Ao longo do eixo, 34 Å era a distância entre uma rotação completa.

Restava a colocação das bases. Watson julga então encontrar ligações preferenciais de hidrogénio A-A, T-T, G-G e C-C e constrói o modelo nesta base. Parece aceitável, e tem a vantagem de explicar facilmente a fiel replicação do DNA. O seu entusiasmo foi tão intenso como efémero, pois vêm demonstrar-lhe que ele tinha usado a forma tautomérica errada da guanina e da timina: tinha tomado a forma enólica (e não a cetónica) dessas duas bases. Corrigindo esse erro, a diferença de tamanho entre as bases tornou-se ainda maior, e já não era permissível a flexão dos eixos açúcar-fosfato ao passarem dum par de bases púricas (maiores) para um par de bases pirimídicas (mais pequenas).

Entretanto R. D. B. Frazer, do Laboratório de Wilkins, apresenta um modelo de DNA em que três cadeias se unem por ligações de hidrogénio entre as bases. Mas algumas bases estavam também na forma tautomérica errada, e algumas distâncias não eram correctas (WATSON e CRICK, 1953a; WATSON, 1968, pág. 139).

Crick continua a pensar que as igualdades de Chargaff (A=T; G=C) são a chave da solução. Watson tenta, com modelos de cartão, os emparelhamentos A-T, G-C e verifica que eles se dão com naturalidade, e que esses dois pares têm rigorosamente o mesmo tamanho.

Watson e Crick constroem então, o modelo tridimensional nesta base, e ele parece obedecer a todos os dados conhecidos. O plano das bases era praticamente perpendicular aos das respectivas desoxirriboses, estando estas dispostas em planos aproximadamente paralelos ao eixo da molécula, o que estava

inteiramente de acordo com os dados de FURBERG (1950, 1952). As ligações glicosídicas dos nucleotídeos do mesmo par ficam na mesma direcção, o que facilita a regularidade. Os ângulos e distâncias de todas as ligações fosfo-diestéricas ao longo da molécula eram idênticas, desde que uma das cadeias fosse construída com polaridade oposta à da outra, o que Crick imediatamente prevê e executa. As igualdades de Chargaff (A=T; G=C), entretanto reconfirmadas, ficaram coerentemente explicadas.

Wilkins, convidado a visitar o modelo, verifica que todos os ângulos e distâncias são permissíveis e, depois de determinar o perfil de difracção deste modelo, conclui que ele coincide com o obtido com DNA.

Além disso, este modelo fornece uma explicação estrutural para a fidelidade de replicação do DNA. Dando-se a rotura das ligações de hidrogénio e consequente afastamento das duas cadeias, facilmente se entende que cada uma delas sirva de molde para a síntese, a partir de precursores existentes no meio, duma nova cadeia. Esta terá uma sequência de bases idêntica à da cadeia antiga que lá se encontrava antes, por razões estereoquímicas deste modelo. Bases diferentes, não estabeleceriam as mesmas ligações de hidrogénio, além de, nalguns casos, obrigarem a distorções da estrutura (WATSON e CRICK, 1953b). Assim se explica a alta fidelidade da replicação do material genético e a persistência de muitos caracteres ao longo de numerosas gerações.

Mas também a mutação foi explicada por WATSON e CRICK (1953c) com o seu modelo. Quando, por exemplo uma adenina estiver ocasionalmente no seu estado tautomérico raro (devido à migração reversível dum hidrogénio de um ponto para outro da molécula) emparelhar-se-á preferencialmente não com timina mas sim com citosina. Esta, na replicação seguinte, emparelhar-se-á com uma guanina, perpetuando uma mutação naquele par de bases.

A comunicação de WATSON e CRICK (1953c) ao Simpósio de Cold Spring Harbor no verão de 1953 terminava com as seguintes palavras: «The evidence for both the model and the suggested replication scheme will be strengthened if it can be shown unambiguously that the genetic specificity is carried by DNA alone, and, on the molecular side, how the structure could exert a specific influence on the cell».

É curioso que seja justamente esta comunicação, que assim conclui não estar inequivocamente provado que o DNA se identifique com o material genético, aquela que pela primeira vez convenceu dessa identificação a comunidade científica, e mudou o seu paradigma.

E porquê? Porque o modelo de Watson e Crick dava explicação una, simples e coerente a uma enorme variedade de resultados, provenientes das diversas ciências físicas, químicas e biológicas, além de sugerir várias linhas de investigação futura capazes de testar esse paradigma.

Esses testes começaram logo a ser feitos. Em 1954, Leslie Orgel e James Watson tentaram desesperadamente encontrar cavidades, na estrutura do RNA, complementares, na forma, às cadeias laterais dos aminoácidos que se peptidizam em proteínas. Mas o seu fracasso foi completo (WATSON, 1962, pág. 186). Foi então que Crick, nos princípios de 1955, sugeriu que os aminoácidos não reconheceriam directamente o molde de RNA, mas antes se ligariam especificamente a uma molécula adaptadora, capaz de selectivamente se ligar, por pontes de hidrogénio, às bases do RNA. No ano seguinte, Hoagland encontra uma nova espécie de RNA (solúvel, hoje chamado de transferência) que poderia ser bom candidato a essa função, o que se confirma em 1958 (WATSON, 1962, pág. 186-187).

Ficava assim estabelecido o «dogma central» da genética molecular. O DNA possui uma estrutura que lhe permite, por um lado, autocopiar-se fielmente, e, por outro, conter em código a informação que se transcreve em RNA e se traduz em proteínas, determinando muito do que cada ser vivo é ou pode vir a ser. Através desta dupla capacidade, o DNA é a justificação química do facto de cada ser vivo se manter igual a si próprio durante o crescimento e a vida, e, ao reproduzir-se originar sempre indivíduos que perpetuam muitas das suas características, enquanto os pequenos erros que se acumulam explicam a lenta evolução que está sempre em curso. É, portanto, a existência das moléculas simultaneamente informativas e auto-replicantes de DNA o que torna possível a hereditariedade e a perpetuidade da vida no nosso Planeta.

Duvido que seja possível, em todo o rigor científico, alcandorar uma experiência concreta à categoria de «prova» do nosso actual paradigma. Certo é que, nas suas linhas gerais, ele sempre se articulou, em correlação perfeita, com toda a experimentação dos últimos 30 anos. E continua a funcionar, ao ponto de permitir obter actividade biológica por parte dum DNA construído por síntese orgânica total, e de originar as engenharias genéticas mais artificiosas, que possibilitam a alteração da natureza e do próprio homem.

É nesta coerência e operacionalidade que se fundamenta a sua verdade.

CONCLUSÃO

Mas afinal, por que caminhos se chegou à era da genética molecular?

Como todos os paradigmas, também este é produto da confluência duma grande variedade de correntes que, em proporções diferentes, se interpenetram duma forma que torna arriscada a distribuição de responsabilidades.

Melhor poderá o leitor extrair dos factos apontados, a sua verdade, e convencer-se dela. Aqui termina, por isso, esta revisão.

Só que eu queria, para além do fim, confiar ao leitor o sonho que tive ontem, numa estranha noite de febre.

Apareceu-me, em sonhos, uma rapariga dos seus 30 e tal, que me foi dizendo, tanto quanto a sua voz difusa me permite recordar, mais ou menos o seguinte:

«Não só tu, mas também eu (e muito mais) tenho tentado desvendar que estranhos cruzamentos me terão feito aparecer neste abstruso mundo dos homens.

Minha mãe pertence à nobre família dos físicos estruturais que conta, entre os seus ascendentes, os Braggs (pai e filho), iniciadores da cristalografia baseada na difracção dos raios X. A morfologia molecular tridimensional representava, para minha mãe, toda a razão do seu existir. Do seu primeiro consórcio com um bioquímico clássico, teve numerosos e afamados filhos como Astbury, Bernal, Perutz, Kendrew e, do outro lado do mar, Linus Pauling (STENT, 1968).

Mas fiquei para ser concebida em segundas núpcias, e, pelo que entendo, é mais intrincada a combinação cromossómica que me gerou.

Particularmente difícil foi para mim entender, através da minha atribulada infância e adolescência, quem tinha sido propriamente o meu pai.

Quando eu era miúda, ia muitas vezes lá por casa um senhor alto que parecia gostar muito de mim. Sentava-me no colo, brincava comigo, e às vezes, dizia nostalgicamente que eu tinha exactamente os olhos que ele tanto havia sonhado lançar neste mundo. E, depois de dizer isto, ficava triste. Notava que minha mãe tinha por ele grande consideração e lhe dizia que ele havia tido grande influência na sua vida e na minha existência. Apesar de profundas diferenças. Enquanto minha mãe lidava com os biólogos pela convicção que tinha de os poder ajudar nas suas lides específicas, aquele senhor claramente privava com eles na persuasão de que podia ser ajudado por eles para os seus próprios objectivos (STENT, 1968).

Definitivamente, aquele senhor poderia e quereria ter sido o meu pai, mas não o era na verdade. Vim mais tarde a entender que ele pertencia à grande roda dos físicos informacionais, de que me segredaram nomes como Niels Bohr, Erwin Schrödinger, Max Delbrück... Os cantos dos lábios desciam-lhe em despiciência quando falava com um bioquímico ou, ainda mais, com um geneticista clássico. E era por aí que entrava a discórdia na família, nomeadamente por causa da minha tia materna com seus numerosos e garbosos filhos, que passo a introduzir.

Eles enchiam a boca com a palavra «gene» (apesar de não saberem responder quando eu lhes perguntava concretamente o que isso é) e dominavam a família como se fossem os únicos importantes. Não brincavam comigo. Pu-

nham-me sempre à margem dos seus segredinhos, e zombavam de mim, chamando-me «informação», «DNA», e outras coisas feias.

Mas voltemos à busca do meu pai. Por certas conversas estou hoje convencida que terá sido um bioquímico bacteriano e progressista (duma roda de que recolhi nomes como Avery, MacLeod, McCarty, Hershey, Chase) que, valorizando expressões propagandeadas pela minha tia, conquistou minha mãe e fez que ela de novo se apaixonasse, e se lançasse numa nova aventura (que ela misteriosamente chamava watsoniana e crickiana) que me fez nascer (ou, pelo menos, me fez reconhecida como nascida). É que nunca consegui descobrir a data exacta do meu nascimento... Meu pai nunca foi tomado muito a sério pela minha tia e meus primos, para quem só eles existiam no mundo. Mas era mais um ignorarem-se mutuamente do que um conflito aberto.

Cresci. E a situação foi-se modificando. Os meus palavrosos primos do lado materno parece que começaram a tolerar que eu também tivesse um lugar no mundo e na família, desde que ele fosse modesto. Pelo contrário, os meus primos do lado paterno deram-me um lugar grande de mais na sua vida, de modo que, às vezes, sinto-me como se já não fosse eu, mas tão somente um deles.

Todos dizem que a minha juventude foi brilhante e a minha idade madura será promissora (WATSON e TOOZE, 1981). Mas eu não estou tão convencida disso. Tenho a impressão de que já não gostam de mim da maneira romântica e gratuita doutros tempos. Agora, quando saio à rua, encontro em cada esquina um industrial interessado em mim, mas só pelo dinheiro. E desconfio que já há quem não me aceite como a informação total e universal doutros tempos. Novos paradigmas surgem a cercear-me...»

Foi aqui que acordei estremunhado. Ia chegar tarde ao trabalho. Mas, pelo menos, não ia encontrar lá estes medos e inseguranças. Aí, acreditamos que o paradigma em que vivemos é *a* realidade. E que será eterno. E lavamos o cérebro dos novos, de modo a que eles concordem connosco em como há «provas» científicas Tudo foi linear e tem datas certas. Somos felizes. E não há sonhos maus!

BIBLIOGRAFIA

ASTBURY, W. T., 1939 — Proc. 7th International Congress of Genetics. Edinburgh 1938 p. 49-51.

———, 1947 — X-ray studies on nucleic acids. Symp. Soc. Exp. Biol. *1*: 66-76.

AVERY, O.T., C.M. MACLEOD e M. McCARTY, 1944 — Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. The Journal of Experimental Medicine 79 (2): 137-158.

BATESON, W., 1909 — Mendel's Principles of Heredity, University Press, Cambridge.

BEADLE, G.W., 1946 — Genes and the chemistry of the organisms, American Scientist 34: 31-53.

———, 1958 — Genes and chemical reactions in *Neurospora*. *In* «Nobel Lectures in Molecular Biology 1933-1975», Elsevier, N.Y., 1977, p. 51-63.

BOHR, N., 1933 — Light and Life. Nature *131:* 421-457.

BUFFON, G.L., 1774 — De la Manière d'Étudier et de Traiter l'Histoire Naturelle. Oeuvres Complètes. t. I. Paris.

CHARGAFF, E., 1950 — Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymatic degradation. Experientia *6*: 201-209.

COOK, R., 1937 — A chronology of Genetics. U.S. Dept. Agric. Yearbook, 1457-1477.

DELBRÜCK, MAX, 1937 — Preliminary write-up on the topic «Riddle of Life». *In* «Nobel Lectures in Molecular Biology 1933-1975», Elsevier, N.Y. 1977, p.369-371

———, 1949 — A Physicist looks at biology. *In* Phage and the Origins of Molecular Biology (T. Cairns, G. Stent and J. Watson eds.) Cold Spring Harbor, 1966, p. 9-22.

———, 1959 — A Physicist's renewed look at biology, twenty years later. *In* «Nobel Lectures in Molecular Biology 1933-1975», Elsevier, N.Y.. 1977, p. 363-372.

DUNN, L.C. (ed.), 1951 — Genetics in the 20th Century, Macmillan. N.Y.

FURBERG, S., 1950 — Acta Chem. Scand. *4*: 751.

——— 1952 — Acta Chem. Scand. *6*: 634.

HAUROWITZ. F., 1950 — Chemistry and Biology of Proteins, Academic Press, N.Y.

HERSHEY, A.D. e M. CHASE, 1952 — Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. J. Gen. Physiol. *36:* 39-56.

HOTCHKISS, R.D., 1966 — Gene, transforming principle and DNA. *In* «Phage and the Origins of Molecular Biology» (T. Cairns, G. Stent and J. Watson eds.) Cold Spring Harbor, N.Y., 1966, p. 188.

ÎLTÎS, H., 1932 — Life of Mendel (translated by E. and C. Paul), N.Y.

JACOB, F., 1970 — La Logique du vivant, Ed. Gallimard, Paris.

KUHN, T.S., 1979 — O domagtismo em ciência. *In* «História e Prática das Ciências» (M.M. Carrilho org.), Ed. A Regra do Jogo, Lisboa, 1979, p. 45-75.

LEDERBERG, J., 1947 — Gene recombination and linked segregations in *Escherichia coli*. Genetics *32:* 505-525.

LURIA, S.E. e T.F. ANDERSON, 1942 — The identification and characterization of bacteriophages with the electron microscope. Proc. Natl. Acad. Sci. *28:* 124-130.

MORGAN, T.H., 1934 — The relation of genetics to physiology and medicine. *In* «Nobel Lectures in Molecular Biology 1933-1975». Elsevier, N.Y., 1977, p. 5.

NAVILLE, P., 1943 — D'Holbach et la Philosophie Scientifique au XVIII siècle, Paris.

PAULING, L. e M. DELBRÜCK, 1940 — The nature of the intermolecular forces operative in biological processes. Science *92:* 77-79.

PAULING, L., H.A. ITANO, S.J. SINGER e I.C. WELLS, 1949 — Sickle cell anemia, a molecular disease. Science *110* (2865): 543-548.

PAULING, L. e R.B. COREY, 1953 — Nature 171: 346; Proc. Natl. Acad. Sci. *39:* 84.

SCHRADER, F., 1953 — Mitosis, 2nd. ed., Columbia Univ. Press. N.Y., p. 50.

SCHRÖDINGER, E., 1945 — What is life? The Cambridge University Press. U.K.

SPENCER, H., 1850 — Social Statics, Osnabrück.

———, 1852 — The Developmental Hypothesis, Osnabrück.

STENT, G.S., 1968 — That was the molecular biology that was. Science *160:* 390-395.

STURTEVANT, A.H. e G.W. BEADLE, 1962 — An Introduction to Genetics, Dover Publ., N.Y. chapter XXIII: Historical.

TIMOFEEF-RASSOVSKY, N.W., K.G. ZIMMER e MAX DELBRÜK, 1935 — Über die Natur den Genmutation und der Genstruktur. Nachr. Akad. Wiss. Goettingen Math. Physik Kl., n.° 13, Fachgruppe VI, *1:* 223.

WATSON, J.D., 1962 — The involvement of RNA in the synthesis of proteins. *In* «Nobel Lectures in Molecular Biology 1933-1975». Elsevier, N.Y. 1977, p. 179-202.

———, 1968 — The Double Helix, Signet, New American Library, N.Y.

WATSON, J.D. e F.H.C. CRICK, 1953 a — Molecular struture of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature *171:* 737-738.

———, 1953 b — Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. Nature *171:* 964-967.

———, 1953 c — The structure of DNA. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. *18:* 123-131.

WATSON, J.D. e J. TOOZE, 1981 — The DNA Story. A Documentary History of Gene Cloning. Freeman and Company, San Francisco.

WEISSMANN, A., 1892 — Essais sur l'Hérédité, trad. francesa, Paris.

WILKINS, M.H.F., 1956 — Physical studies of the molecular structure of deoxyribose nucleic acid and nucleoprotein. Cold Spring Harbor Symp. on Quantitative Biology *21*. 75-87.

BROTÉRIA-GENÉTICA, Lisboa, V (LXXX), 37-47 (1984)

AVANÇO NO MELHORAMENTO DE TRITICALE

F. Bagulho

Estação Nacional de Melhoramento de Plantas — Elvas

SUMMARY

The potential desplayed by triticale has prompted us to provide information to Portuguese agriculture on 5 varieties (Armadillo, Arabian, Bacum, Beagle and Mapache), all of CIMMYT origin.

Work with triticale at the National Plant Breeding Station (Estação Nacional de Melhoramento de Plantas, ENPM) is a dinamic one, based on the introduction of exotic germplasm, mostly of mexican origin. The best genotypes are selected to study adaptation and also for artificial crosses.

The characteristics of Beagle with a complete set of chromosomes derived from rye, and those of Armadillo possessing one or more pairs of chromosomes of genome R substituted by chromosomes of genome D, have been favourable in the production of interesting combining habilities.

The results achieved at Elvas. based on crosses Armadillo × Beagle, reveal good potentials of this new germplasm, in wich several promising lines have been selected already.

With a yield capacity in the order of 10 to 35 % above control, plus an attractive grain attaining values up to 79 kg/hl (variety Muscox, 1981), such genotypes exibit considerable progress in some important traits.

On the other hand, some unfavourable characters can be pointed out: plants too tall and prone to loding, and generally speaking a susceptibility to Cephus greater than that of the parent species.

INTRODUÇÃO

As potencialidades crescentes reveladas pelos triticales que, anualmente, são incluídos nos ensaios da ENMP, implicam a constante ampliação e a contínua dinamização do programa de melhoramento.

Comunicação apresentada à III Reunião Portuguesa Sobre Triticales, realizada na Estação Agronómica Nacional, Oeiras. Outubro de 1981.

Divulgadas as primeiras variedades com interesse cultural (BARRADAS, 1979) e obtida a sua rápida aceitação pela lavoura portuguesa, compete aos melhoradores produzir materiais que confirmem as esperanças depositadas no triticale. Para isso, procuram organizar-se esquemas de trabalho visando ampliar a variação genética e possibilitar a existência de novas combinações de genes.

MATERIAL E MÉTODOS

O material original sobre o qual incidiu o nosso estudo proveio do CIMMYT. Consta de populações F_2, linhas avançadas e variedades algumas das quais se encontram já em grande cultura.

As linhas segregantes estiveram sujeitas ao processo normal de selecção em uso no Departamento, para todos os cereais, que consiste numa solução de compromisso entre o método das populações e o da selecção genealógica.

Da F_2 à F_4 efectuámos, no campo, severa selecção, incidindo sobre a planta como unidade e visando detectar indivíduos com acentuado valor agrícola. No laboratório, o grão de cada planta foi cuidadosamente seleccionado pelo aspecto, por observação visual, atendendo-se sobretudo ao enrugamento do endosperma, após o que a semente das plantas eleitas, na respectiva população, foi misturada e passou a constituir uma parcela.

Na F_5 as plantas analisadas designam-se por genearcas e o grão obtido em cada uma delas ocupa um pequeno talhão. O desenvolvimento destes talhões foi atentamente seguido e estudado o seu comportamento. A partir daqui iniciaram-se ensaios, com os genótipos eleitos, introduzindo-se variedades conhecidas, como testemunhas, e procedendo-se a determinações da capacidade produtiva, além do registo de importantes parâmetros de natureza agronómica. Sempre que possível, a apreciação final ficou acrescida com informações de carácter tecnológico, pela realização de ensaios nos laboratórios da EPAC.

Depois de um ano de microensaios e três anos de ensaios de produção, procedeu-se a estudos de adaptação em vários pontos do País, com as linhas aprovadas na fase final da experimentação em Elvas. Os materiais eleitos nestes ensaios são candidatos ao Catálogo Nacional de Variedades, pelo que passam a figurar nos respectivos testes.

PRINCIPAIS FONTES DE VARIAÇÃO GENÉTICA

Dos estudos realizados em Elvas (BARRADAS, 1979) e de ensaios de adaptação levados a cabo em diversas regiões de Portugal (CIDRAES e GUSMÃO, 1979), ressalta o bom comportamento das cultivares Arabian, Bacum,

Mapache e Beagle, motivo porque a sua divulgação junto dos agricultores tem sido aconselhada.

As três primeiras cultivares têm grandes afinidades genéticas, visto resultarem de cruzamentos entre idênticos progenitores. Nos três casos:

Maya II×Armadillo

Arabian Bacum Mapache

Por sua vez, Beagle tem uma origem incerta, a qual se poderá exprimir pelo cruzamento entre progenitores desconhecidos, provindo um deles de uma população de triticales da Universidade de Manitoba (UM «S») e o outro de um «bulk» indescriminado de triticales.

Indivíduos UM «S»×Triticale de «bulk»

Beagle

Trata-se, no entanto, de triticales secundários hexaplóides, constituindo dois tipos com características bem marcadas, genética e morfologicamente diferenciados.

As descendências de Armadillo têm um fenótipo que se aproxima um pouco do trigo mole. Por sua vez, Beagle apresenta um aspecto mais semelhante ao do centeio.

Armadillo foi o ponto de partida para a obtenção de triticales com superior interesse agronómico, pelo que tem tido grande impacto no melhoramento deste cereal. A sua origem pode atribuir-se a um acidente feliz, resultante de um cruzamento espontâneo, entre triticales e um trigo anão mexicano. Deste modo surgiu um triticale com um par de cromossomas do genómio R substituído por um par de cromossomas do genómio D.

Quanto a Beagle, o seu estudo citogenético revelou a presença da guarnição completa de cromossomas do centeio.

Na opinião de MERKER (1975, cit. MÜNTZING, 1979) há uma forte correlação entre a composição cromossómica e o aspecto morfológico das plantas. Em geral, os tipos mais semelhantes ao trigo possuem menor número de cromossomas do centeio.

Para ZILLINSKY (1979), o melhoramento genético da fertilidade, rigidez de palha, altura, tipo de grão e insensibilidade ao fotoperiodismo teve maior e mais rápido sucesso nas combinações com genes de Armadillo, isto é, com a substituição de um ou mais pares de cromossomas do centeio. Porém, os

materiais portadores do bloco de cromossomas do centeio, ou seja, do tipo Beagle, apresentam melhor adaptação a uma mais vasta gama de condições ambientais.

Um outro passo importante para a produção de melhores genótipos parece resultar de cruzamentos entre selecções derivadas de Armadillo e de Beagle. Na realidade, começam a surgir linhas avançadas que representam segregações transgressivas relativamente a ambos os progenitores.

RESULTADOS OBSERVADOS

Dispomos de resultados de três anos consecutivos de ensaios de produção com este novo germoplasma (1978/79 a 1980/81), ensaios realizados em Elvas, na ENMP (Quadro I).

Os referidos anos agrícolas apresentam condições climatéricas bastante diferenciadas, sobretudo o primeiro e o último, a possibilitar boa informação sobre a adaptabilidade dos materiais em estudo. Assim, 1978/79 teve um Inverno que se pode classificar como quente e chuvoso (Sardinha de Oliveira, 1961), com 503 mm de precipitação; enquanto idêntico período de 1980/81 pode considerar-se como temperado-seco, com um registo de chuva de apenas 35 mm. Também a Primavera foi substancialmente diferente, seca no primeiro (7 mm de chuva em Abril) e chuvosa no último (com 86 mm).

Quanto à capacidade produtiva, observa-se que tem havido nítida superioridade de algumas das selecções com genes de Armadillo e Beagle. Esta superioridade, situada em valores entre 10 e 35 % das testemunhas, revela as potencialidades deste germoplasma (Esquema 1). Parece-nos de salientar o genótipo Borba 1, eleito na combinação Bgl × M_2A — Cin, que nos dois últimos anos produziu, respectivamente, mais 25 e 35 % que Bacum, a variedade melhor adaptada à região onde é efectuada a experiência. Por outro lado, esta linha apresenta o rendimento unitário substancialmente mais elevado registado na presente colheita em idênticos ensaios de produção, quer de trigo, quer de triticale. Trata-se de ensaios com quatro repetições e talhões de 4,05 m^2, onde a produção observada foi de 6520 kg/ha.

O Ensaio Internacional (ITYN), organizado pelo CIMMYT, é uma experiência onde colhemos sempre preciosas informações. Inclue cerca de 20 triticales de várias origens e encontra-se semeado em diferentes locais dos quatro continentes.

A presença no referido ensaio de combinações Armadillo × Beagle evidencia a elevada produtividade destes materiais e o seu bom comportamento nas mais diversas condições culturais (CIMMYT, 1981). Em Elvas, têm mesmo ocupado posição cimeira. Por duas vezes constituiram o genótipo mais pro-

QUADRO I

Resultados observados em ensaios de produção

Ano	Linha	Rendimento unitário		Peso específico Kg/hl	Peso de 1000 grãos g	N.º de dias Sement.-Espig.	Altura cm	Tipo de ensaio
		Kg/ha	%					
1978/79	Ram «S»	5297	102	69,52	52,18	133	120	10.º ITYN
	M_2A — Bgl	6243	120	72,45	43,36	124	111	
	T — Beagle	5730	110	69,52	51,04	133	128	
	T — Bacum	5203	100	73,18	48,07	118	99	
1979/80	IA-M_2A × Pi62/Bgl «S»	2726	91	72,70	38,73	133	95	11.º ITYN
	Ram «S»	3367	113	69,50	43,46	132	113	
	Beaguelita «S»	3558	119	71,65	43,05	132	111	
	Bgl «S» × M_2A-Cin = Borba 1	3697	124	74,10	44,58	133	120	
	T — Beagle	2628	88	70,60	43,82	132	116	
	T — Bacum	2983	100	74,45	38,60	128	107	
1980/81	Muscox «S»	3089	86	79,10	43,14	131	117	12.º ITYN
	Ram «S»	3922	109	73,50	45,97	125	104	
	T — Beagle	2664	74	70,45	42,65	127	105	
	T — Bacum	3601	100	75,70	44,18	123	101	
	Bgl «S» × M_2A-Cin = Borba 1	6075	126	75,90	44,79	130	118	Ens. Prep. 2.º ano
	Bgl «S» × M_2A-Cin = Borba 2	6520	135	76,30	44,84	130	114	
	T — Bacum	4828	100	74,05	34,44	123	90	

QUADRO II

Linhas de triticale com peso do hectolitro superior a 77 Kg/hl em 1980-81

Genótipos	Peso do hectolitro Kg/hl	Produtividade em % de Bacum	Obs.
PFT 765	79,45	67	combinação Arm×Bgl
Muscox «S»	79,10	86	combinação Arm×Bgl
Topo 120	78,25	120	
Teddy «S»	77,95	62	
FS 1975 — Lnc	77,95	109	
PF 7717	77,65	101	
Tigre	77,55	81	
Juanillo 97	77,05	119	
UP 301-Spy×Rm «S»/Abn «S»	77,05	105	
M_2A	77,00	121	

dutivo e em 1981 uma destas linhas situou-se no terceiro lugar, não muito longe do melhor triticale do ensaio e acima dos trigos.

Outro aspecto extremamente positivo deste novo material liga-se ao peso do hectolitro, até agora o principal ponto fraco do triticale e que reflecte a tradicional má conformação do grão. As linhas recebidas no ensaio de 1978/79 manifestaram peso do hectolitro inferior, ou igual, a Bacum, o mesmo sucedendo no ano imediato. Porém, nas seiecções mais modernas observou-se já grão mais semelhante ao do trigo. Isto torna-se evidente na variedade Muscox, portadora de grão muito atractivo e com 79,10 kg/hl. Paralelamente, outros genótipos são também superiores à principal testemunha.

No entanto, é conveniente destacar que a colheita de 1981 revelou, para os cereais, pesos de hectolitro acima do habitual. Por exemplo, o de Bacum foi de 75,70 kg/hl, que corresponde a cerca de 3 kg/hl, mais do que a média de quatro anos (1978-1981). Já Beagle evidencia maior regularidade na conformação do grão, manifestando pouca tendência para variar ao longo dos anos, pelo que este peso está, normalmente, ao nível dos 70 kg/hl.

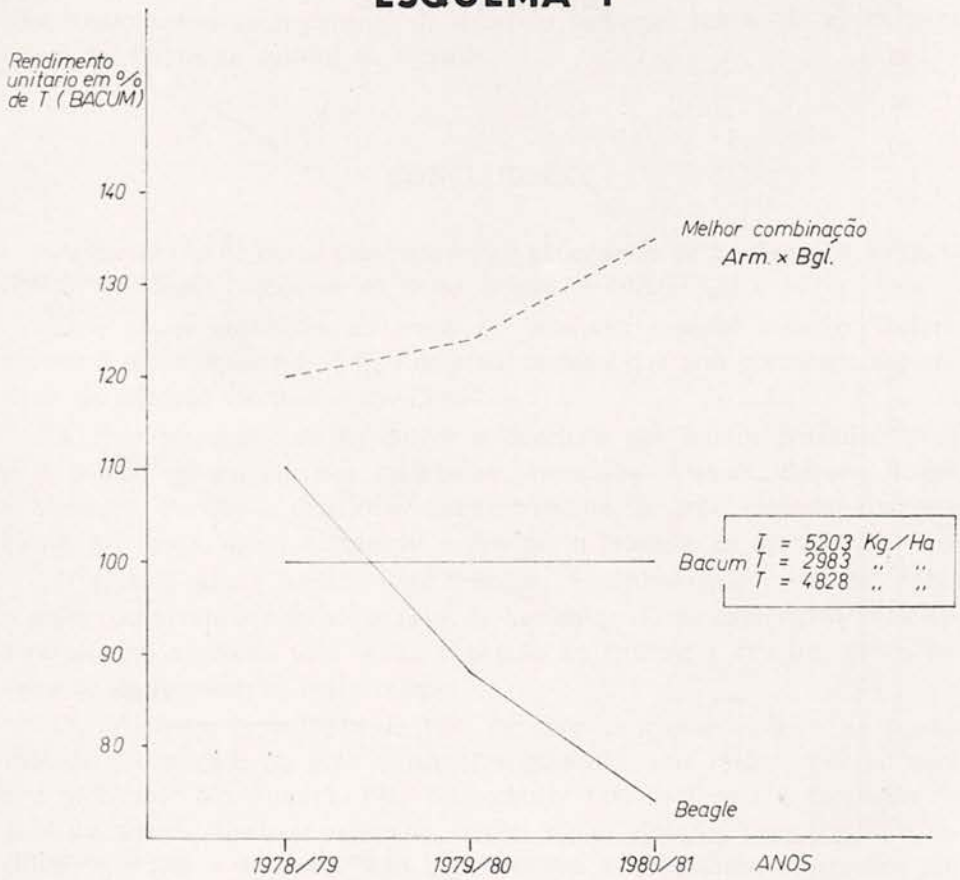
Apesar do progresso alcançado, regista-se ainda uma marcada diferença entre os triticales com melhor grão e os principais trigos cultivados. A comparação entre os pesos do hectolitro de Anza e alguns triticales (Esquema 2), prova, porém, a necessidade do melhoramento de tal carácter.

Quase todo o material incluído nos ensaios de produção do Departamento de Cereais, em 1981, possui o endosperma muito enrugado. tendo-se encontrado

apenas 19 linhas com valores acima dos 76 kg/hl, o que corresponde a 4 % dos genótipos em estudo.

No entanto, o peso do grão mantém-se em bom nível, como é normal na maioria dos triticales que temos experimentado, onde grande parte dos genótipos evidencia, quanto a este carácter, superioridade sobre os trigos moles. Alguma flutuação ao longo dos anos revela, provavelmente, interacção genótipoxambiente.

ESQUEMA 1

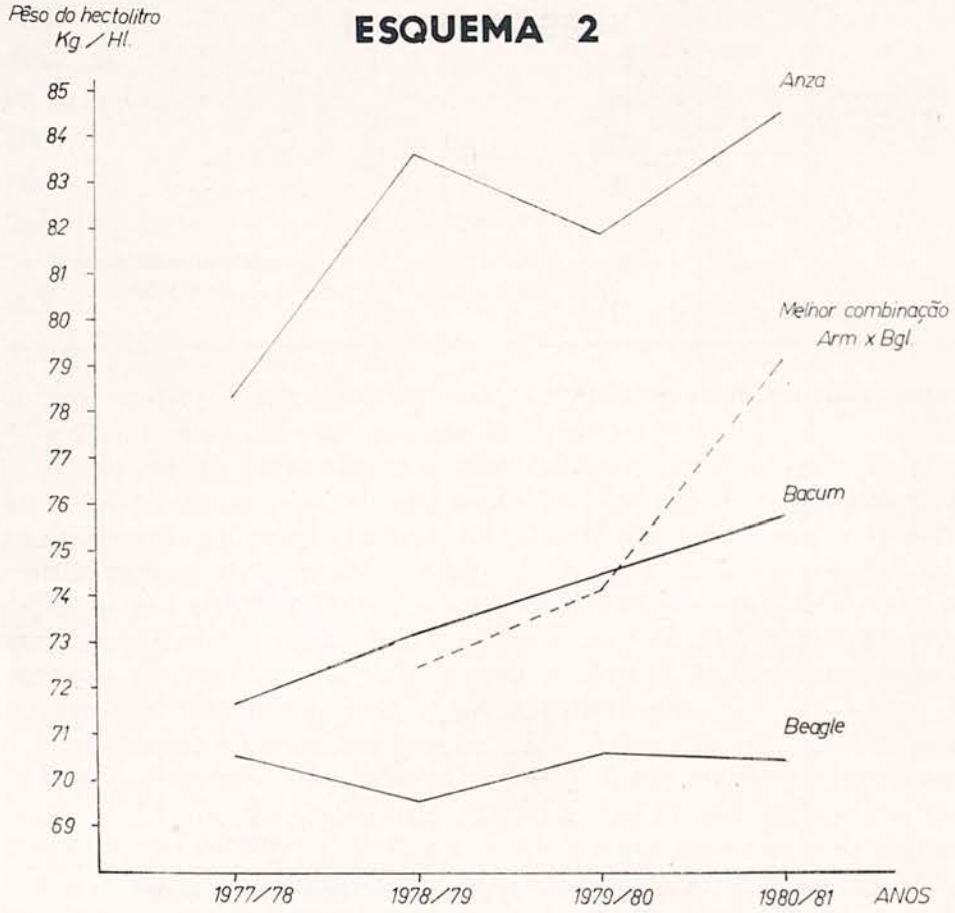


Esquema 1 — Rendimento unitário de linhas Armadillo × Beagle em confronto com os progenitores.

O ciclo vegetativo, outro dos pontos essenciais a atender no nosso programa de melhoramento (BAGULHO, 1979), apresenta variação com possibilidade de se seleccionarem tipos mais tardios. Observámos linhas com o ciclo

de Bacum, demasiado precoces para nós, e outras como Beagle, ou espigando alguns dias depois, o que consideramos mais conveniente para Portugal.

Um facto bastante desfavorável destes novos triticales encontrámo-lo na altura da palha. Os genótipos com maior interesse cultural têm estatura alta, o que pode provocar problemas graves com a acama. Assim, Bacum apresenta altura média de 102 cm, com alguma tendência para acamar. Beagle é mais alto, com 116 cm, possuindo palha que, igualmente, é pouco rígida.



Esquema 2 — Pesos do hectolitro de linhas Armadillo × Beagle, dos progenitores e do trigo Anza.

A acumulação nos híbridos de Armadillo e Beagle de genes para estatura alta facilita produção e selecção não intencional de linhas com altura superior a ambos chegando aos 120 cm. Nestas condições, em especial nos solos

férteis, podem agravar-se os acidentes com a acama, pelo que se impõe isolar indivíduos portadores de palha mais curta.

Os genótipos derivados de Armadillo e Beagle mostraram também, em geral, maior susceptibilidade ao *Cephus* do que a dos progenitores originais. Resultados de 1981, em que a actividade do insecto foi particularmente intensa, revelaram que a percentagem de espigas partidas foi superior no novo germoplasma. A forte acção destrutiva deste parasita sobre a planta de triticale aponta para a necessidade da resistência a este carácter. Aliás, os prejuízos causados pelo *Cephus* assumem, nesta região, por vezes, grandes proporções, como temos conhecimento do ocorrido nalgumas searas de agricultores que se iniciaram na cultura do triticale.

CONCLUSÕES

A introdução de novas combinações de genes serve de base para se alcançarem os principais objectivos do nosso programa (BAGULHO, 1979).

Dois destes objectivos merecem, de imediato, especial atenção. Referimo-nos à produtividade e ao tipo de grão, factores que têm prioridade nos critérios de selecção efectuados em Elvas.

A elevada capacidade produtiva evidenciada por muitos triticales levou já à grande cultura algumas variedades :Armadillo, Arabian, Bacum, Beagle e Mapache. Porém, o deficiente desenvolvimento do grão constitui um problema, até agora, difícil de superar e diminue o interesse do agricultor.

O aspecto pouco atractivo da semente, excessivamente enrugada, reduz o poder germinativo e baixa o peso do hectolitro. Estas características desfavoráveis têm impedido uma maior expansão do triticale e revelam pouco sucesso do melhoramento neste campo.

Os resultados da colheita de 1981 denotam progresso evidente na produtividade e qualidade do grão e parecem prometer uma melhor solução para este problema. No entanto, 1981 foi também favorável para a formação do grão do cereais, tendo-se registado valores muito elevados para o peso específico de trigos e triticales. Isto significa que os resultados observados nos triticales têm de ser encarados com ponderação.

ZILLINSKY (1974) admite que o desenvolvimento da semente de triticale é mais sensível às influências do meio ambiente do que nas espécies progenitoras .Ensaios realizados no México, em 1979, confirmam que alguns genótipos produzem, normalmente, bom grão, com peso do hectolitro elevado, quando cultivados em condições favoráveis. Em situações ambientais difíceis, observa-se que o peso do hectolitro diminue claramente (CIMMYT, 1979).

Segundo GUSTAFSON (1974), a estreita base genética de que por vezes o melhorador dispõe é apenas um dos factores que tem reduzido as possibilidades de se obterem linhas com acentuado valor agrícola. Por seu turno, muitos melhoradores consideram a diversificação do germoplasma como uma medida extremamente importante para se alcançar significativo progresso no melhoramento do triticale. MÜNTZING (1979) salienta mesmo que, nalguns casos, pode constituir a chave para o futuro deste cereal.

A reunião de genes de Armadillo e Beagle serve como exemplo de combinações transgressivas positivas entre triticales geneticamente bastante diferentes, em cujas descendências foi possível isolar plantas superiores aos genitores.

Na ENMP, nunca se tinham verificado, como agora aconteceu, pesagens, para o triticale, acima de 76 kg/hl, e grão cheio, semelhante ao trigo.

Parece-nos ainda de assinalar a existência de novos genótipos que, além de grão bem conformado, exibem produtividade superior aos padrões (trigos e triticales). Muito deste material deriva de germoplasma diversificado, obtido à custa de cruzamentos complexos, envolvendo progenitores afastados.

Do aproveitamento de todas estas potencialidades depende a confirmação das previsões do cientista responsável pelo primeiro programa de melhoramento de triticale, o canadiano L. N. SHEBESKI. Este Cientista admitiu que, nos próximos anos, os rendimentos do triticale aumentarão mais rapidamente do que os do trigo. Então, o triticale começará e competir seriamente com o trigo mole, como um dos alimentos mais importantes do Mundo (SHEBESKI, 1974).

Aliás, o rápido crescimento da área cultivada com triticales, nos últimos três anos, passando de 364 000 ha, em 1979 (CIMMYT, 1979), para um milhão de hectares em 1981 (CIMMYT, 1981), dá bem a ideia do interesse que a sua cultura está a despertar, em especial nas zonas mais pobres da Terra e parece vir a encaminhar-se para confirmar tais previsões optimistas.

BIBLIOGRAFIA

BAGULHO, F. — Dez anos de trabalho no melhoramento de triticales na ENMP. *Melhoramento* 27, 129-139, 1982.

BARRADAS, M.T. — Algumas características de quatro cultivares de triticale a propôr à lavoura. *Melhoramento* 27, 141-159, 1982.

CIDRAES, A.G. e GUSMÃO, L. — Adaptação de triticales em Portugal. I — Comportamento das linhas e variedades em ensaio no triénio 1976/77 a 1978/79. *Melhoramento* 27, 161-201, 1982.

CIMMYT — Report on wheat improvement, 1979. El Batan, México, 1982.

CIMMYT — Results of the 10th Intern. Triticale Yield Nursery (ITYN) 1978-79. El Batan, México, 1982.

CIMMYT — Review, 1981. El Batan, México, 1982.

GUSTAFSON, J. PERRY — Production of triticale germplasm. *Res. Ens. Simp. Int.* El Batan, México: 227-233, 1974.

MÜNTZING, A. — *Triticale. Results and problems.* Fortschitte der Pflanzenzüchtung. H 10. Berlin, Hamburg: Parey, 1979

SARDINHA DE OLIVEIRA, A.J. — O tempo e a produção unitária do trigo. *Lavoura Portuguesa,* 7-8, 1961.

SHEBESKI, L. H. — Future role of triticales in agriculture. *Res. Ens. Sim. Int.* El Batan, México: 247-250, 1974.

ZILLINSKI, F.J. — Improving seed formation in triticale. *Res. Ens. Simp. Int.* El Batan, México, 1974.

ZILLINSKI, F.J. — The influence of chromosome substituition on some agronomic characteristics of hexaploid triticale. *Proc. Eucarpia Meet. Cer. Sect. Triticale,* Radzików, Poland, 1979.

BROTÉRIA-GENÉTICA, Lisboa, V (LXXX), 49-91 (1984)

SUR L'ORIGINE DES FORMES POLYPLOÏDES CHEZ L'AGRÉGAT DU *RUMEX ACETOSELLA*

Abílio Fernandes

Institut Botanique de l'Université de Coimbra *

SUMMARY

Polyploidy is very frequent in the taxa of the Rumex acetosella aggregate growing in Portugal, as shown by the existence of a polyploid series in R. tenuifolius (Wallr.) Á. Löve, constituted by the degrees 2x, 4x, 6x and 8x, and by the fact that R. acetosella L. sensu str. emend. Á. Löve is a hexaploid while R. australis (Willk.) A. Fernandes is an octoploid (all with x=7).

The study of a great deal of male herbarium specimens allowed us to find, in each degree of polyploidy, the following types of plants according to the kinds and percentages of pollen grains produced: a) small normal reduced grains (size 1); b) as in a), but bearing a very low percentage of giant intermediate grains (size 2); c) grains of size 1 and 2 in percentages ± equal; d) as in c), but with a very high percentage of size 2; e) a low amount of size 1, with a high percentage of size 2 and a lower of giant more voluminous grains (size 3); f) as in e), but without size 1; g) a consistently low percentage of size 1, with an intermediate amount of size 2 and a higher percentage of size 3; h) imperfect pollen grains only (we must remark that in the types a-g, a lower or higher percentage of imperfect grains can be present).

In acordance with the observations of LEVAN (1936) in Allium and SWIETLINSKA (1960) and SWIETLINSKA & ZUK (1965) in hybrids of Rumex, we think that the giants grains of size 2 result from the blockade of the second meiotic division, this blockade leading to the formation of dyades with the somatic chromosome number (unreduced pollen grains), whereas those of the size 3 are the result of the blockade of the first meio-

* Boursier de l'Institut National de la Recherche Scientifique (I. N. I. C.) au Centre de Phytosystématique et Phytoécologie, EcC2, de l'Université de Coimbra.

Comunication présentée aux XIX «Jornadas de Genética Luso-Espanholas» tenues à Coimbra du 20 au 22 Septembre, 1983. Un résumé a paru dans les «Programa e Resumos das Jornadas» (pag. 45 et 46, 1983).

tic division that leads to the formation of monades with a chromosome number double from that of the somatic one (twice unreduced pollen grains).

As, according to the observations of ZUK (1963) in the hybrid R. arilifolius x thyrsiflorus, the formation of giant pollen grains occurs also in the female side, we conlude that the high incidence of polyploidy in the Rumex acetosella complex must be attributed to the frequent formation of unreduced and twice unreduced male and female gametes. As the taxa of this group are dioicous, the polyploids are obviously more or less allopolyploids.

The fact that hexaploid plants produced by crossing unreduced with reduced gametes originated by a tetraploid (28 + 14 = 42) also produces unreduced pollen grains seems tho show that the capacity to originate unreduced (giant) pollen grains is genetically controlled.

RÉSUMÉ

Des formes polyploïdes sont assez fréquentes au Portugal chez les taxa de l'agrégat du R. acetosella. En effet, on trouve chez R. tenuifolius (Wallr.) Á. Löve une série polyploïde constituée par les degrés 2x, 4x, 6x et 8x, tandis que R. acetosella L. sensu str. emend. Á. Löve est hexaploïde et R. australis (Willk.) A. Fernandes octoploïde. L'examen du pollen de spécimens d'herbier nous a amené a reconnaître, chez chacun de ces taxa, la formation, outre des grains normaux et avortés, d'autres géants moins volumineux (grains non réduits à nombre somatique des chromosomes) et d'autres aussi géants encore plus volumineux (grains doublement non réduits à nombre double du somatique), les premiers étant en général les plus fréquents. D'accord avec LEVAN (1936), SWIETLINSKA (1960) et SWIETLINSKA & ZUK (1965), les grains géants du premier type résultent du blocage de la deuxième division de la méiose, qui a conduit à la formations de dyades, chacune desquelles se transforme dans un grain non réduit. Les grains géants plus volumineux résulteront du blocage de la première division, ce qui occasionne la formation de monades, qui se convertent en grains de pollen doubblement non réduits, c'est-à-dire contenant le nombre des chromosomes double de celui du nombre somatique. Il est évident que, dans le premier cas, chaque chromosome se dédouble en deux chromatides et que, dans le second, chacun des bivalents se dédouble en quatre, qui deviennent autant de chromosomes.

Des arguments sont présentés en faveur de l'idée de que la formation des grains géants et par conséquent le blocage de la méiose est déterminé génétiquement: formation de grains de pollen géants non réduits par des hexaploïdes issus de tétraploïdes (28+14=42) possédant la même capacité. Nous avons constaté que, comme SWIETLINSKA l'a remarqué, les plantes dans lesquelles le blocage a lieu subissent une différenciation dans les générations suivantes, qui amène à la formation, dans la même plante, de bourgeons où le blocage s'accompli et d'autres où la méiose est régulière. À notre avis, ce phénomène est provoqué par l'hybridation avec d'autres races, laquelle se produit dans les conditions naturelles.

La fréquente occurrence de polyploïdes dans ce groupe est attribuée à la formation aussi fréquente de gamètes mâles et femelles une fois et deux fois non réduits.

INTRODUCTION

La détermination du diamètre moyen des grains du pollen dans des spécimens des taxa appartenant à l'agrégat du *Rumex acetosella* récoltés au Portugal — *R. tenuifolius* (Wallr.) Á. Löve, *R. angiocarpus* Murb., *R. acetosella* L. sensu str. emend. Á. Löve et *R. australis* (Willk.) A. Fernandes — nous a amené à reconnaître chez ce groupe l'existence de plusieurs formes polyploïdes depuis le degré 2x jusqu'à 8x. Dans ce travail, nous essayons à mettre en évidence le mécanisme au moyen duquel ces formes polyploïdes ont été engendrées.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

Nos observations ont été faites sur du matériel d'herbier dont les spécimens appartiennent aux herbiers de l'Institut Botanique de l'Université de Coimbra (COI), Institut Botanique de l'Université de Lisboa (LISU), Institut Botanique de l'Université du Porto (PO) et Station Agronomique Nationale (LISE) (1).

Dans le but de déterminer le diamètre moyen des grains du pollen, nous avons employé la technique suivante:

Des portions en règle terminales d'à peu près 4 cm de longueur de branches florifères possédant des fleurs bien développées étaient detachées des spécimens. Ensuite, elles étaient bouillies dans de l'eau pendant 2 à 4 minutes selon l'âge des échantillons (le temps plus long pour les exemplaires plus anciens). Après ce traitement, les anthères étaient détachées et mises dans une goutte de lacto-phénol (2) préalablement placée sur une lame porte-object.

Les anthères étaient ensuite dissociées à la loupe avec deux aiguilles et la plupart des fragments des parois étaint rétirés après la dissociation (quelques portions des parois étaient délibérement conservées pour éviter la compression et le possible écrasement des grains du pollen par la pression du couvre-object). Après l'application de la lamelle, les préparations étaient prêtes à être observées, ce que nous avons fait tout de suite dans le but d'éviter un possible gonflement des grains provoqué par le milieu de montage.

---

(1) Nous remercions vivement MM. les Directeurs de ces Institutions de l'amabilité du prêt de ce matériel qui a rendu possible ces recherches.

(2) La constitution du lacto-phénol employé est la suivante:

Acide phénique cristalisé	1 gr
Acide lactique	1 gr
Glycérine	2 gr
Eau distillée	1 gr

Des préparations des types suivants ont été employées, obtenues toujours de fleurs de la même branche d'une inflorescence: a) préparations mixtes contenant des anthères appartenant à plusieurs fleurs (2-4) voisines; b) préparations contenant toutes les anthères d'une même fleur; c) préparations contenant une seule anthère de chaque fleur. Les préparations du type b) ont été celles employées le plus souvent, puisque nous avons constaté que, en général, toutes les anthères d'une même fleur se comportaient d'une façon semblable.

Pour faire les déterminations des diamètres des grains de pollen, nous avons choisi des grains bien conformés à contour s'approchant le plus possible du circulaire. Les mesures ont été prises au moyen d'une oculaire micrométrique dans laquelle chaque division correspondait à 2,5 μm. Après les mensurations, le graphique de la variation était dressé pour chaque cas et la valeur du diamètre moyen calculée (voir les graphiques 1-33 à la fin du texte).

OBSERVATIONS

1. R. TENUIFOLIUS (WALLR.) Á. LÖVE

a. *Guarda, Serra da Marofa, Cristo Rei* (PO 9016).

Bien que correspondant aux caractères du *R. tenuifolius*, cette plante (Pl. I) présente une taille réduite haute de 6-12 cm, feuilles jusqu'à 1×0,1 cm, inflorescence longue de 1,5-7 cm, pédicelles longs de 0,5-1 mm, fleurs mâles hautes de 1-1,4 mm et 3,5 mm de diamètre, avec les tépales externes 1,5× ×0,5 mm et les internes 1,5×0.75 mm et anthères 1 mm longues.

L'étude du pollen de l'échantillon le plus petit de la feuille d'herbier nous a amené au résultat indiqué par le graphique n.° 1 ([3]).

D'autre part, nous avons constaté que 86,8 % du pollen de cette plante se montrait parfait et que des grains 3-colpés étaient les seuls qui existaient. Les trois grains appartenant à la classe de 25 μm sont probablement des grains géants à 14 chromosomes. Étant donné que *R. tenuifolius* était considéré jusqu'à présent comme un tétraploïde et que la taille du pollen indiquait que nous étions en face d'un diploïde, nous avons étudié un autre échantillon de la même feuille d'herbier. Les résultats obtenus sont montrés par le graphique n.° 2, qui confirme ceux de la première observation. Donc nous avons conclu que les plantes de cette localité étaient des diploïdes. Des grains à 25 μm ne sont apparus que dans la première observation.

([3]) Dans les abcisses de tous les graphiques les valeurs des diamètres des grains de pollen sont marquées (intervalle des classes 2,5 μm), tandis que les ordonnées montrent les fréquences. Les moyennes sont en général inscrites au-dedans des graphiques.

b. *Serra da Peneda, Lamas do Mouro* (PO 29 861).

Il s'agit, comme dans le cas antérieur, d'une plante de montagne, mais croissant plus au nord du Portugal. Elle ressemble celle de la Serra da Marofa, étant cependant plus vigoureuse (Pl. II).

Les résultats de l'observation de deux plantes de la même feuille d'herbier sont montrés par les graphiques n.os 3 et 4, qui mettent en évidence que les valeurs trouvées sont assez proches. D'accord avec HARRIS (1969), ces chiffres correspondent à ceux des tétraploïdes. Les plantes de cette récolte seront donc des tétraploïdes, ce qui est appuyé par le fait qu'elles sont plus vigoureuses que celles de la Serra da Marofa. Nous avons constaté aussi qu'elles, en outre du pollen 3-colpé, produisaint des grains 4-colpés, bien que dans un pourcentage assez bas (0,23 %).

c. *Vila Real, alentours de Montalegre (LISU P11306); Bragança, Serra de Rebordãos, A. Moller (COI); Bragança, Carrazeda de Ansiães, Foz Tua (PO 29853).*

Les graphiques n.os 5, 6 et 7 montrent les résultats des mesures effectuées chez ces trois spécimens. Il est à remarquer qu'il y a dans les districts de Vila Real et Bragança, des plantes petites et d'autres à taille plus élevée, comme par exemple celles de Carrazeda de Ansiães. Cependant, le pollen indique que toutes ces plantes sont des tétraploïdes. Les différences concernant la taille peuvent être en rapport avec les conditions édaphiques dans lesquelles les plantes croissent.

d. *Guarda, Vilar Formoso ad vias solo siliceo, P. Silva, F. Fontes & M. Silva 4921 (LISE 4703); Vilar Formoso, Vale Fundo (COI)*

Les plantes tétraploïdes de *R. tenuifolius* abondent dans la région de Vilar Formoso. L'étude du pollen d'une des plantes de la première feuille d'herbier ci-dessus mentionnée (échantillon situé dans la région inférieure, à gauche — Pl. III) nous a révélé des particularités intéressantes, ce qui nous a amené à l'étudier en détail. Le graphique n.º 8 met en évidence les résultats obtenus en employant une préparation mixte, c'est-à-dire une préparation contenant des anthères de quelques fleurs différentes, mais voisines dans la même branche de l'inflorescence. Comme on peut le constater, le graphique présente deux maximums, ce qui signifique qu'il y a des grains de deux types, un desquels moins volumineux et l'autre à taille plus grande (fig. 1).

Dans le graphique, la séparation entre les deux types coincide avec les classes de 25 et 27,5 μm, mais il est impossible de dire si tous les 22 grains à

25 μm appartiennent au premier type ou s'ils correspondent à un mélange des deux. En admettant la première hypothèse, les diamètres moyens sont 22,469 μm pour le premier type (pollen normal réduit des tétraploïdes) et 29,767 μm pour le deuxième (pollen géant une fois non réduit).

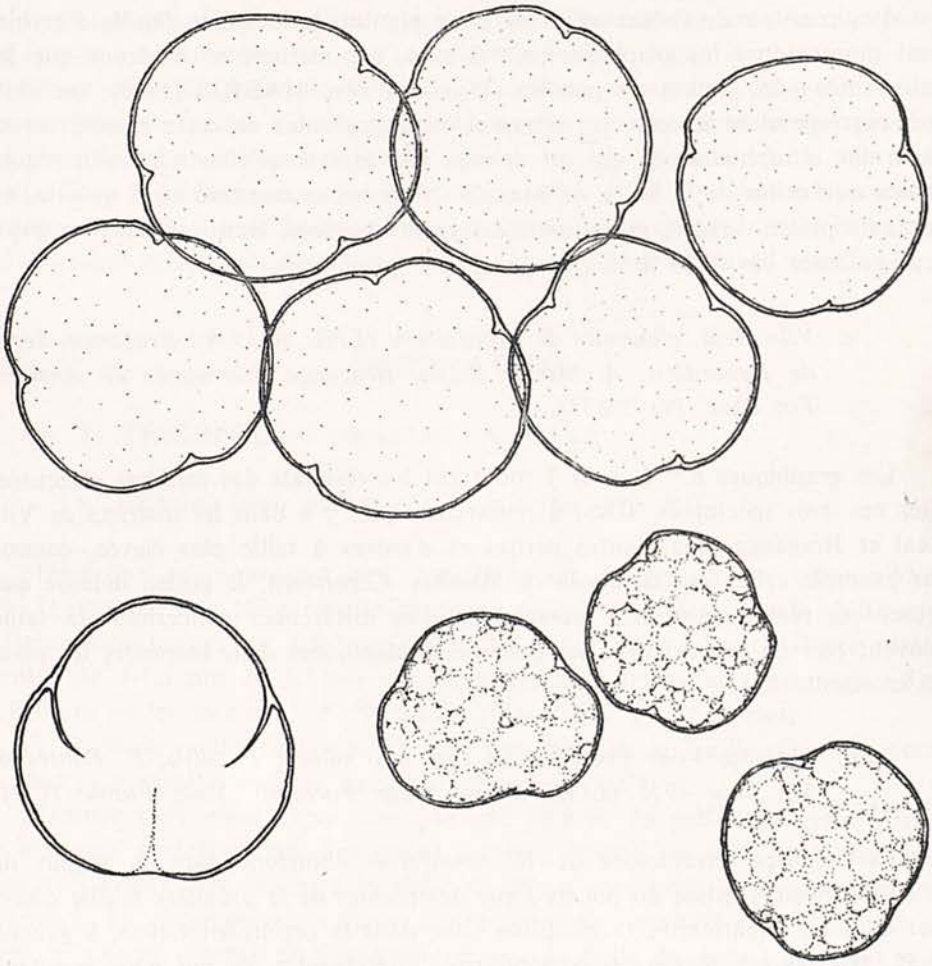


Fig. 1 — Représentation schématique des deux types de grains de pollen trouvés chez le spécimen *P. Silva, F. Fontes & M. Silva* 4921 (LISE): grains réduits à 14 chromosomes (les trois de la partie inférieure à droite) et grains non réduits à 28 chromosomes (tous les autres). Remarquer que tous les grains dessinés sont 3-colpés. × 1200.

L'observation de la même préparation nous a révélé qu'il y avait 43,76 % de grains plus pétits, 37,87 % de grains imparfaits et 18,37 % de grains géants. Ceux-ci se présentaient soit isolés, soit en groupes plus ou moins étendus. Par

le fait que les grains géants en groupes peuvent se distinguer facilement de ceux du premier type, nous avons déterminé leur diamètre moyen et nous avons abouti au graphique n.° 9, qui montre la moyenne de 28,783 μm. Ce chiffre est un peu inférieur à celui fourni par le graphique de l'ensemble (29,767 − −28,783 = 0.984 μm), ce qui veux dire que quelques-uns des 22 grains du graphique n.° 8 considerés comme des grains géants ne l'étaient pas. Il est à remarquer que le diamètre moyen des grains géants (28,783) s'accorde très bien avec la moyenne ($\bar{x}$ = 28,984 μm) que nous avons trouvée pour le pollen des formes octoploïdes (voir FERNANDES, 1983).

Finalement, nous devons ajouter que les grains normaux étaient 3-colpés et que parmi 150 géants nous n'avons trouvé que 2 tetra-colpés (1,3 %).

Le fait que dans la préparation mixte les grains géants apparaissaient en groupes nous a mené à penser que ces groupes pourraient correspondre au contenu total de quelques anthères. Dans le but d'éclaircir le problème, nous avons observé toutes les anthères d'une même fleur séparément, ainsi que toutes les anthères d'une même fleur ensemble et nous avons fait des observations de ce type dans beaucoup de fleurs. Au moyen de ces examens, nous avons constaté que toutes les anthères de la même fleur, c'est-à-dire correspondant au même bourgeon floral, se comportaient de la même façon, tandis que des anthères appartenant à des fleurs différentes pourraient se comporter de façons différentes. En général, nous pourrons dire que nous avons trouvé des fleurs des types suivants:

a) fleurs produisant du pollen normal (quelquefois avec un bas pourcentage de grains géants);

b) fleurs produisant du pollen géant (quelquefois avec un bas pourcentage de grains normaux);

c) fleurs produisant des grains imparfaits (avortés);

d) fleurs dans lesquelles les cellules-mères avortent.

Tous ces types de fleurs ont été trouvés dans la même branche de l'inflorescence à partir de laquelle la préparaton mixte a été obtenue.

L'étude d'une fleur du type *a)* nous a permis de dresser le graphique n.° 10, qui montre que le diamètre moyen du pollen (22,947 μm) correspond à celui d'un tétraploïde (on doit remarquer que ce chiffre s'approche considérablement de celui obtenu par l'étude de la préparation mixte (22,947 − 22,469 = 0,478 μm). D'autre part, l'étude d'une préparation d'une fleur du type *b)* nous a mené au graphique n.° 11, qui montre une moyenne de 28,816 μm, chiffre qui s'accorde très bien (28,816 − 28,783 = 0,033 μm) avec celui obtenu par l'étude des grains géants de la préparation mixte.

Étant donné que, comme nous l'avons remarqué, la valeur de la moyenne du diamètre de ces grains de pollen géants correspond à celle des plantes octoploïdes, il n'y a aucun doute qu'il s'agit de grains non réduits à 28 chromosomes. Par le fait que la plante de la feuille ci-dessus mentionée s'est révélée très intéressante, nous avons decidé de faire l'étude d'un autre échantillon (celui monté dans la région centrale — Pl.III). Dans ce but, nous avons choisi la partie terminale d'une branche de l'inflorescence de cette plante, qui a fourni 8 fleurs, prises le long de la branche en suivant de la base vers le haut.

Les résultats obtenus ont été les suivants:

Fleur 1 — Pollen vide et mal conformé
Fleur 2 — Pollen géant bien conformé
Fleur 3 — Pollen non géant bien conformé
Fleur 4 — Pollen avorté
Fleur 5 — Pollen avorté
Fleur 6 — Pollen avorté
Fleur 7 — Pollen avorté
Fleur 8 — Cellules-mères avortées.

La fleur n.° 3 nous a fourni le graphique n.° 12, qui montre une moyenne de 26,032 μm. Cependant, il est probable que les grains à 30 et à 32,5 μm, ainsi que d'autres à 36,25 μm (ceux-ci ont été exclus dans la construction du graphique), soient des grains géants. En mettant de côté les grains à 30 et à 32,5 μm, la moyenne descend à 25,649 μm, mais de quelque façon la valeur indique nettement que nous sommes en présence d'une plante hexaploïde.

La fleur n.° 2 nous a conduit au résultat montré par le graphique n.° 13, dont la moyenne montre qu'il s'agit de grains non réduits, la différence entre ceux-ci et les réduits étant 29,701 − 25,649 = 4,052 μm.

Tous ces faits montrent que la population dans laquelle les plantes ont été ramassées est une population mixte constituée par des tétra- et hexaploïdes. En outre, on constate que tant les tétraploïdes comme les hexaploïdes ont la capacité de produire des grains non réduits à 28 et à 42 chromosomes respectivement.

Les plantes de Vale Fundo (graph. n.° 14) se sont révélées comme des tétraploïdes, ne produisant pas des grains géants (diamètre moyen du pollen 22,851 μm).

e. *Environs de Porto, Areínho, Casimiro Barbosa (LISE 12473); Leiria, Pinhal do Urso, F. Loureiro (COI); Lisboa, Alhandra, A. R. Cunha (LISU P11329); Setúbal, pr. Alcácer do Sal, Tavares & Sobrinho (LISU P11302).*

Les spécimens ci-dessus mentionnés correspondent à des plantes croissant dans les régions du littoral (Nord, Centre et Sud du Portugal) ou voisines de la mer. Les trois premiers se ressemblent beaucoup par le fait qu'il s'agit de plantes grêles (Pl. IV), jusqu'à 17 cm hautes et à feuilles très étroites, presque filiformes, tandis que le dernier est constitué par une plante plus robuste, haute de 30 cm et à feuilles un peu plus larges. L'ensemble de ces spécimens peut donc se comparer à ceux des districts de Vila Real et Bragança où, comme nous l'avons remarqué, il y a aussi des plantes petites et d'autres à taille plus élevée. Les diamètres moyens du pollen de ces plantes, à l'exception de celle du Pinhal do Urso qui est femelle, sont montrés dans les graphiques n.ºs 15, 16 et 17, qui mettent en évidence que toutes ces plantes sont des tétraploïdes. Les graphiques montrent aussi que des grains géants ne se trouvent que dans l'échantillon d'Alhandra dans un pourcentage assez bas (1,1 %).

f. *Surrey, Lousley (LISU G60525 ex K)*

Cette feuille d'herbier (Pl. V) existant à LISU et contenant des plantes récoltées en Angletterre est constituée par 4 échantillons concordant tous très bien avec le *R. tenuifolius*. L'étude du pollen nous a permis de construire le graphique n.° 18, qui met en évidence que le diamètre moyen des grains correspond à celui d'un hexaploïde.

g. *Guarda, pr. Aldeia do Bispo ad viam versus Covilhã, P. Silva, F. Fontes & M. Silva 4886 (LISE); Guarda, Quinta do Prado, A. Ferdes s.n. (COI).*

Ces deux feuilles d'herbier se composent d'échantillons vigoureux jusqu'à 25 cm d'hauteur et à feuilles plus larges qu'ordinairement. Un des échantillons de la première feuille citée (Pl. VI) possède un rhizome long auquel s'attachent 4 rosettes rappelant ainsi quelques plantes de *R. acetosella* L. sensu str. emend. Á. Löve. Cependant, étant donné que, par l'aspect général et par les feuilles révolutées, cet échantillon, ainsi que les autres dépourvus de rhizome, correspondent plutôt à *R. tenuifolius* qu'à *R. acetosella,* nous croyons que nous sommes en présence de formes hexaploïdes de la première espèce. Le graphique n.° 19 indique la moyenne du diamètre des grains de pollen des plantes de la première localité (26,213 μm), tandis que cette valeur est plus bas chez les individus de la deuxième (24,900 μm).

h. *Guarda, Serra da Estrela, arredores da zona de descarga da Barragem da Lagoa Comprida, A. Marques 806 et 806 A (COI).*

Les échantillons de cette récolte tant mâles (Pl. VII) que femelles (Pl. VIII) sont de menues dimensions et ils se ressemblent beaucoup à ceux de la Serra da Marofa et de la Serra da Peneda. Nous avons tout d'abord examiné une préparation mixte et les mesures prises nous ont permis de construire le graphique n.° 20, qui montre nettement deux maximums. En admettant que tous les 38 grains de la classe (32,5 μm) appartiennent au premier maximum, 29,681 μm c'est la valeur qui correspond au diamètre moyen des grains moins volumineux. Comme ce chiffre se trouve au-dedans des limites de la variation des plantes octoploïdes (voir FERNANDES, 1983), on peut conclure que les plantes de cette localité présentent ce degré de polyploïdie. Comme il est probable que les 12 grains de pollen de la classe 35 μm appartiennent au deuxième maximum, celui-ci correspondra à des grains géants dont la moyenne est 37,583 μm.

Comme nous avons constaté que chez les plantes du Sabugal les dfférentes fleurs pourraient se comporter d'une manière différente, nous avons examiné des préparations correspondant à 20 fleurs de la même branche d'une inflorescence, contenant chacune les six anthères de chaque fleur. Le graphique n.° 21 a été construit avec les données fournies par une de ces fleurs et il montre l'existence de 3 maximuns, auxquels correspondent les moyennes probables de 28,920, 36.691 et 45,48 μm. Toutes les autres fleurs nous ont donné des résultats comparables à ceux rapportés par le graphique n.° 21 et nous n'avons trouvé aucune produisant seulement des grains correspondant à ceux des plantes octoploïdes.

Une fleur appartenant à une autre branche de l'inflorescence de la même plante nous a fourni les résultats mis en évidence par le graphique n.° 22. Il y a aussi 3 maximums, bien que le troisième soit peu marqué. Si nous admettons que, en ce qui concerne la classe 32,5 μm, 14 grains appartiennent au premier maximum et 13 au deuxième, les moyennes seront respectivement 29,631 et 35,885 pour ces maximums, tandis que pour le troisième est 44,166 μm, chiffres qui s'accordent avec ceux du graphique 21.

Une autre fleur d'un autre échantillon le la même feuille d'herbier nous a donné les résultats montrés par le graphique n.° 23. En supposant que les 22 grains de la classe 35 appartiennent au deuxième maximum, les moyennes correspondant au trois pics seront: 31,545, 35,043 et 49 μm. La première moyenne est très élevée, ce qui peut être dû au fait que quelques grains de la classe 32,5 appartiennent au deuxième pic. La troisième moyenne est aussi très élevée probablement car le nombre des cas est très bas.

Nous croyons que ces résultats révèlent le suivant: 1) toutes les anthères engendrent des grains normaux (réduits) et d'autres géants (non réduits); 2) les grains géants semblent être de deux types (une fois non réduits et deux fois non réduits); 3) le pourcentage de tous ces grains est variable dans les diverses fleurs.

La fig. 2 montre le contour de plusieurs grains géants avec l'indication de la valeur du diamètre em μm.

2. R. ANGIOCARPUS MURB. VAR. MULTIFIDUS (DC.) ROTHM. & P. SILVA

a. *Vila Real, Régua, in rupibus schistosis prope Bagauste, alt. 100 m, Rothmaler & P. Silva 15900 (COI ex LISE).*

Comme nous l'avons remarqué (FERNANDES, 1984), les plantes diploïdes sont assez rares au Portugal. Une plante de la feuille d'herbier citée ci-dessus (Pl. IX), nous a permis de construire le graphique n.° 24, qui met en évidence que la moyenne du diamètre du pollen est 20,247 μm. Le graphique montre aussi que la méiose chez cette plante découle avec beaucoup de régularité, puisque nous n'avons trouvé qu'un grain géant parmi les 202 examinés.

3. R. ACETOSELLA L. SENSU STR. EMEND. Á. LÖVE

Chez cette espèce hexaploïde nous avons trouvé des spécimens ne montrant pas des grains géants et d'autres les montrant dans un pourcentage peu élevé. Parmi les derniers, nous avons remarqué les suivants: Serra do Gerês, a norte dos Carris, 9-VI-1970, *Rozeira, Barreto, Costa & Serra* (PO 29856) (1 à 35 μm); Porto, arredores, VI-1883, *J. C. Ehrhard* s.n. (COI); Porto, Paranhos, 2-IV-1980, *José Gomes da Silva & Manuel d'Albuquerque* (PO 2260) (1 à 32,5 μm); Viseu, margem do rio Loba, 5-VIII-1944, *J. Castro* (PO 4161) (1 à 37,5 μm); Santarém, Muge, Vale do Inferno, 30-V-1934, *Luiz Vaz de Almada* 3570 (LISE) (2 à 30 μm); Portalegre, Arronches, Santa Eulália, estrada para Elvas, *Rozeira, Koepp & Costa* (PO 9010) (9 à 35 μm); etc.

Cependant, dans d'autres spécimens, les grains géants étaient plus fréquents et les cas suivants ont été etudiés plus en détail:

a. *Alentours de Porto, Lavra, Bouças, V-1909, Aroso s.n. (COI).*

Des observations ont été faites tout d'abord en employant des préparations mixtes obtenues de fleurs appartenant à deux rameaux différents de la même

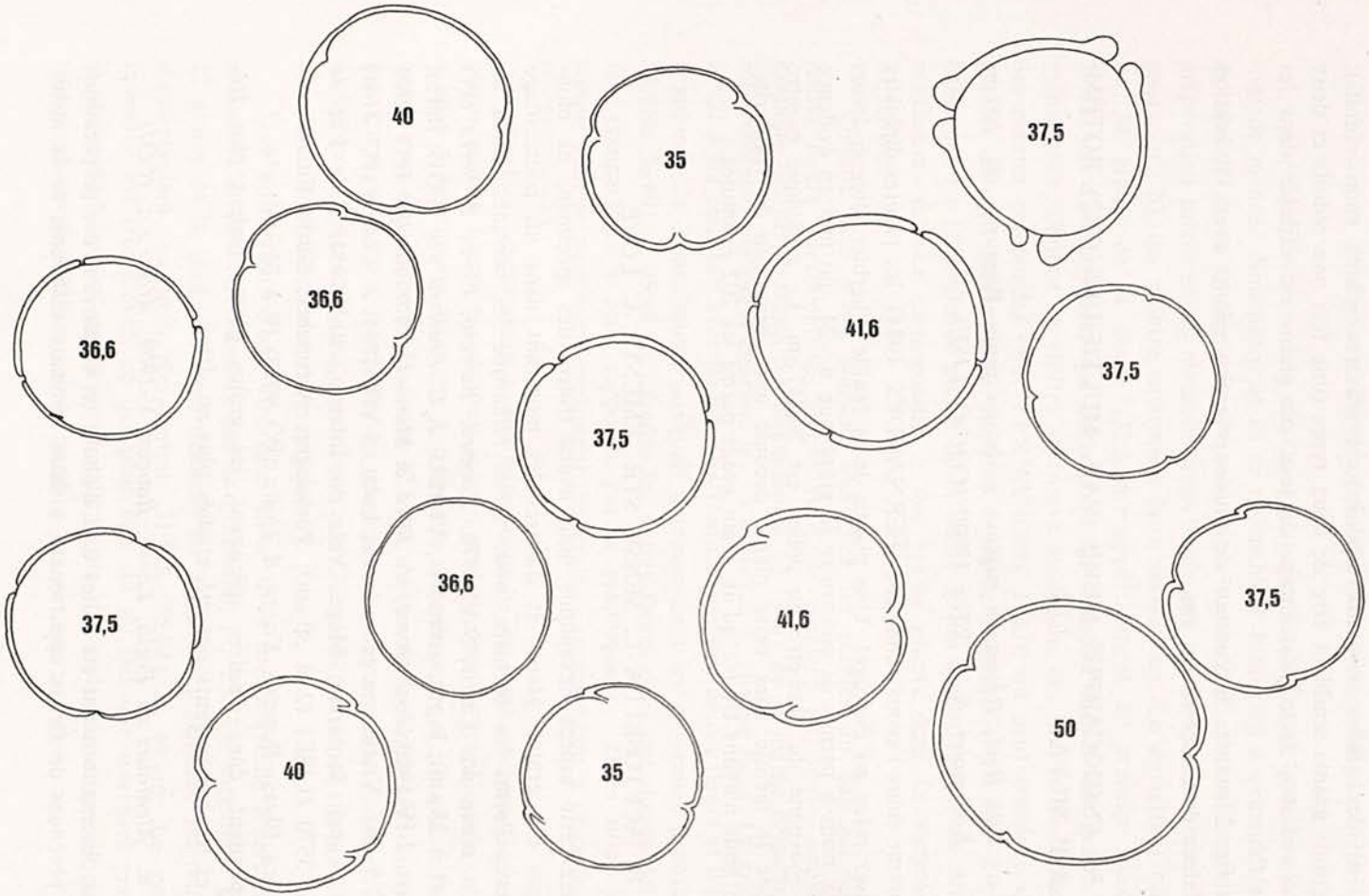


Fig. 2 — Grains de pollen géants produits par les plantes octoploïdes du spécimen *A. Marques* 806 ayant au dedans la valeur en μm de leur diamètre. Remarquer l'existence de deux classes, une correspondant aux valeurs 35-37,5 μm (une fois non réduits) et l'autre aux valeurs 40-50 μm (deux fois non réduits). Remarquer aussi qu'il y a des grains 3- et 4-colpés. × ca. 800.

inflorescence. La première préparation nous a permis de construire le graphique n.° 25, qui nous a amené à déterminer la moyenne de 29,463 μm, qui correspond plutôt à la valeur d'un octoploïde qu'à celle d'un hexaploïde. Toutefois, l'observation nous a montré des grains caractéristiques de l'hexaploïde et d'autres géants (fig. 3). En admettant que tous les grains des classes 30, 32,5, 35 et 37,5 μm sont géants, nous avons déterminé la moyenne de 26,554 μm pour les normaux et 31,228 μm pour les géants.

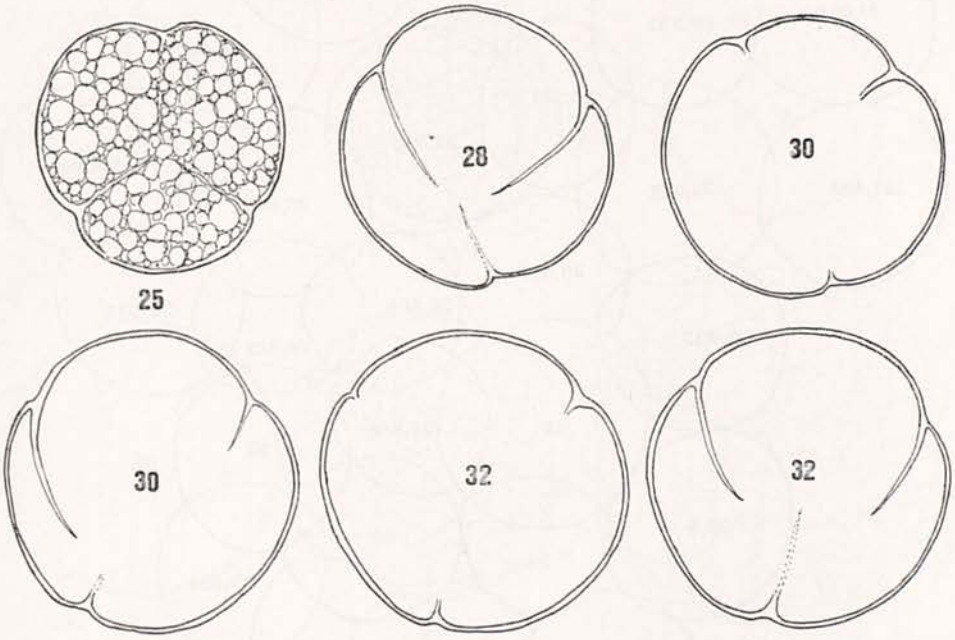


Fig. 3 — Grains de pollen du spécimen *Aroso* s. n. (COI) avec l'indication de leur diamètre em μm. Le premier de la file supérieure correspond à un grain normal (réduit) d'un hexaploïde, tandis que les autres sont géants une fois non réduits. × ca. 1330.

La deuxième préparation a fourni le graphique 26 qui a permis de calculer la moyenne de l'ensemble comme étant 26,756 μm. En considérant, comme dans le cas antérieur, que tous les grains à diamètre égal ou supérieur à 30 μm sont des grains géants, nous obtenons les moyennes de 25,315 μm pour les normaux et 31,081 μm pour les géants.

L'observation des préparations mixtes nous a porté donc à conclure que la plante en étude était un hexaploïde produisant des grains géants. Par ce fait et étant donné que nous avions rencontré des groupes (fig. 4) constitués par des grains géants avec quelques-uns normaux disséminés, nous avons pris la résolution d'étudier les fleurs séparément. En commençant par la région in-

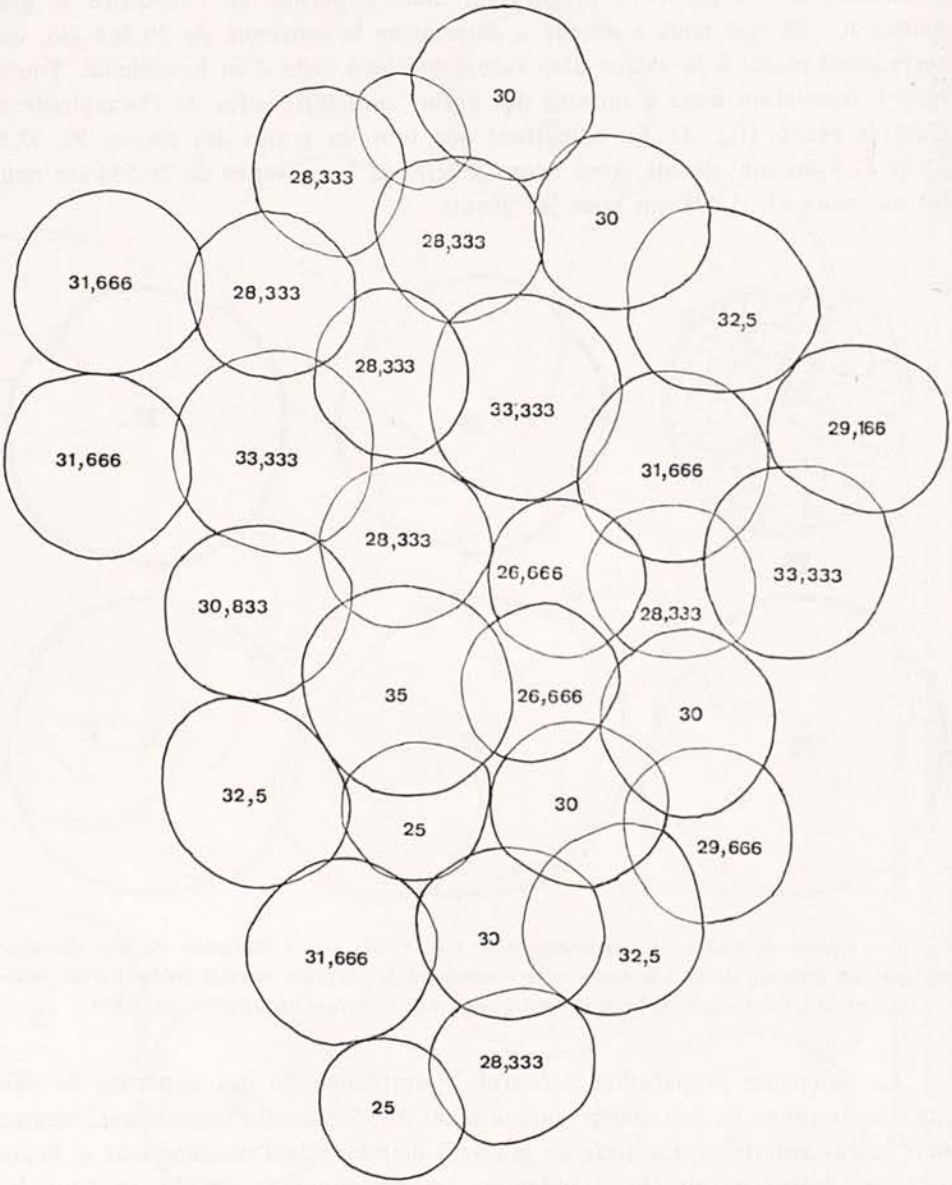


Fig. 4 — Représentation schématique d'une partie d'un groupe de grains de pollen trouvé dans une préparation mixte fournie par le spécimen *Aroso* s. n. (COI). Chaque grain porte au-dedans la valeur en μm de son diamètre. On peut remarquer l'existence de 4 catégories de grains produits par cet hexaploïde: 1) grains réduits (25-28,333 μm); grains une fois non réduits (29,166-33,333 μm); grains deux fois non réduits (35 μm) très rares; et un grain imparfait visible dans la région supérieure de la figure (celui qui ne porte pas la valeur du diamètre). × ca. 800.

férieure d'une partie d'une branche et en montant vers l'extrémité, nous avons étudié une fleur (quelquefois deux) de chaque verticillastre avec les résultats suivants:

Vert. 1 — Cette fleur nous a permis de dresser le graphique n.° 27, qui montre la moyenne 26,897 μm correspondant à la valeur d'un hexaploïde. Cependant, nous avons constaté la présence de quelques grains géants, ainsi que d'autres dont les parois devenaient verruqueuses (fig. 5 *f*).

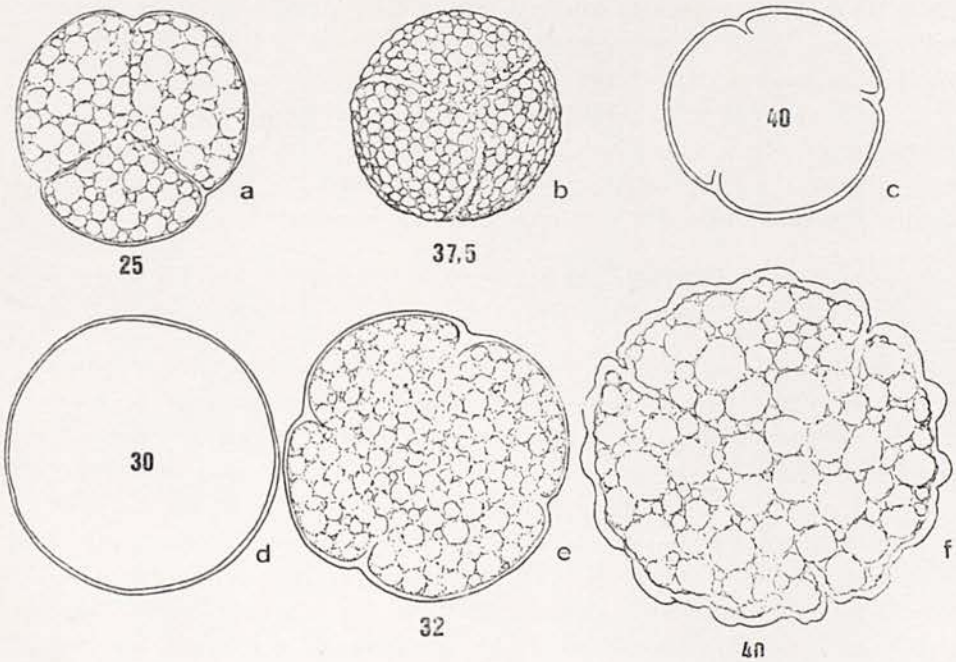


Fig. 5 — Grains de pollen produits par le spécimen *Aroso* s. n. (COI): *a*, Grain réduit à diamètre de 25 μm, 3-colpé. × ca. 1330. *b*, Grain géant deux fois non réduit à diamètre de 37,5 μm, 3-colpé. × ca. 800. *c*, Idem à 40 μm. × ca. 800. *d*, Grain géant non réduit à 30 μm. × ca. 1330. *e*, Idem à 32 μm, 4-colpé. × ca. 1330. *f*, grain géant à paroi verruqueuse. × ca. 1330.

Vert. 2 — 100 % de pollen mal conformé.

Vert. 3 — Fleur n.° 1 — 100 % de pollen mal conformé, une grande partie duquel à parois verruqueuses.

Vert. 3 — Fleur n.° 2 — Outre le pollen parfait qui nous a permis de dresser le graphique n.° 28, il y avait aussi un pourcentage élevé de grains imparfaits. Ce graphique, qui montre une moyenne de 29,360 μm, s'accorde très bien avec le graphique n.° 25 obtenu à partir d'une préparation mixte et il peut être interprété comme correspondant à un mélange de grains réduits

avec d'autres géants en plus grande nombre. Deux grains à 37,5 μm, qui n'ont pas été considérés dans la construction du graphique, ont été observés.

Vert. 4 — Il y avait peu de pollen imparfait et celui qui était bien conformé nous a permis de dresser le graphique n.º 29 qui présente une moyenne de 29,073 μm, s'approchant de celles des graphiques 25 et 28 et pouvant être interprété comme ceux-ci.

Nous pourrons donc conclure qu'il s'agit d'une plante hexaploïde à fleurs produisant quelquefois un mélange de pollen réduit et non réduit avec dominance du premier et d'autres fois le même mélange, mais avec prédominance du pollen géant. Quelques grains plus volumineux (2 fois non réduits) sont encore produits en quantité peu élevée.

Cependant, une autre hypothèse concernant les graphiques 28 et 29, bien que moins probable, peut être envisagée: production par les anthères des fleurs des verticillastres 3 et 4 de pollen à 28 chromosomes par suite de la formation de métaphases à 14II+14I et élimination des univalents.

b. *Aveiro, Carregal, região da Ucha, 27-V-1977, A. Marqques & A. Pereira 22 (COI).*

L'étude d'une préparation mixte nous a mené à construire le graphique n.º 30 qui met nettement en évidence l'existence de deux types de grains de pollen. En considérant, comme dans les cas antérieurs, que les grains à diamètre de 30 μm ou supérieur sont géants, on trouve les moyennes de 25,827 et 32,195 μm pour les grains normaux et les géants respectivement.

L'examen de fleurs isolées nous a montré l'existence d'anthères produisant seulement des grains normaux à M=26,239 μm (graphique n.º 31) et d'autres engendrant simultanément des grains réduits et une fois non réduits (graphique n.º 32). En faisant la comparaison du dernier graphique avec celui correspondant à la préparation mixte (n.º 30), on constate que la moyenne du diamètre des grains réduits est ici plus élevée et que celle des non réduits est plus basse. Cette différence peut être probablement due au nombre des cas observés 207 et 121 respectivement, le dernier n'ayant donné lieu qu'à la rencontre que de 3 grains à 35 μm. Nous croyons donc que le chiffre 32,195 μm traduira plus fidèlement la valeur de la moyenne des grains géants. La présence de grains géants deux fois non réduits en pourcentage peu élevé a été aussi constaté.

Les plantes de cette localité sont donc comparables à celles de Lavra des alentours du Porto.

4. R. AUSTRALIS (WILLK.) A. FERNANDES

La formation de grains géants est aussi fréquente dans cette espèce. En effet, nous les avons trouvé en petite quantité chez les spécimens suivants: Serra

do Gerês, Lamas do Homem, 6-VII-1948, *Rozeira, Alte & Castro* (PO 1190) (10 à 35 μm, c'est-à-dire 5,8 %); Santarém, Ferreira do Zêzere, Lagar do Gato, 24-VI--1969, *A. Matos & M. Alves* 3240 (COI) (3 à 35 μm); estrada Ferreira do Zêzere--rio Zêzere, 8-VI-1971, *A. Fernandes, R. Fernandes & J. Matos* 11581 (COI) (3 à 35 μm); Santarém, entre Ponte de Sor et Abrantes, 13-VII-1969, *A. Matos & M. Alves* (COI) (2 à 35 μm); Lisboa, Alhandra, V-1888, *A. R. da Cunha* (LISE 1467) (7 à 37 μm); Setúbal, Casal do Marco (3 à 35 μm); Setúbal, Monte dos Alhos (1 à 35 μm); Setúbal, pr. Santiago do Cacém (1,8 à 35 μm et 3 à 37,5 μm). Cependant, un pourcentage plus élevé a été trouvé dans un spécimen récolté par *A. Moller* à Vale de Canas aux environs de Coimbra.

Une préparation mixte de cet échantillon nous a fourni le graphique n.º 33. En admettant que les grains à taille inférieure à 32,5 μm sont des grains non géants correspondant à une forme octoploïde et que ceux à taille supérieure sont géants, les moyennes des deux types sont, respectivement, 30,887 et 35,416 μm (4).

DISCUSSION

Les observations que nous avons mené à bout chez les spécimens d'herbier des taxa de l'agrégat du *R. acetosella* croissant au Portugal nous permettent de distinguer, chez chaque degré de polyploïdie, des plantes des types suivants en ce qui concerne le volume et le pourcentage des grains de pollen produits:

a) grains petits, normaux (5) (taille 1); b) comme en a), mais produisant un très bas pourcentage de grains géants à volume intermédiaire (taille 2); c) grains des tailles 1 et 2 dans des pourcentages ± égaux; d) comme en c), mais avec un haut pourcentage de grains de la taille 2; e) une basse quantité de grains de la taille 1, accompagnés d'un haut pourcentage d'autres de la taille 2 et un bas pourcentage d'autres géants plus volumineux (taille 3); f) comme en e), mais sans grains de la taille 1; g) une très basse quantité de grains de la taille 1, avec une quantité intermédiaire de ceux de la taille 2 et un pourcentage plus élevé de ceux de la taille 3; h) pollen imparfait seulement (on doit remarquer que dans les types a-g, un pourcentage plus ou moins élevé de grains imparfaits peut être présent).

---

(4) Par le fait que nous n'avons examiné qu'une préparation mixte, l'étude de cette plante ne peut pas se considérer définitive, d'autant plus que son phénotype rappele plutôt le *R. acetosella* que le *R. australis*. L'examen de fleurs prises séparément s'impose donc pour éclaircir le problème.

(5) Réduits par rapport au respectif degré de polyploïdie des taxa, puisque ceux-ci peuvent être 2x, 4x, 6x et 8x.

Nous avons constaté de plus que des plantes existent dans lesquelles il peut y avoir dans la même branche d'une même inflorescence des fleurs engendrant seulement du pollen normal (réduit), d'autres donnant origine à un mélange de pollen normal et géant, d'autres produisant des grains géants d'un ou de deux types, d'autres ne produisant pas du pollen par suite de l'avortement des cellules-mères, etc.

En étudiant le genre *Allium*, LEVAN (1936) a trouvé des espèces (*A. schoenoprasum* et *A. nutans*) engendrant 100 % de grains géants, la formation desquels résultait de ce qui l'auteur a nomé la «monokinetische Meiosis», qui avait lieu par suite de la suppression de la deuxième division méiotique. En conséquence de cette suppression, des dyades étaient engendrées dont les noyaux possédaient le nombre non réduit (somatique) des chromosomes. Dans les figures publiées, on constate que, parmi les cellules-mères produisant des dyades, quelques-unes, bien que rares, peuvent subir la deuxième division en donnant origine à des tétrades et par conséquent à des grains réduits. En constatant (loc cit. p. 115) que la «monokinetische Meiosis» ne peut pas être attribuée aux particularités structurelles des chromosomes, LEVAN croit que ce type de division doit être déterminé par des gènes agissant sur le cours de la méiose comparables à ceux qui contrôlent la localisation des chiasmata, l'asynapsis, la méiose polymitotique, etc.

SATINA & BLAKESLEE (1935), en soumettant *Datura stramonium* à l'action du radium, ont provoqué une mutation qui supprime la deuxième division méiotique, soit à la microsporogenèse, soit à la macrosporogenèse, le gène ayant même été localisé dans le chromosome 9-10.

D'autre part, RHOADES & DEMPSEY (1966) ont trouvé chez *Zea mays* un gène nomé *elongate* (el), qui, en dehors d'induire l'allongement des chromosomes, bloque aussi la deuxième division méiotique, soit à la microsporogenèse, soit à la macrosporogenèse. Cependant, les dyades formées à la microsporogenèse ne se développent pas, contrairement à ce qui arrive du côté femelle. Les recherches de SATINA & BLAKESLEE et celles de RHOADES & DEMPSEY confirment donc la supposition de LEVAN.

Chez quelques hybrides de *Musa*, DODDS & PITTENDRIGH (1945) et DODDS & SIMMONDS (1946) constatent que, soit du côté mâle, soit du femelle, la méiose peut être totalement supprimée dans quelques cas et que, dans d'autres, seule la deuxième division a lieu. Au moyen de ces supressions, il y en aura formation de cellules doublement non réduites ou seulement non réduites. Ces auteurs considèrent obscur le mécanisme le ces non réductions.

En étudiant la microsporogenèse chez l'hybride *R. acetosa* × *R. thyrsiflorus* (F_1, F_2, F_3 et des croisements de retour), SWIETLINSKA (1960) et SWIETLINSKA & ZUK (1965) ont constaté que dans quelques plantes une cloison se développait à la télophase de la première division et que la deuxième était

bloquée. Des dyades étaient ainsi engendrées donnant naissance à deux grains de pollen géants non réduits, avec le nombre somatique des chromosomes.

En analysant la descendance de l'hybride ci-dessus mentionné ainsi que les croisements de retour, SWIETLINSKA & ZUK (loc. cit.) ont mis en évidence que la capacité d'induire la production de dyades accompagne le chemin du génome de la plante du *R. thyrsiflorus*, ce qui montre aussi que le blocage de la deuxième division est déterminé génétiquement.

En étudiant l'hybride *R. arilifolius* × *R. thyrsiflorus*, ZUK (1963) vérifie que, outre la formation de dyades qui peut avoir aussi lieu dans les espèces qui sont intervenues dans la formation de l'hybride, il peut y avoir blocage de la première division dans quelques cellules-mères, qui engendrent ainsi des grains doublement non réduits. Les recherches de cet auteur montrent également que le blocage de la deuxième division est déterminé génétiquement et qu'il a lieu soit à la microsporogenèse, soit à la macrosporogenèse. Bien que des observations cytologiques à la macrosporogenèse n'aient pas été faites, cette conclusion est obtenue par suite de l'apparition dans la descendance des hybrides d'un nombre de chromosomes X plus élevé que celui qui serait à attendre si la formation des dyades aurait seulement lieu à la microsporogenèse.

SWIETLINSKA ajoute que dans les générations suivantes des hybrides le mécanisme du blocage peut subir une certaine différenciation, puisque dans la F_2 la formation des dyades peut être limitée à quelques bourgeons, tandis qu'en même temps, dans d'autres bourgeons de la même plante, la deuxième division peut avoir lieu normalement.

Dans un travail antérieur (FERNANDES, 1984), nous avons étudié à peu près 100 spécimens d'herbier, correspondant chacun à une population [6] appartenant à des taxa de l'agrégat du *Rumex acetosella*. Comme nous l'avons remarqué, nous n'avons pas trouvé des grains géants dans la plupart des populations, ce qui signifique l'existence d'une méiose normale ou presque normale. Dans d'autres, nous avons trouvé des grains géants dans un pourcentage peu élevé. Dans ces cas, nous croyons que ces grains ont été formés par suite de l'action de quelques facteurs physiologiques affectant le cours de la méoise ou par suite d'irrégularités survenues habituellement chez les polyploïdes même de ceux à degré pair.

Un comportement différent a été trouvé chez les populations de Sabugal, Serra da Estrela (Lagoa Comprida), alentours de Porto (Lavra), région de l'Ucha (Aveiro) et Vale de Canas (Coimbra), puisque, dans ces cas, il y avait formation de grains géants dans un pourcentage élevé. Il faut remarquer

---

[6] Dans la plupart des cas une seule plante a été étudiée. Toutefois, lorqu'il y avait plus d'une plante dans la feuille de montage et la population était considérée intéressante, un nombre plus élevé était examiné.

encore que chez les populations des quatre dernières localités nous avons trouvé des grains de pollen géants de deux types, moins et plus volumineux, le pourcentage des plus volumineux étant cependant plus élevé seulement chez les plantes de la région de la Serra da Estrela (Lagoa Comprida).

Bien que nous n'avons pas fait des études de la méiose, nous sommes d'avis que la formation des grains géants moins volumineux a résulté du blocage de la deuxième division méiotique, d'accord avec les observations de SWIETLINSKA (loc. cit.) et SWIETLINSKA & ZUK (loc. cit.). Il y aurait eu formation de dyades, chacune desquelles s'aurait transformée en grain de pollen à nombre somatique des chromosomes. L'apparition des grains géants plus volumineux résultérait, d'accord avec ZUK (loc. cit.), du blocage de la première division (double non réduction), qui amenerait à la formation de grains à nombre quadruple des chromosomes. Dans tous les cas, des grains réduits se forment aussi, ce qui signifie que quelques cellules-mères peuvent avoir une méiose normale. Le mécanisme de la duplication et de la quadruplication est évident: séparation des deux chromatides des chromosomes ayant subi la télophase I et séparation des 4 chromatides de chaque bivalent avant la télophase I qui n'a pas lieu.

Nos observations montrent donc que, comme dans le sous-genre *Acetosa*, la formation de grains à nombres double et quadruple des gamétiques est fréquente chez le sous-genre *Acetosella*. La fréquente occurrence de polyploïdie dans le groupe doit par conséquent être attribuée à la formation de ces grains géants. Le cas des plantes de Vilar Formoso est très instructif. En effet, comme nous l'avons mis en évidence, ces plantes tétraploïdes engendrent des grains à 28 chromosomes, outre des grains réduits à 14. De la rencontre de gamètes de ces deux types des plantes hexaploïdes (28+14=42) se séraient engendrées. Ceci arrive, car nous avons trouvé dans la même population, en dehors des tétraploïdes, des hexaploïdes qui ont eu certainement une telle origine.

Nous ne savons pas encore si chez le sous-genre *Acetosella* les mêmes phénomènes de blocage ont lieu aussi à la macrosporogenèse comme il arrive chez *Acetosa*. La fréquente occurrence de polyploïdie dans le groupe dans lequel la série 2x, 4x, 6x et 8x est connue, nous autorise à penser que le blocage aura également lieu à la macrosporogenèse, d'accord avec les observations de ZUK (loc. cit.).

Des polyploïdes à degré impair ne sont pas connus à l'état spontané. Ces plantes seraient stériles et elles ne pourraient pas se maintenir.

Le fait que le blocage de la première ou de la deuxième division de la méiose est déterminé par des gènes agissant à certains moments du cours de ces divisions est aussi mis en évidence par nos observations. En effet, des plantes possédant la capacité de bloquer les divisions méiotiques sont assez rares, puisque nous n'avons trouvé de telles plantes que chez 6 populations parmi les

100 examinées. La rareté de ces plantes suggère qu'elles se seront engendrées par suite de mutation. D'autre part, nous avons constaté que les plantes de la population tétraploïde du Sabugal possédant les gènes déterminant le blocage de la deuxième division transmettent ces gènes aux hexaploïdes qu'elles produisent.

Nous ne savons encore rien sur le mécanisme au moyen duquel ces gènes agissent. Nous croyons que les gènes qui produisent le blocage de la première division seront différents de ceux qui provoquent le blocage de la deuxième. En effet, l'action des premiers pourrait se manifester sur le fuseau en empêchant son fonctionement et celle des deuxièmes pourrait être en rapport avec la formation de la cloison qui empêcherait dans les Dicotylédones la progression de la deuxième division.

Si le blocage est déterminé génétiquement, nous devrions nous attendre à trouver un comportement comparable dans toutes les fleurs. Cependant, ceci n'arrive point tout au moins chez les plantes examinées par SWIETLINSKA (loc. cit.) et par nous, puisque nous avons constaté que la formation de dyades peut être limitée à quelques bourgeons, tandis que dans d'autres la deuxième division peut se dérouler normalement. Pour expliquer ces phénomènes, SWIETLINSKA admet que le mécanisme du blocage peut subir une certaine différenciation au cours des générations successives. Toutefois, SWIETLINSKA a travaillé avec des hybrides entre des espèces, tandis que nous avons employé des échantillons spontanés. Étant donné que les plantes de l'agrégat *Acetosella* sont dioïques et anémophiles, les hybridations y sont très fréquentes, ce qui amenera à un haut degré l'hétérozygotie (révélé par exemple par le type de l'hérédité du nombre des colpes — voir FERNANDES, 1982), lequel pourra conduire aussi à la différenciation admise par SWIETLINSKA (loc. cit.).

D'accord avec nos observations, qui montrent que la formation de gamètes réduits, une fois non réduits et deux fois non réduits est fréquente chez l'agrégat du *Rumex acetosella,* l'apparition des degrés de polyploïdie trouvés jusqu'à ce jour dans le groupe peuvent s'expliquer d'après les schémas de la fig. 6 où 0 indique les degrés qui n'ont pas été rencontrés.

Cependant, on doit remarquer que des hybridations peuvent avoir lieu entre les différents degrés de polyploïdie et que des formes polyploïdes avec le même degré pourront avoir d'autres origines. Ainsi, des octoploïdes pourront résulter encore du croisement 42+14, le premier nombre provenant d'un hexaploïde et le deuxième soit d'un diploïde, soit d'un tétraploïde.

Finalement, on doit remarquer que des formes à degré impair de polyploïdie n'ont pas été trouvés à l'état spontané. Toutefois, il pourra-t-arriver que des triploïdes se formeront et qui'ls engendreront des gamètes non réduits à 21 chromosomes dont la rencontre produirait des hexaploïdes.

Diploïde (2n=14)

♀ \ ♂	7	14	28
7	14	0	0
14	0	28	42
28	0	42	56

Tétraploïde (2n=28)

♀ \ ♂	14	28	56
14	28	42	0
28	42	56	0
56	0	0	0

Hexaploïde (2n=42)

♀ \ ♂	21	42	84
21	42	0	0
42	0	0	0
84	0	0	0

Octoploïde (2n=56)

♀ \ ♂	28	56	112
28	56	0	0
56	0	0	0
112	0	0	0

Fig. 6 — Schémas montrant la possible origine des degrés de polyploïdie connus jusqu'à ce jour à l'état spontané chez l'agrégat du *Rumex acetosella*.

BIBLIOGRAPHIE

DODDS, K. S. & PITTENDRIGH, C. S. (1946) — Genetical and cytological studies of *Musa*. VII. Certain aspects of polyploidy. *Journ. Genet.* 47 (2): 162-177.

DODDS, K. S. & SIMMONDS, N. W. (1946) — Genetical and cytological studies of *Musa*. VIII. The formation of polyploid spores. *Journ. Genet.* 47 (3): 223-241.

FERNANDES, A. (1982) — Será o número de colpos do pólen de *Rumex* subgen. *Acetosella* determinado geneticamente? Programa y Resúmens de las Comunicaciones de las XVIII Jornadas Luso-Españolas de Genética: 149-150.

FERNANDES, A. (1983) — Sur l'existence de formes octoploïdes chez l'agrégat du *Rumex acetosella* dans la Péninsule Ibérique. *Rev. Biol.* 12: 341-362.

FERNANDES, A. (1984) — L'agrégat du *Rumex acetosella* au Portugal. *Mem. Soc. Brot.* 27: 75-127.

HARRIS, W. (1969) — Seed characters and organ size in the cytotaxonomy of *Rumex acetosella* L. *New Zeal. Journ. Bot.* 7 (12): 125-141.

LEVAN, A. (1936) — Zytologische Studien an *Allium schoenoprasum*. *Hereditas* 22: 1-128.

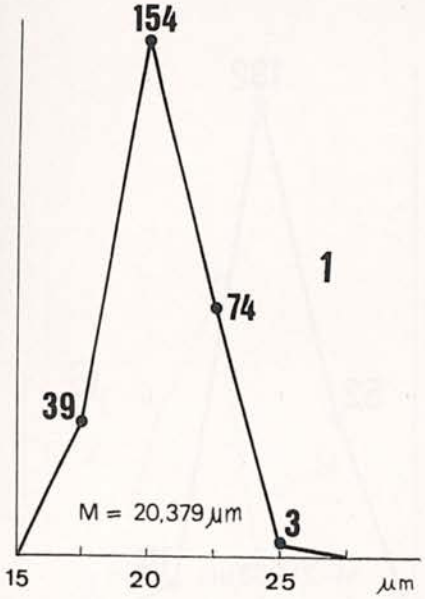
RHOADS, M. M. & DEMPSEY, E. (1966) — Induction of chromosome doubling at meiosis by the elongate gene in Maize. *Genetics* 54 (2): 205-522.

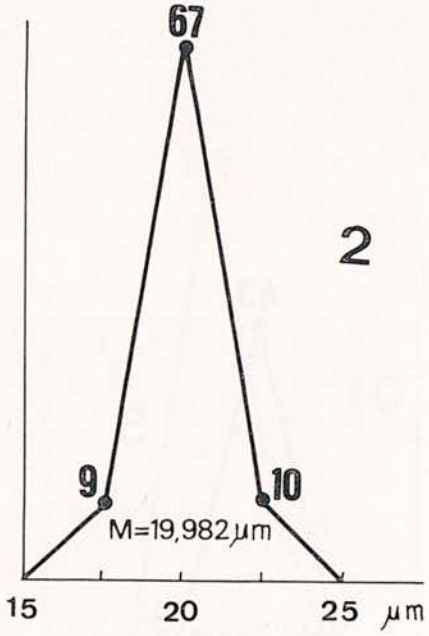
SATINA, S. & BLAKESLEE, A. F. (1935) — Cytological effects of a gene in *Datura* which causes dyad formation in sporogenesis. *Bot. Gaz.* 96: 521-532.

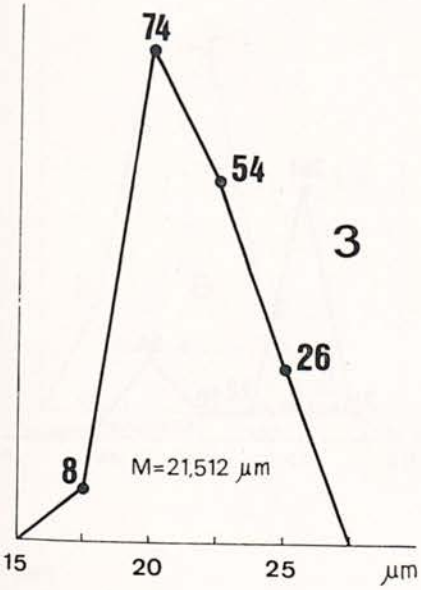
SWIETLINSKA, Z. (1960) — Spontaneous polyploidization in *Rumex* hybrids. *Acta Soc. Bot. Pol.* 29 (1): 79-98.

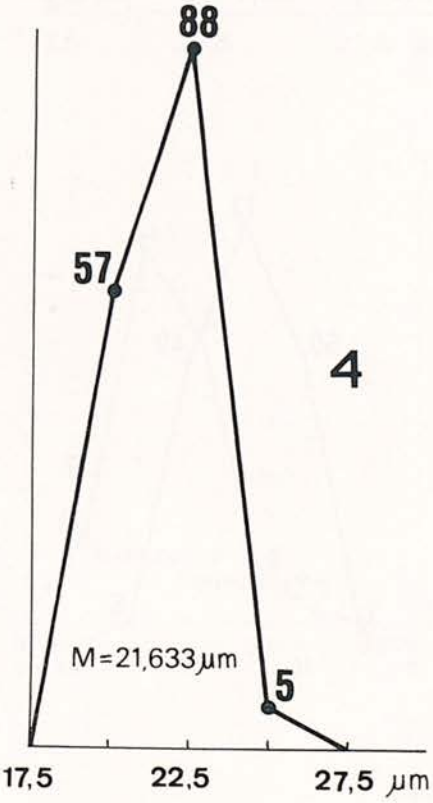
SWIETLINSKA, Z. & ZUK, J. (1965) — Further observations on spontaneous polyploidization in *Rumex* hybrids. *Acta Soc. Bot. Pol.* 34 (3): 439-450.

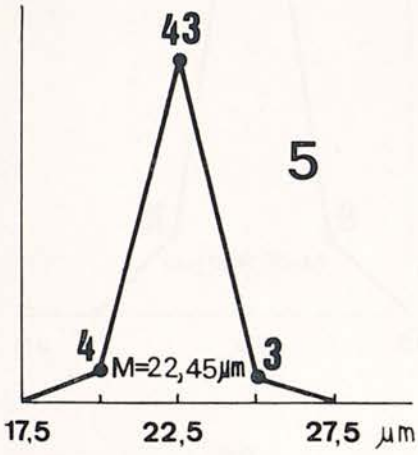
ZUK, J. (1963) — An investigation on polyploidy and sex determination within the genus *Rumex*. *Acta Soc. Bot. Pol.* 32 (1): 5-67.

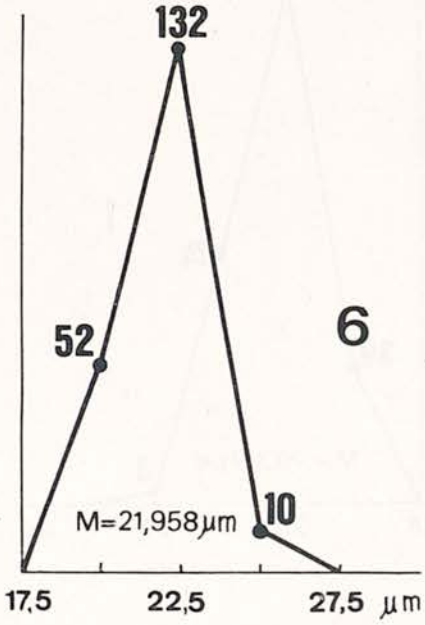

154
74
39
3
1
M = 20,379 µm
15
20
25
µm

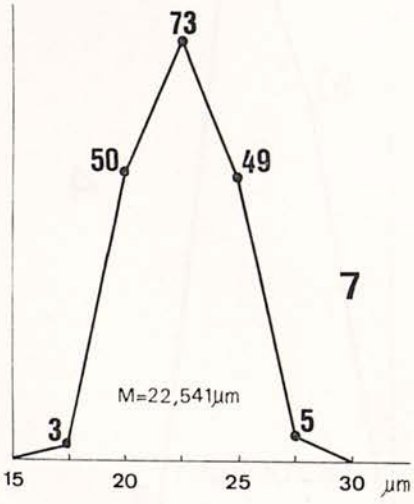

67
9
10
2
M=19,982 µm
15
20
25
µm

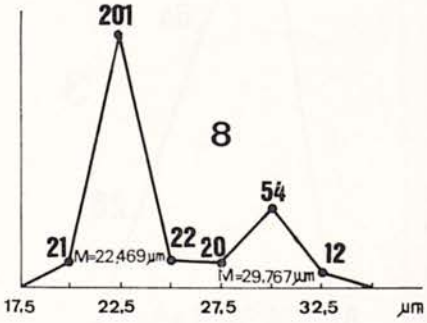

74
54
26
8
3
M=21,512 µm
15
20
25
µm

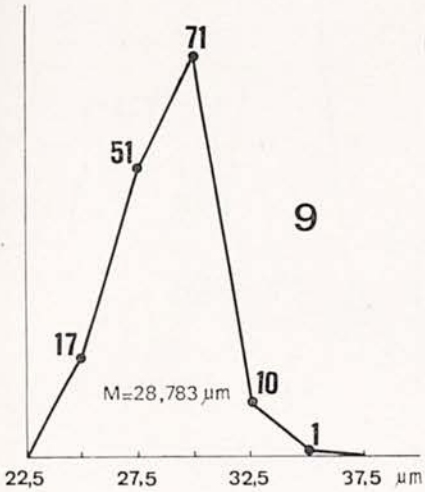

88
57
5
4
M=21,633 µm
17,5
22,5
27,5
µm

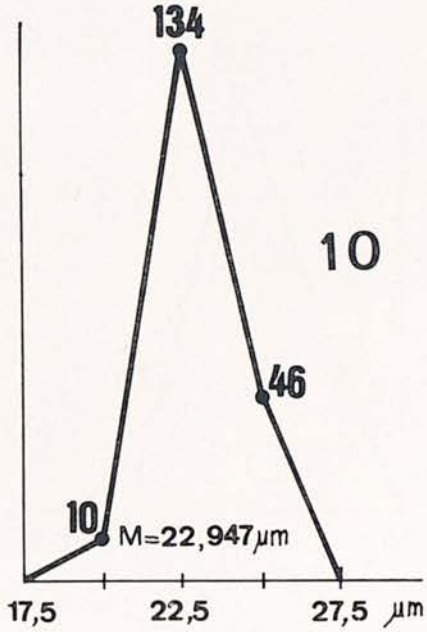

43
5
4
M=22,45µm
3
17,5
22,5
27,5 µm

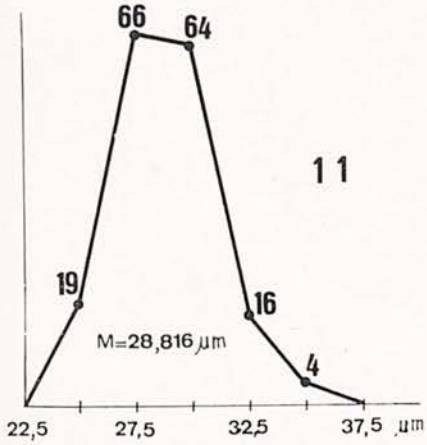

132
52
6
M=21,958µm
10
17,5
22,5
27,5 µm

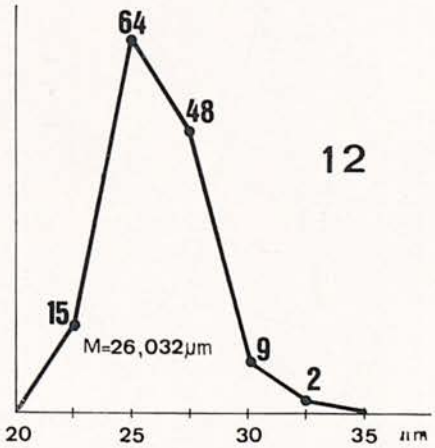

73
50
49
7
M=22,541µm
3
5
15
20
25
30 µm

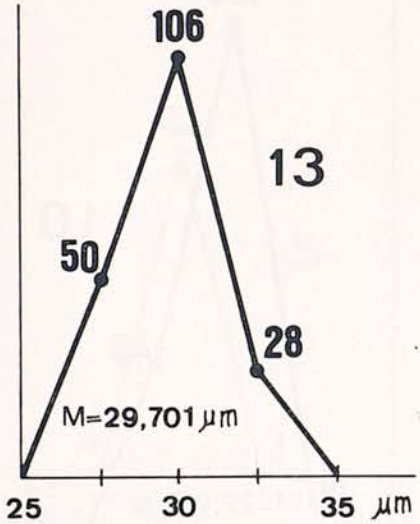

201
8
54
21
M=22,469µm
22
20
12
M=29,767µm
17.5
22,5
27,5
32,5
µm

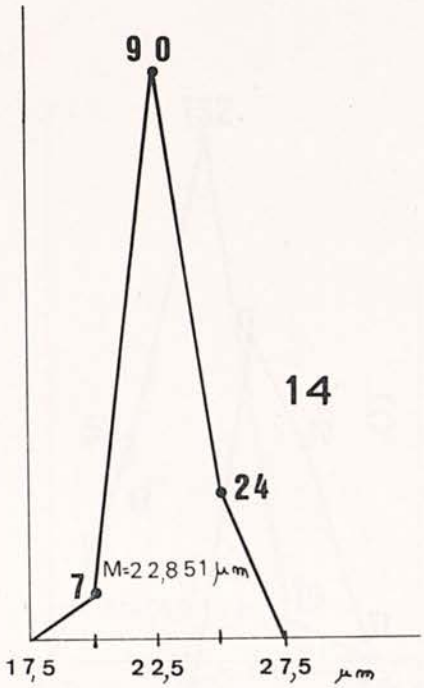

9
71
51
17
10
1
M=28,783 µm
22,5
27,5
32,5
37,5 µm

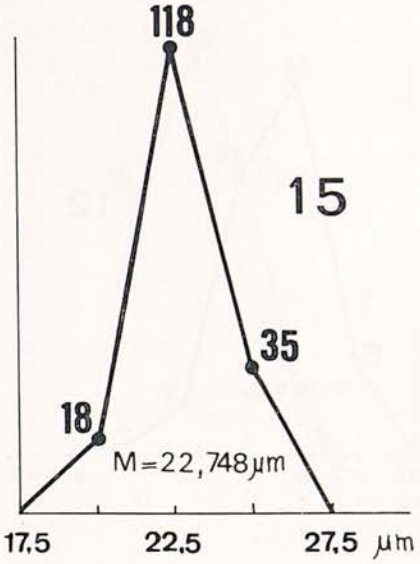

10
134
46
10
M=22,947µm
17,5
22,5
27,5 µm

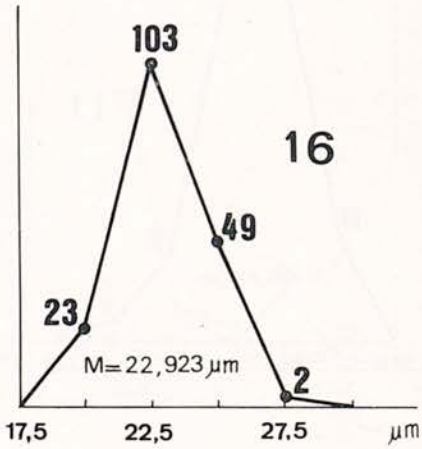

11
66
64
19
16
4
M=28,816 µm
22,5
27,5
32,5
37,5 µm

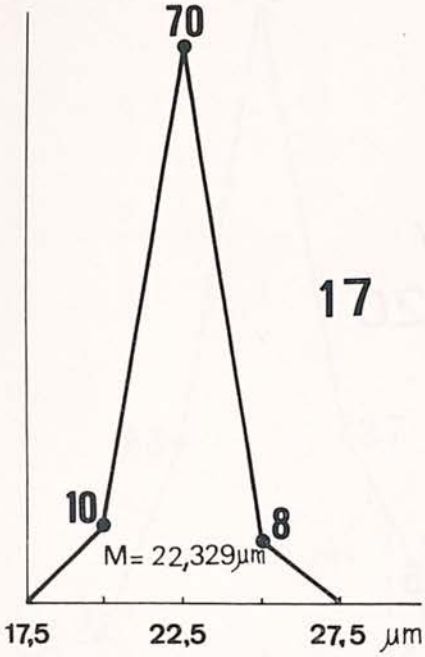

12
64
48
15
9
2
M=26,032µm
20
25
30
35 µm

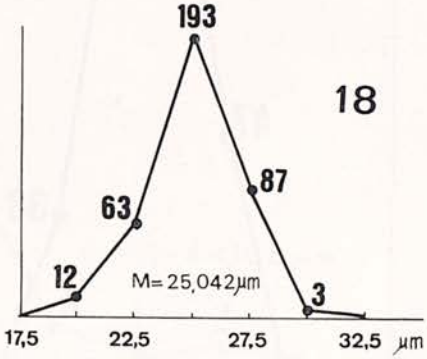

106
13
50
28
M=29,701 µm
25
30
35 µm

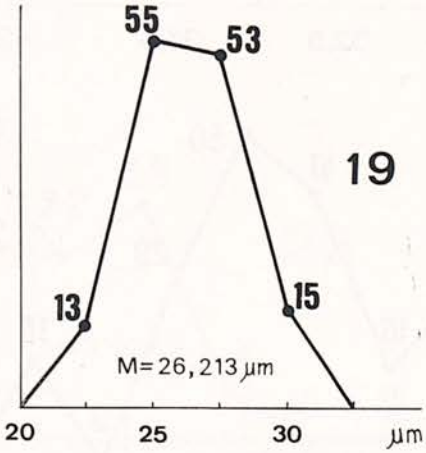

90
14
24
7
M=22,851 µm
17,5
22,5
27,5 µm

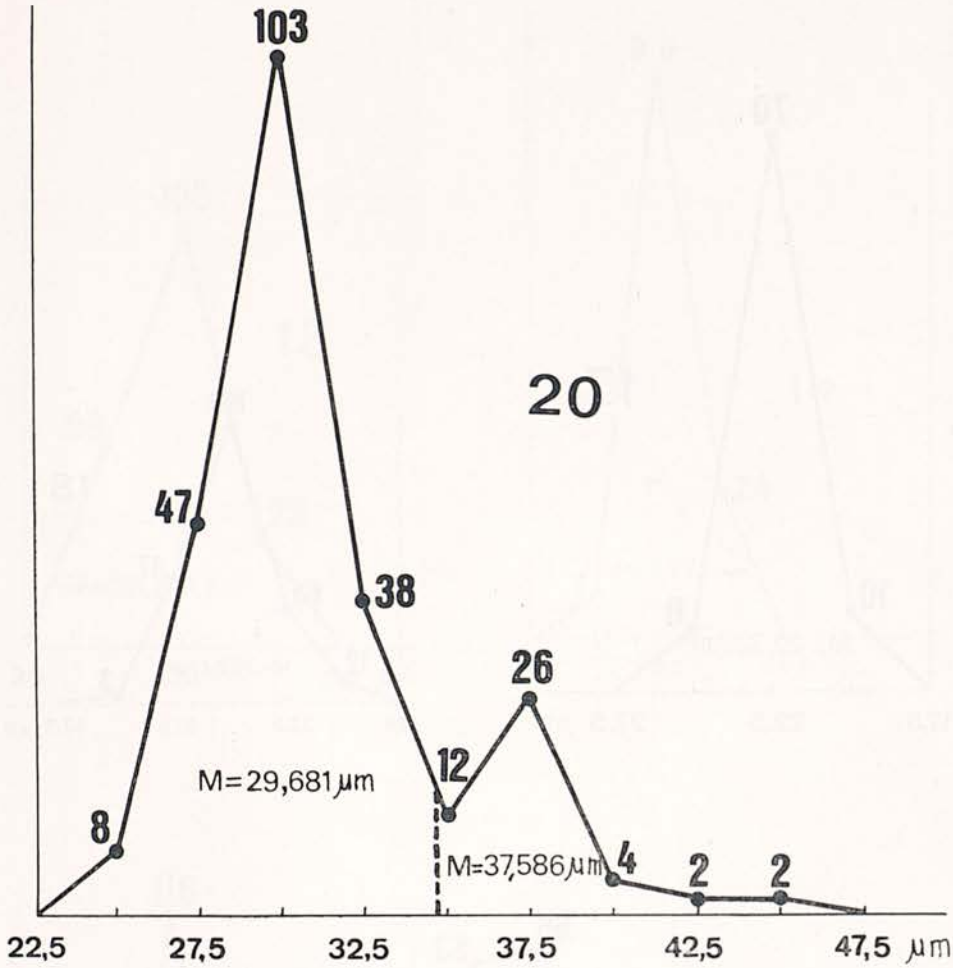

118
15
35
18
M=22,748 µm
17.5
22.5
27.5 µm

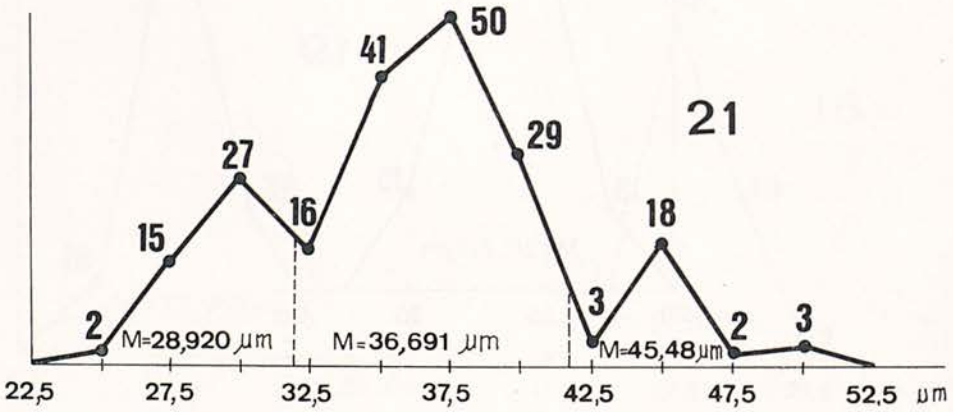

103
16
49
23
M=22,923 µm
2
17,5
22,5
27.5
µm

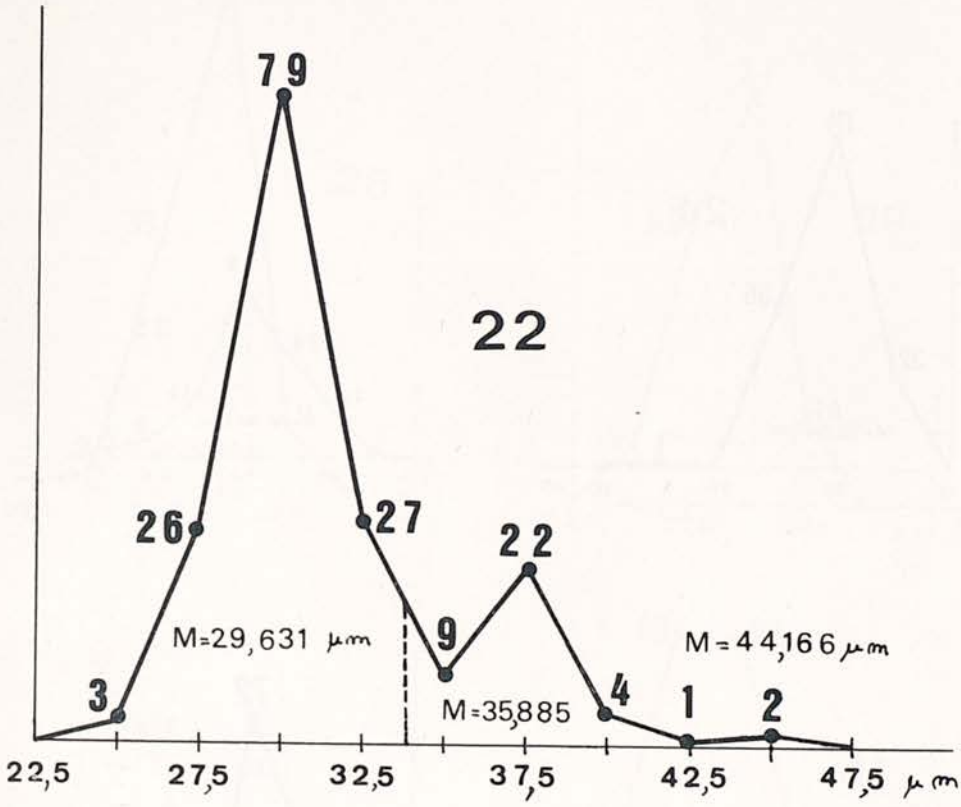

70
17
10
8
M= 22,329µm
17,5
22,5
27,5 µm

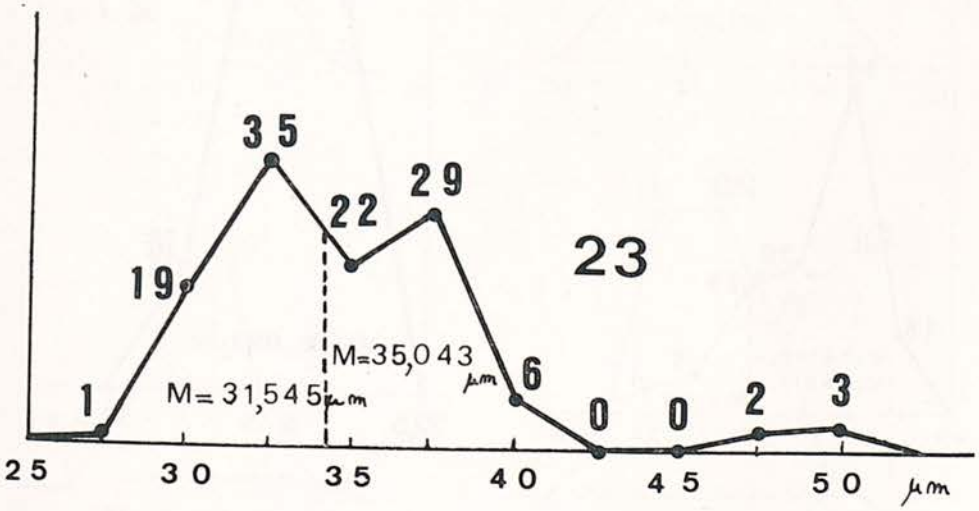

193
18
87
63
12
M= 25,042µm
3
17,5
22,5
27,5
32,5 µm

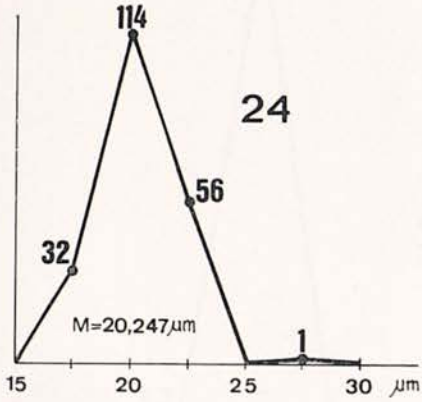

55
53
19
13
15
M= 26,213 µm
20
25
30
µm

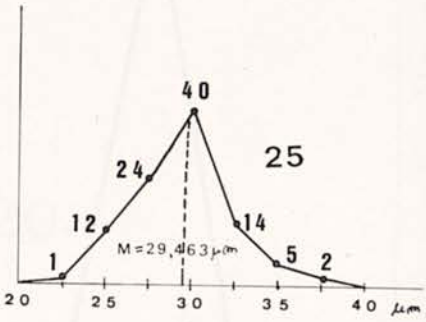

20
103
47
38
26
12
8
4
2
2
M=29,681 µm
M=37,586 µm
22,5
27,5
32,5
37,5
42,5
47,5 µm

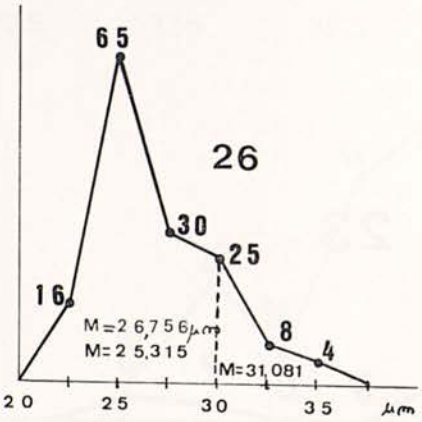

21
50
41
29
27
16
18
15
2
3
2
3
M=28,920 µm
M=36,691 µm
M=45,48 µm
22,5
27,5
32,5
37,5
42,5
47,5
52,5 µm

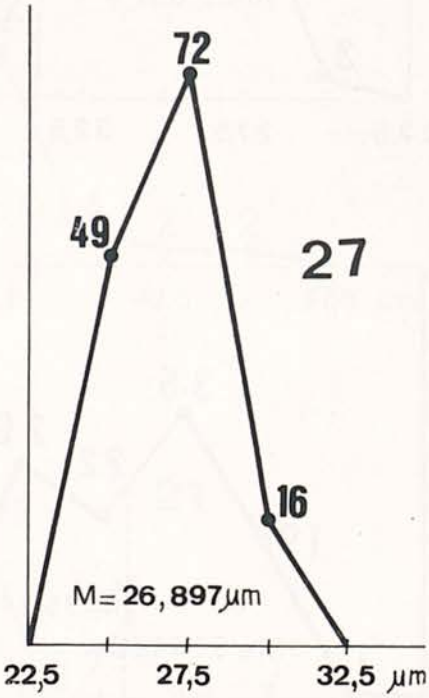

79
22
26
27
22
M=29,631 µm
9
M=44,166 µm
3
4
1
2
M=35,885
22,5
27,5
32,5
37,5
42,5
47,5 µm

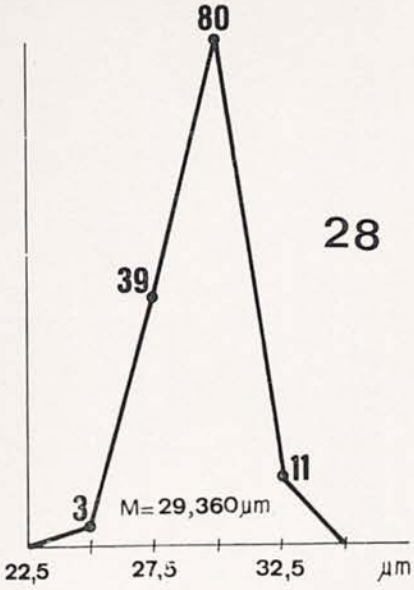

35
29
22
23
19
M=35,043 µm
6
1
M=31,545 µm
0
0
2
3
25
30
35
40
45
50 µm

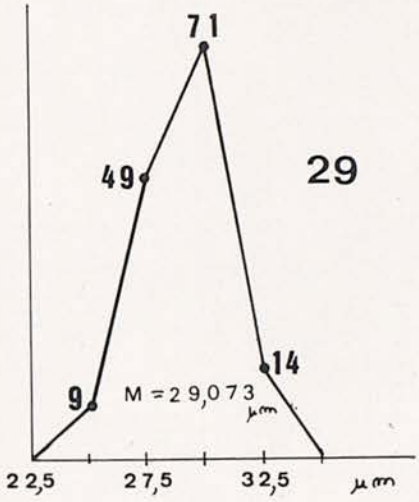

114
24
56
32
M=20,247µm
1
15
20
25
30
µm

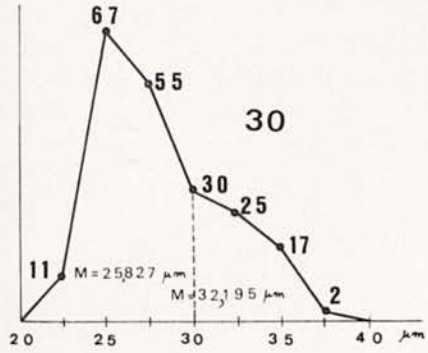

40
25
24
12
14
1
M=29,463µm
5
2
20
25
30
35
40
µm

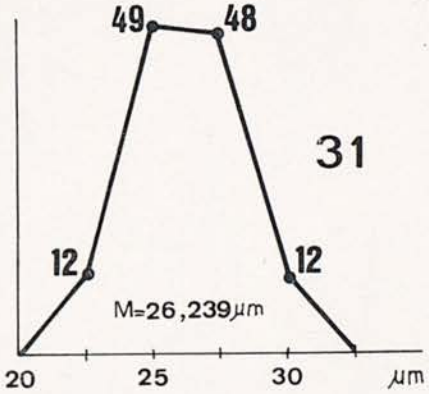

65
26
30
25
16
M=26,756µm
M=25,315
8
4
M=31,081
20
25
30
35
µm

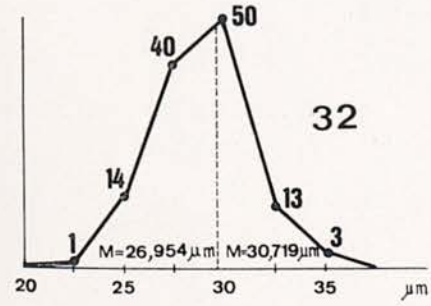

72
49
27
16
M= 26,897µm
22,5
27,5
32,5 µm

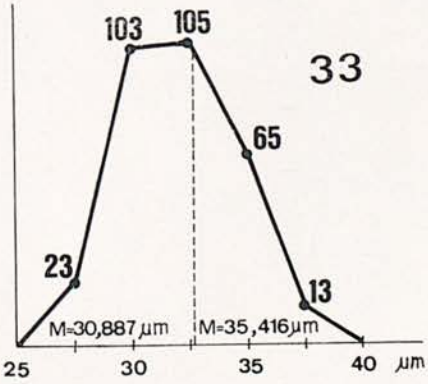










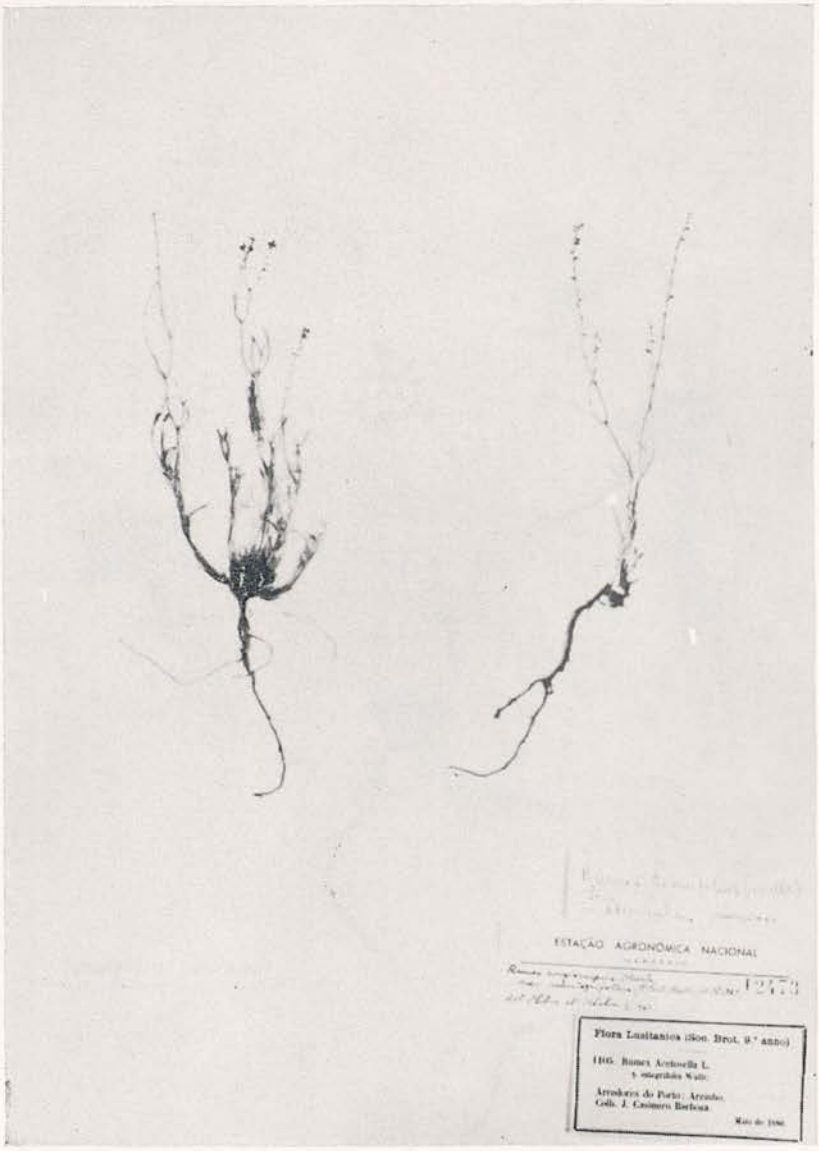


Graphiques 1-33 montrant la variation du diamètre des grains du pollen chez des spécimens d'herbier de *Rumex tenuifolius* (Wallr.) Á. Löve, *R. angiocarpus* Murb. var. *multifidus* (DC.) Rothm. & P. Silva, *R. acetosella* L. sensu str. emend. Á. Löve et *R. australis* (Willk.) A. Fernandes. Explication detaillée dans le texte.

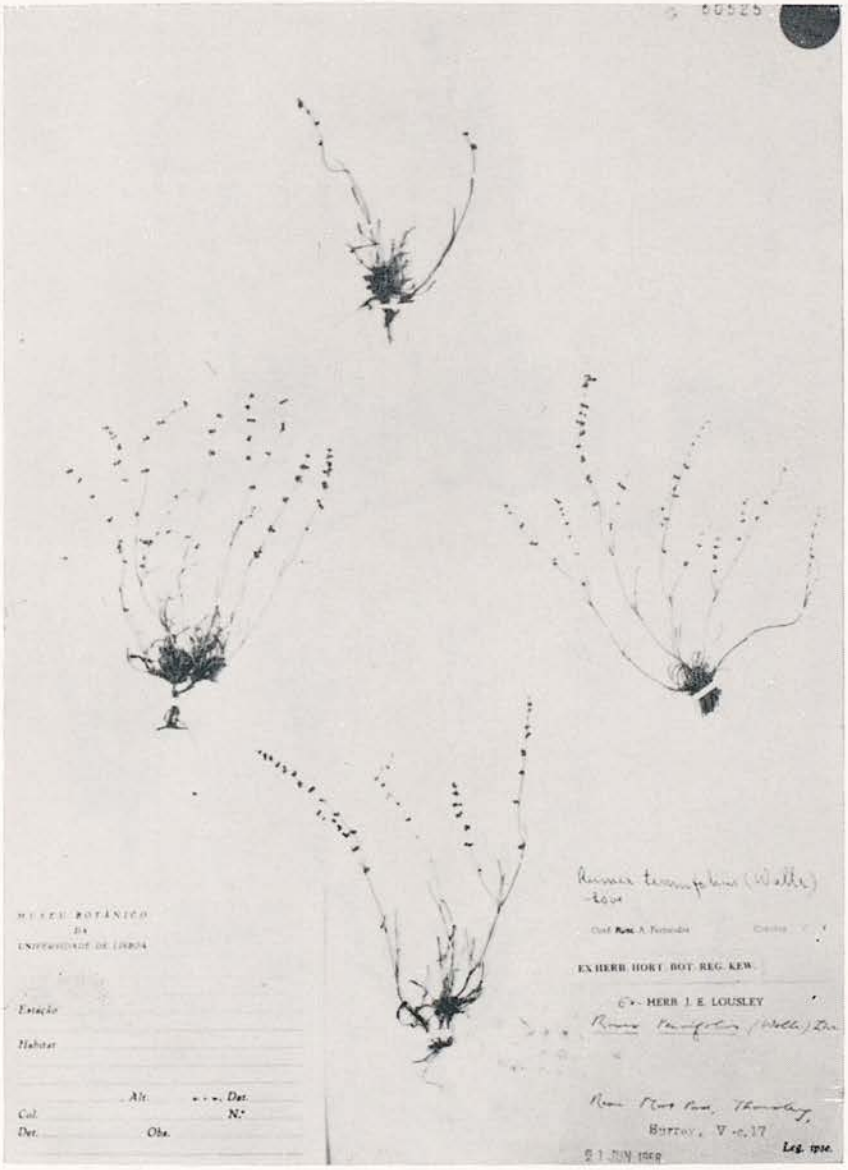
Rumex tenuifolius (Wallr.) Á. Löve [Specimen: Serra da Marofa, Cristo Rei, ♂, 6-IV-1967, *A. Rozeira, G. Costa & Araújo* (PO 9016)]. 2n=14.

Rumex tenuifolius (Wallr.) Á. Löve [Specimen: Serra da Peneda, Melgaço, Lamas do Mouro, 19-IV-1977, ♂ & ♀, *A. Barreto* & *G. Costa* (PO 29861)]. 2n=28.

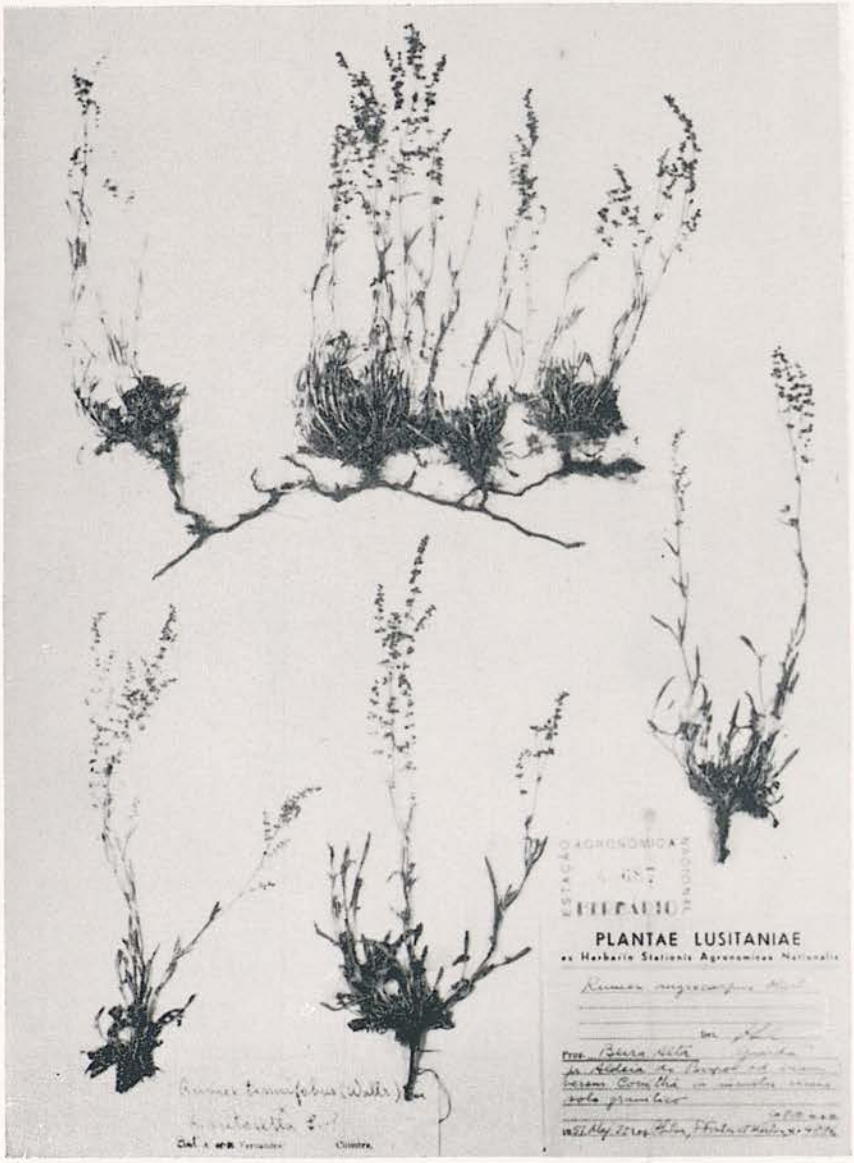
Rumex tenuifolius (Wallr.) Á. Löve [Specimen: Beira Alta, Vilar Formoso ad vias solo siliceo, alt. ca. 800 m, ♂, 25-V-1957, *P. Silva, F. Fontes & M. Silva* 4921 (LISE 45703)]. Explication dans le texte.



Rumex tenuifolius (Wallr.) Á. Löve [Specimen: Arredores do Porto, Areínho, ♂, V-1888, *Casimiro Barbosa*, 1105 (LISE 12473)]. 2n=28.



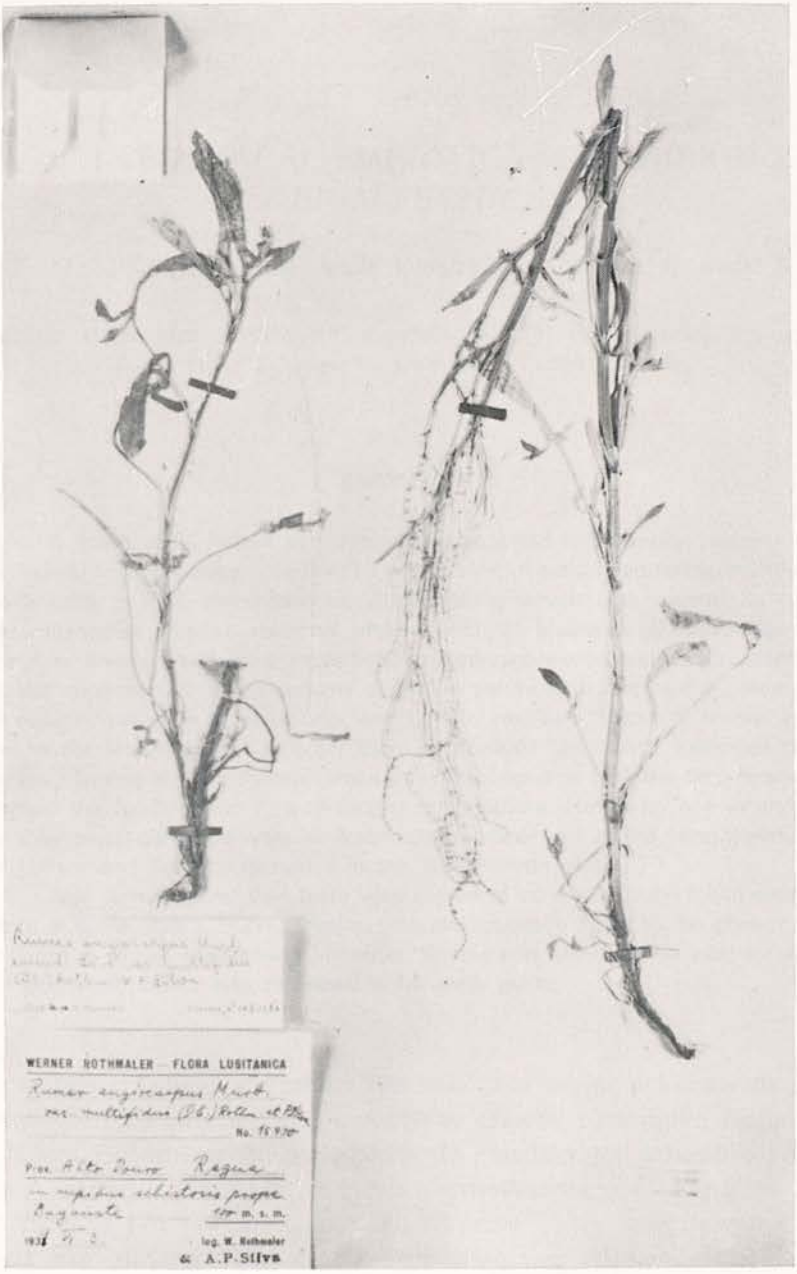
Rumex tenuifolius (Wallr.) Á. Löve [Specimen: near Mort Pond, Thunsley, Surrey, ♂, 21-VI-1958, *Lousley* (LISU G60525 ex K)]. 2n=42.



Rumex tenuifolius (Wallr.) Á. Löve [Specimen: Beira Alta, Guarda, pr. Aldeia do Bispo ad viam versus Covilhã in incultis siccis solo granitico. alt. ca. 800 m. s. m., ♂, *P. Silva. F. Fontes* & *M. Silva* 4846 (LISE 45687)]. 2n=42.

Rumex tenuifolius (Wallr.) Á. Löve [Specimen: Guarda, Seia, Serra da Estrela, arredores da zona de descarga da Lagoa Comprida, ♂, 15-VI-1978, *A. Marques* 806 (COI)]. 2n=56.

Rumex tenuifolius (Wallr.) Á. Löve [Specimen: Beira Alta, Guarda, Seia, Serra da Estrela, arredores da zona de descarga da Lagoa Comprida, erva vivaz, ♀, 15-VI-1978, *A. Marques* 806-A (COI)]. 2n=56.



R*umex angiocarpus* Murb. var. *multifidus* (DC.) Rothm. & P. Silva [Specimen: Alto Douro, in rupibus schistosis prope Bagauste, alt. 100 m, ♂, 3-VI-1939, *Rothmaler & P. Silva* 15900 (LISE)]. 2n = 14.

BROTÉRIA-GENÉTICA, Lisboa, V (LXXX), 93-96 (1984)

A ESTABILIZAÇÃO MEIÓTICA EM HÍBRIDOS *LOLIUM-FESTUCA*

T Mello-Sampayo *, M. Valle Ribeiro ** e Ana C. A. Sousa *

Instituto Gulbenkian de Ciência *, Apartado 14, 2781 Oeiras Codex, Portugal
e An Foras Taluntais **, Oak Park, Carlow, Irlanda

SUMMARY

A group of 54 hybrid derivatives was obtained through crossings of F_1 hybrids Lolium × Festuca arundinacea with pollen of stable and fertile «synthetics» with 2n = 42 chromosomes. Such plants, which also carried 2n = 42 chromossomes showed a normal meiosis with 21 bivalents at metaphase of the first division with rare exceptions of few univa'ents and quadrivalents. It was suggested that the genome of Lolium paired with one of the genomes of F. arundinacea in order to originate partially restituted nuclei at metaphase 1st of the female parent in order them to produce genetically ballanced gametes carrying n = 21 chromosomes. It was suggested that the final hybrids carried the fundamental F. arundinacea architecture. However, one or more of their three genomes were «mixogenomes» made out of the recombination of Lolium and Festuca genomes in the intermediate steps.

Also it was found that there was a gradual variation of the mean chiasmata in those plants. Such variation was almost entire'y due to the change in proportion of rod versus ring bivalents. It was concluded that a post-synaptic polygenic effect was responsible for such event.

Os Géneros *Lolium* e *Festuca* são dois taxa muito próximos da Família *Gramineae* Tribu *Festucae* cujas espécies se cruzam com muita facilidade entre si. Nestes Géneros se situam espécies de grande valor forrageiro tais como a *Festuca pratensis* (2n = 14), a *Festuca arundinacea* (2n = 42) e os azevens *Lolium perenne* (2n = 14), e *Lolium multiflorum*. A *F. arundinacea* é conhecida pela sua rusticidade, vegetação exuberante e adaptabilidade, enquanto que os azevens têm melhor valor nutritivo e qualidade forrageira.

Tem sido sempre um desejo latente dos melhoradores obter híbridos estáveis entre o alohexaploide *Festuca arundinacea* e os *Lolium* diploides, nos quais

se combinassem as qualidades intrínsecas dos dois progenitores. Este objectivo está a ser alcançado nos híbridos que vamos referir.

Em 1970 foi iniciado por um dos autores (M. Valle Ribeiro um programa de hibridação de *Lolium perenne* e *Lolium multiforum* com *Festuca arundinacea*. Como resultado destes cruzamentos foram seleccionados 370 híbridos da F_1 com 2n=28 cromossomas, todos andro-estéreis. Estas plantas foram por sua vez polinizadas com pólen de «sintéticos» introduzidos dos Estados Unidos e provindos da Universidade do Kentucky, e do State College da Pensilvânia. Estes «sintéticos» tinham 2n=42, eram meioticamente estáveis e férteis. Os primeiros resultaram dum complexo processo de hibridação, duplicação cromossómica, retrocruzamento e regressão no qual estavam envolvidos *L. multiflorum* e *F. arundinacea*. Os segundos produziram-se a partir de cruzamentos entre *L. perenne, F. pratensis* e *F. arundinacea*. Das polinizações efectuadas obtiveram-se 256 plantas cujo número cromossómico está a ser determinado no laboratório de Citogenética do Instituto Gulbenkian de Ciência. Até agora apenas 54 plantas, colhidas ao acaso, foram estudadas. Todas apresentam 2n=42, as suas anteras são deiscentes e produzem, na antese, pólen predominantemente redondo e completamente corado.

A análise meiótica, efectuada nestas 54 plantas, mostra as seguintes médias de emparelhamento:

Configurações médias na metafase da 1.ª divisão meiótica de 54 derivados híbridos Lolium-Festuca *(2n=42; 30 células mães de pólen por planta)*

	Univa-lentes	*Bivalentes*			*Triva-lentes*	*Quadri-valentes*	*Quias-mata*
		Anéis	*Bastonetes*	*Total*			
Média Geral	0.14	9.92	11.01	20.84	0.04	0.04	31.92
Amplitude	0.00	2.93	2.57	19.47	0.03	0.03	24.83
das	a	a	a	a	a	a	a
médias	0.70	18.87	17.90	21.00	0.17	0.97	38.73

Por seu turno, verifica-se que o emparelhamento meiótico nessas 54 plantas sofre uma variação acentuada e gradual, conforme se observa na Fig. 1 seguinte: Neste gráfico se observa o crescimento considerável dos valores médios de quiasmata, e bivalentes em anel, enquanto que o número de bivalentes se mantém estacionário. Isto quer dizer que o aumento gradual de quiasmata se faz à custa quase exclusiva do aumento, também gradual, de bivalentes em anel.

A *Festuca arundinacea* é em alohexaploide (2n=42) constituído pela junção de 3 genómios cuja origem não está ainda bem esclarecida [para melhor

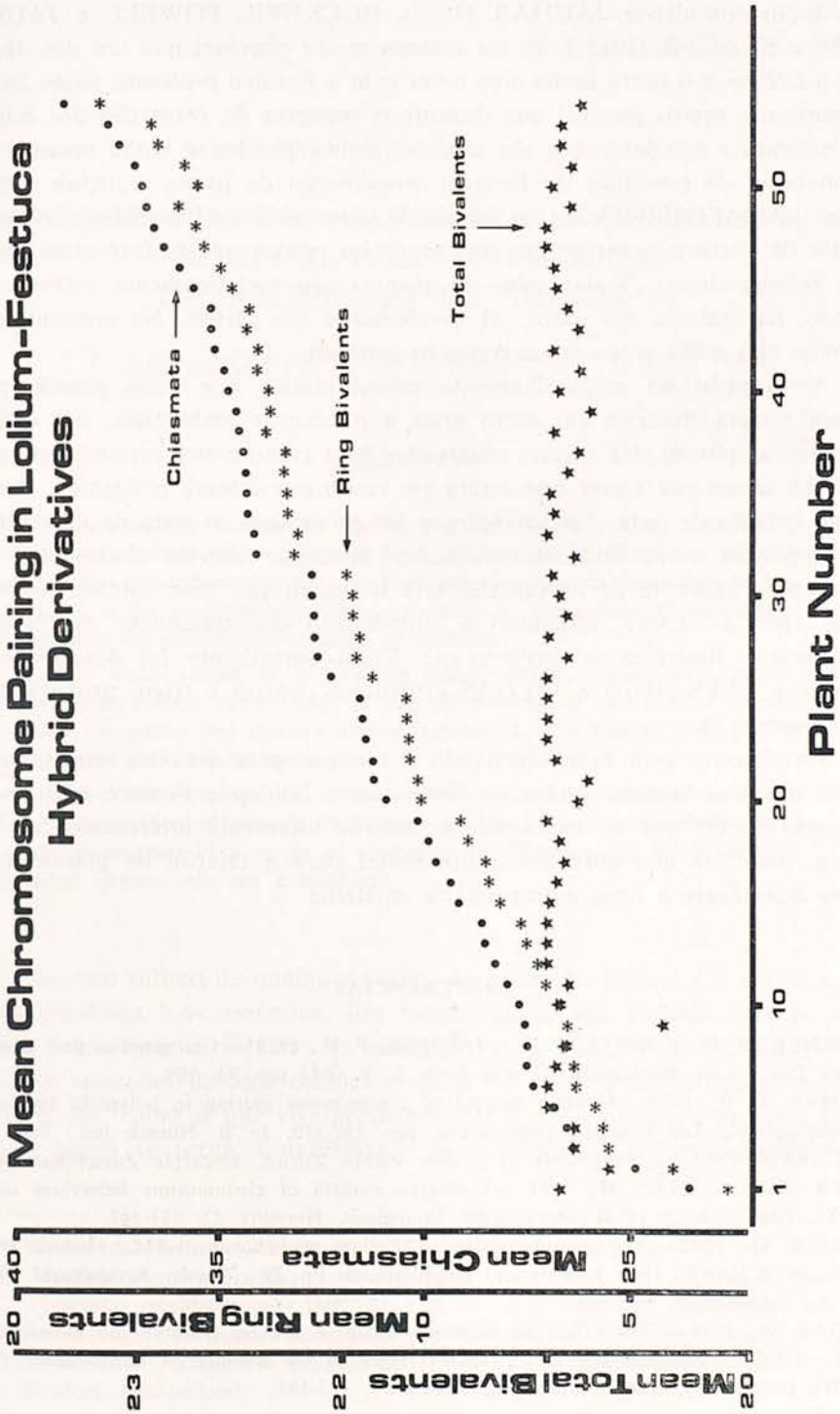

Mean Chromosome Pairing in Lolium-Festuca
Hybrid Derivatives
Chiasmata
Ring Bivalents
Total Bivalents
Mean Chiasmata
Mean Ring Bivalents
Mean Total Bivalents
Plant Number
40
35
25
20
10
5
23
22
20
1
10
20
30
40
50

Fig. 1

elucidação consulte-se JAUHAR (1975), BUCKNER, POWELL e JAUHAR (1979) e KLEIJER (1982)]. É, no entanto muito provável que um dos dadores seja o *Lolium* e o outro tenha algo a ver com a *Festuca pratensis*, todos 2n=14. É, portanto, muito possível que durante o processo da formação dos híbridos que estamos a estudar e que são também alohexaploides se tenha operado uma reconversão de genómios da *Festuca arundinacea* de forma a incluir cromossomas inteiros (substituição) ou partes de cromossomas (recombinação) de *Lolium* e de *Festuca arundinacea*. Aos genómios mixtos que se formaram chamamos *mixogenómios*. Todas estas 54 plantas são meioticamente estáveis, formando, na maioria dos casos, 21 bivalentes e são férteis. No entanto, como é óbvio, elas estão ainda em segregação genética.

A variação no emparelhamento cromossómico que estas plantas manifestam poderá dever-se em certo grau a diferenças ambientais. No entanto, a grande amplitude dos valores observados bem como a sua variabilidade quase contínua levam-nos a crer que estará em causa um sistema poligénico. Por seu turno, o facto de toda esta variação se ter processado à custa do desequilíbrio da proporção entre bivalentes fechados (anéis) e abertos (bastonetes) sem intervenção aparente de univalentes leva a sugerir que esse sistema poligénico actue após a sinapse, alterando a distribuição dos quiasmata no bivalente (distribuição simétrica vs. assimétrica). Efeito semelhante foi descoberto por JONES e REES (1967) e VIEGAS (1980) em centeio e trigo, provocado por cromossomas B.

Terminamos esta nota chamando a atenção para esta via interessante e rápida de obter híbridos estáveis e férteis entre *Lolium* e *Festuca arundinacea*. Estamos crentes que os melhoradores estarão altamente interessados em praticá-la, uma vez que abre novos horizontes para a criação de plantas forrageiras adaptáveis a uma agro-pecuária moderna.

REFERÊNCIAS

BUCKNER, R. C., POWELL, J. B. e JAUHAR, P. P., 1979 — Cytogenetics and Genetics, *In* Tall Fescue, Buckner R. C. and Bush, L. P. (ed.) pgs. 93- 109.

JAUHAR, P. P., 1975 — Genetic control of chromosome pairing in polyploid fescues: its phylogenetic and breeding implications, pgs. 167-170. *In* B. Nüesch (ed.) Proc. EUCARPIA Conf. on Polyploidy in Fodder Plants. Zurich, Eucarpia Zurich-Reckenholz.

JONES, R. N. e REES, H., 1967 — Genotype control of chromosome behaviour in rye XI. The influence of B-chromosomes in meiosis. Heredity *22:* 333-347.

KLEIJER, G., 1982 — Cytogenetic studies of *Lolium multiflorum* LAM., *Festuca arundinacea* SCHREB., their hybrids and amphidiploids Ph. D. Thesis. Agricultural University, Wageningen, pg. 105.

VIEGAS, W., 1980 — The effect of B-chromosomes of rye on chromosome association in F_1 hybrids *Triticum aestivum x Secale cereale* in the absence of chromosome 5B or 5D, respectively. Theor. and Appl. Genet. *56:* 193-198.

BROTÉRIA-GENÉTICA, Lisboa, V (LXXX), 97-105 (1984)

INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS GENÉTICOS NA EFICIÊNCIA ECONÓMICA DA PRODUÇÃO DE SUÍNOS *

J. C. Antunes-Correia **, M. L. Paiva ** e J. S. Serra ***

SUMMARY

A production function for feeding pig units is defined considering the effects of average daily gain and feed conversion on fixed and variable costs. The simulation of a full range of combinations of these genetic parameters in the production function, generated a three dimensional surface, integrating the continuous variation of isocosts.

The mean values of a fattening experiment conducted in a performance test station, were used for the calculations of isocosts of Durocs, Belgian Landraces and Duroc x Belgian Landraces. The benefit heterosis of the hybrids was also determinated.

Thus, the methodologic aproach presented appears as a suitable one for the evaluation of genetic parameters on the bio-economic efficiency of swine production in a range of economic conditions since adequate ponderation coefficients are calculated.

O objectivo último de qualquer forma de produção animal é a procura da máxima eficiência bio-económica. Em função desta, são determinadas as preferências pelos tipos e sistemas de produção mais eficazes (HARRIS, 1970). Assim, em situações de alta competitividade, resultantes de condições económicas adversas, como as que vive presentemente a suinicultura portuguesa, mais imperiosa ainda se torna a necessidade de optimizar os sistemas produtivos.

** Centro de Produção Animal da U. T. L., E. S. M. V., Lisboa.

*** Morgado Pecuária, Leiria.

* (Trabalho subsidiado pelo INIC/PL_4).

(Agradecem-se as facilidades concedidas por Morgado Pecuária - Leiria, para a realização deste trabalho. Agradece-se também ao D.r. Faria dos Santos a gentil cedência de alguns indicadores económicos).

No presente trabalho analisamos essencialmente a eficiência de uma unidade de engorda de suínos. É determinada uma função de produção adaptada às condições económicas actuais e são simulados os efeitos que sobre ela têm alguns parâmetros genéticos, tais como o índice de conversão, ganho médio diário e qualidade da carcaça e da carne. Na realidade os condicionalismos próprios da presente conjuntura, impõem que a adopção de modelos bio-económicos estudados em situações diversas da portuguesa, só deverá ser feita depois de avaliados e introduzidas as necessárias adaptações. Através do modelo desenvolvido, faz-se a avaliação de raças. Esta avaliação pode ser estendida a reprodutores. planos de melhoramento genético, etc.

FÓRMULA GERAL DO BENEFÍCIO EM SUINICULTURA

O benefício obtido (B), é função das receitas (R), dos custos de produção (Cp) e dos custos de reprodução (Cr) (MOAV, 1965; DICKERSON, 1970) e poderá ser representado do seguinte modo:

$$B = R - Cp - Cr \qquad (1)$$

Os elementos desta equação são por sua vez função dos seguintes aspectos:

R = f (qualidade da carcaça + qualidade da carne)
Cp = f (eficiência de produção dos descendentes)
Cr = f (capacidade reprodutiva dos pais)

Cada um dos elementos constituintes da equação (1) é influenciado pelos genótipos do pai (P), da mãe (M) e da descendência (D), pelo que poderemos representar o benefício (B) por:

$$B = P\,(gp) + M\,(gm) + D\,(gd) \qquad (2)$$

Cada um destes genótipos pode afectar os componentes da fórmula 1, pelo que teremos

$$B = \sum_{j=1}^{3} \left[Pj\,(gp) + Mj\,(gm) + Dj\,(gd) \right] \qquad (3)$$

em que j se refere a diferentes variáveis da fórmula 1 e g pode representar os genes para uma única característica, ou o genótipo total. Se considerarmos I

caracteres diferentes para os quais possa haver uma contribuição de P, M ou D, então a fórmula tomará o seguinte aspecto

$$B = \sum_{i=1}^{I} \sum_{j=1}^{3} \left[Pij\,(gip) + Mij\,(gim) + Dij\,(gid) \right] \qquad (4)$$

Esta fórmula estabelece assim um quadro geral da produção em ciclo fechado, com análise de todas as fases desde a reprodução até à engorda.

FUNÇÃO DE PRODUÇÃO NUMA UNIDADE DE ENGORDA. IMPORTÂNCIA DO GANHO MÉDIO DIÁRIO E DO ÍNDICE DE CONVERSÃO

No presente trabalho vamos porém apresentar apenas os elementos referentes às características produtivas numa unidade de engorda. Adoptámos uma metodologia semelhante à de NAVEAU e col. (1976), em que o benefício nos é dado por:

$$B = nP_3 - [nP_2p_2 + nP_4 + CF], \text{ em que} \qquad (5)$$

$$n = \frac{1}{P_1 + D} \qquad (6)$$

P_1 — Duração da engorda em anos
P_2 — Kg alimento para engorda
p_2 — \$/Kg alimento
P_3 — Valor do porco ao abate
P_4 — Custo leitão
n — N.º bandos/ano
D — Duração do vazio sanitário em anos
CF — Custos financeiros

Deste modo

$$B = \frac{P_3 - P_2p_2 - P_4}{P_1 + D} - CF \qquad (7)$$

Nesta fórmula não são porém quantificados adequadamente os custos financeiros variáveis, dependentes sobretudo do valor dos leitões e dos custos de alimentação. Contudo nas actuais condições do crédito em Portugal, torna-se

indispensável levá-los em conta, atendendo à sua apreciável importância. Para um mesmo custo por quilograma do leitão, com um período de vazio sanitário constante e uma utilização contínua das instalações, o valor dos leitões e implicitamente os custos financeiros com a sua compra varia em função do ganho médio diário dos genótipos utilizados.

No Quadro I mostra-se a influência do ganho médio diário (G. M. D.), representado em gramas, sobre o número de bandos explorado numa unidade

QUADRO I

Variação do número de bandos de porcos e de quilogramas produzidos numa unidade de engorda com 100 lugares em função do ganho médio diário (G.M.D.) *

	G.M.D. (g)				
	500	600	700	800	900
Bandos/ano	2,3	2,8	3,2	3,6	4,1
Porcos/ano	230	280	320	360	410
Kg peso vivo/ano	23.000	28.000	32.000	36.000	41.000

* Considerou-se um vazio sanitário de 6 dias entre os bandos.

com 100 lugares de engorda. Verifica-se que com o seu aumento há um acréscimo no número de porcos em engorda, assim como no número de quilogramas produzidos. Há assim uma maior rentabilidade de cada lugar/porco/ano, pelo facto de se trabalhar com genótipos mais eficientes em termos de GMD. Mas porque se utiliza um maior número de leitões há uma maior incidência dos custos financeiros variáveis, os quais devem ser adequadamente contabilizados na função de produção.

Também o índice de conversão tem grande influência nos custos de produção. No Quadro II está representada a incidência que diferentes índices de conversão têm nos custos alimentares do aumento de peso. Assume-se que este é de 75 Kg e o custo unitário do Kg de ração é de 30$00.

A partir de condições económicas representativas, em termos estatísticos, da suinicultura portuguesa e referidas à data da elaboração deste trabalho (ANTUNES-CORREIA e col., 1984) foi assim possível calcular e introduzir os factores de ponderação adequados na fórmula (7). Determinou-se deste modo uma função de produção representada pela seguinte equação, a qual já contempla os condicionalismos apontados,

$$B = nP_3 - 1{,}13\ nP_2p_2 - 1{,}13\ nP_4 - CF - 585\ n \qquad (8)$$

QUADRO II

Influência do índice de conversão sobre os custos alimentares do aumento do peso entre os 25 e os 100 Kg

Índice de conversão (I.C.)	Kgs de alimento consumido (I.C. × 75 Kg)	Custos alimentares na engorda (I.C. × 75 × 30$00)
2,3	172,5	5 175$00
2,4	180,0	5 400$00
2,5	187,5	5 625$00
2,6	195,0	5 850$00
2,7	202,5	6 075$00
2,8	210,0	6 300$00
2,9	217,5	6 525$00
3,0	225,0	6 750$00
3,1	232,5	6 975$00
3,2	240,0	7 200$00
3,3	247,5	7 425$00
3,4	255,0	7 650$00
3,5	262,5	7 875$00
3,6	270,0	8 100$00
3,7	277,5	8 325$00
3,8	285,0	8 550$00
3,9	292,5	8 775$00
4,0	300,0	9 000$00

em que os símbolos das variáveis assumem os significados já referidos anteriormente em (5). Os custos variáveis desta equação são determinados directa ou indirectamente, pelo ganho médio diário e pelo índice de conversão. Nas receitas influem o preço do quilograma do porco, a qualidade da carcaça e da carne.

AS ISOQUANTAS DE CUSTOS

A partir desta equação e tomando uma situação de lucro 0, foram calculadas as isoquantas de custos, para vários preços do quilograma de porco vivo. Assim através da combinação de diversos valores dos preços do quilograma, dos ganhos médios diários e dos índices de conversão na função de produção gerou-se uma superfície tridimensional tal como se representa na Fig. 1.

As projecções num plano bidimensional (x, y) dos pontos que geram custos ou benefícios idênticos, definem uma série de isoquantas correspondentes aos diferentes custos de produção. Utilizando em abcissas o valor do ganho médio diário, foram encontradas linhas côncavas correspondentes às diferentes isoquantas. Estas não correspondiam à forma ideal de traçado e não respondiam aos problemas de escala levantados por WRIGHT (1952) e MOAV (1965). Por tal facto foi estudada a utilização em abcissas do número de dias em engorda, o qual está relacionado exponencialmente com o ganho médio diário.

Em consequência surgiu a representação das isoquantas da Fig. 2. Obteve-se uma série de rectas paralelas, permitindo uma mais fácil avaliação de reprodutores, em função das suas próprias performances.

AVALIAÇÃO DE REPRODUTORES EM RAÇA PURA E EM CRUZAMENTOS. UTILIDADE DO DIAGRAMA DE CUSTOS PARA ESTA AVALIAÇÃO

Construído este modelo torna-se possível fazer a avaliação de reprodutodes ou a sua comparação. Simultaneamente obtém-se uma tradução gráfica dos efeitos que se pretendem mostrar.

Decidimos por este motivo proceder à avaliação em termos de eficiência bio-económica de 37 reprodutores masculinos das raças Duroc, 32 da raça Branco Belga e 54 híbridos Duroc x Branco Belga. Os animais foram mantidos numa testagem individual, entre os 25 e os 100 Kg, com alimentação *ad libitum* com uma ração comercial única em todo o período de engorda. Foram efectuadas pesagens quinzenais e simultaneamente registados os índices de conversão ao longo de todo o período do teste. Os resultados apurados estão referenciados no Quadro III e mostram uma superioridade dos reprodutores Duroc

QUADRO III

Valores do ganho médio diário e índice de conversão observados em testagem individual de suínos Branco Belga, Duroc e Duroc × Branco Belga

	N.º de Animais	Ganho Médio Diário (Kg)		Índice de Conversão	
		Média ± Erro	D. Padrão	Média ± Erro	D. Padrão
BRANCO BELGA	32	0,685 ± 0,013	0,075	2,631 ± 0,033	0,192
DUROC	37	0,977 ± 0,015	0,061	2,380 ± 0,030	0,123
DUROC × BRANCO BELGA	54	0,935 ± 0,011	0,083	2,486 ± 0,028	0,207

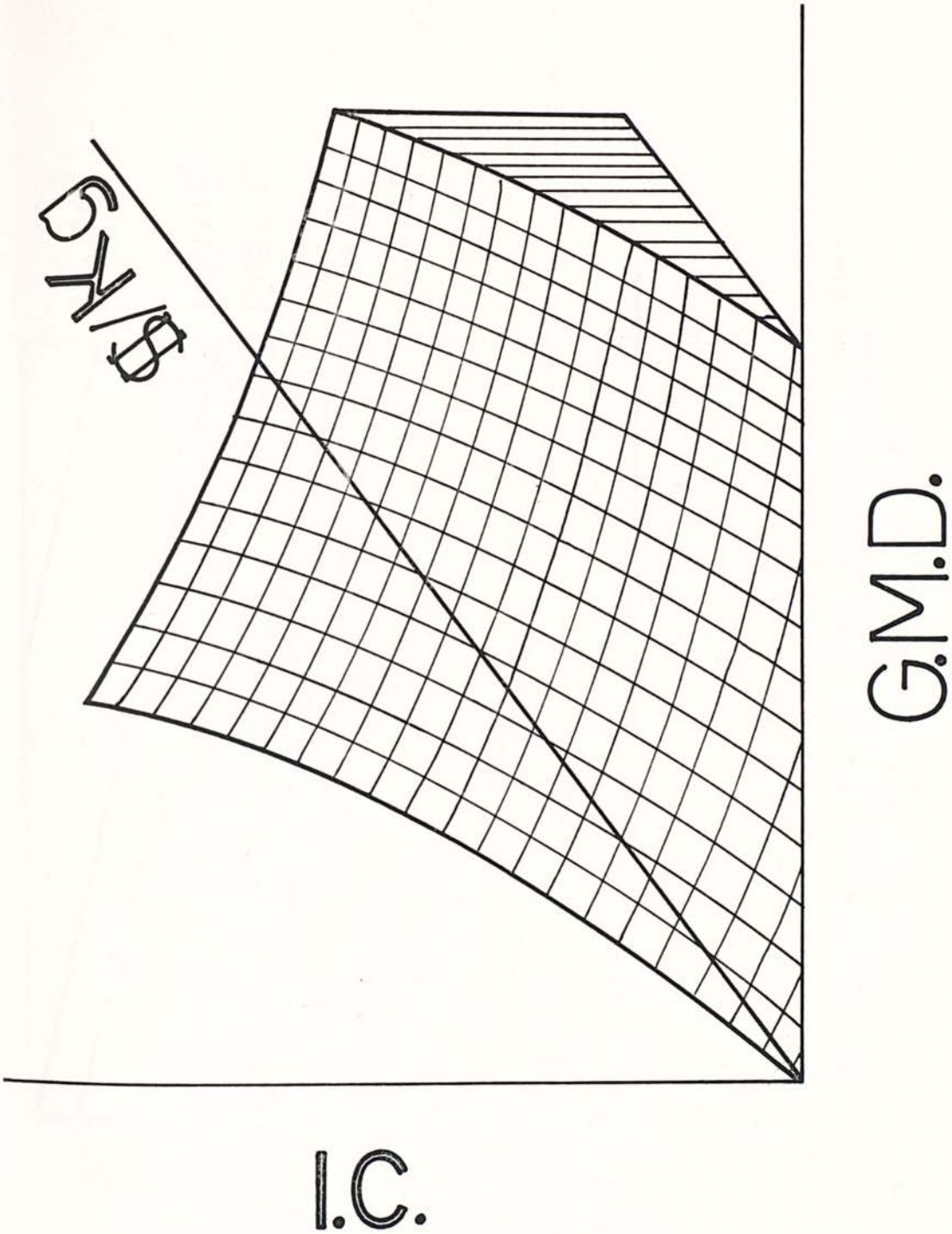


Fig. 1 — Representação tridimensional da função de produção (8) após simulação das variações no ganho médio diário, no índice de conversão e no preço de quilograma do produto final

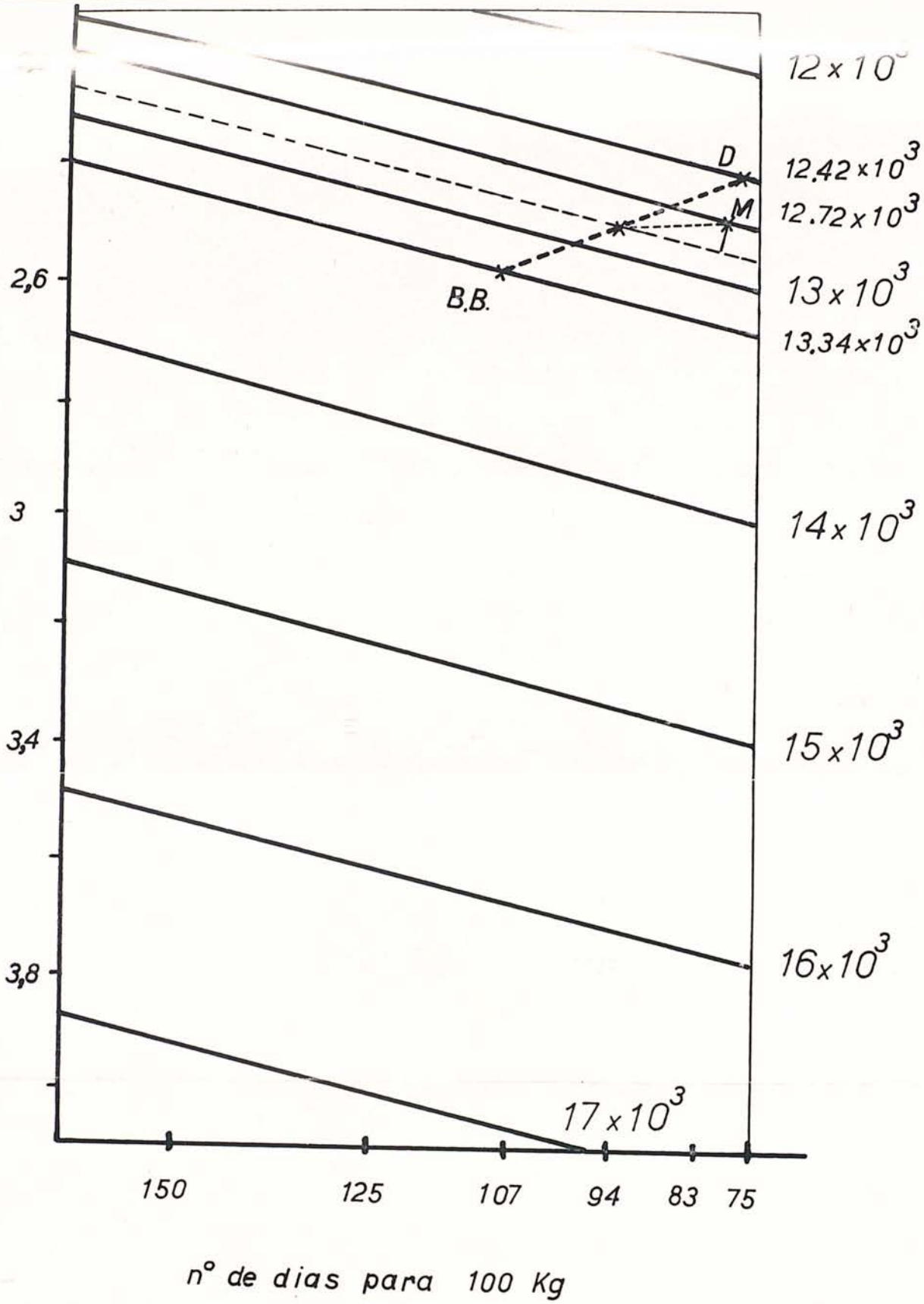


Fig. 2 — Isoquantas de custos correspondentes a diferentes combinações de ganhos médios diários e índices de conversão. Neste sistema são referenciados os reprodutores Duroc (D), Branco Belga (BB) e os híbridos Duroc × Branco Belga (M)

em termos do G. M. D. e I. C. em relação ao Branco Belga e diferenças menores em relação aos híbridos Duroc x Branco Belga.

Com a substituição destes valores na função de produção (8), foi possível traçar as isoquantas de custos correspondentes aos genótipos estudados e obter a sua situação relativa no sistema gráfico utilizado. Assumiu-se um valor constante de 4500$00 para o leitão, por nesta fase do trabalho ainda não termos estudado os custos de reprodução. A isoquanta correspondente aos animais de raça Duroc apresentou o valor de $12{,}42 \times 10^3$ escudos, a referente aos animais Branco Belga corresponde ao valor de $13{,}34 \times 10^5$ escudos e dos híbridos ao valor de $12{,}72 \times 10^3$ escudos. Deste modo e face exclusivamente aos elementos constantes do Quadro III, as isoquantas fornecem-nos uma gradação de benefícios entre estes grupos genéticos. Outros aspectos há porém a considerar como veremos adiante.

HETEROSE DO BENEFÍCIO

A representação gráfica proporcionada por este sistema, permite igualmente pôr em evidência a heterose do benefício. Esta mede-se de acordo com MOAV (1965), pelo desvio do benefício dos filhos em relação à média dos pais.

De acordo com a metodologia por nós utilizada, ela é representada pela diferença das isoquantas do custo e apresenta o valor de $0{,}16 \times 10^3$ escudos. Traduz essencialmente a contribuição da heterose individual do ganho médio diário, o qual de acordo com os valores médios apresentados no Quadro III é de 0,125. Esta componente geneticamente não aditiva tem assim a sua tradução na escala aditiva da equação do benefício (8).

EFEITO DA QUALIDADE DA CARCAÇA E DA CARNE NA AVALIAÇÃO DE REPRODUTORES

As isoquantas de custos foram, para efeito dos cálculos anteriores, assemelhadas às receitas numa situação de lucro nulo. As diferenças entre genótipos foram avaliadas em função destes condicionalismos. Deveremos porém atender a que as receitas da venda são função do valor comercial, que por sua vez é determinado pela qualidade da carcaça e da carne. Deste modo, numa avaliação mais completa das raças e cruzamentos que estamos a fazer, devemos entrar em conta com estes elementos.

É diferente o rendimento em carne e características da carcaça das raças e híbridos estudados. A classificação comercial portuguesa (J. N. P. P.) e da C. E. E. reflectem estas diferenças que servem de base ao estabelecimento de

preços diferenciais entre as diferentes categorias. Ainda que possa haver uma discrepância entre o valor real do rendimento em carne e o que lhe é atribuído pela aplicação dos parâmetros classificativos, existe sempre uma diferença apreciável na valorização comercial dos diferentes genótipos. Embora não tenhamos tido oportunidade de fazer um estudo comparativo sistemático e quantificado dos rendimentos dos três grupos genéticos estudados, podemos estabelecer qualitativamente que os animais Branco Belga e os híbridos Duroc x Branco Belga se apresentam ambos com características de hipermuscularidade o que leva à atribuição de um maior preço por quilograma. A qualidade da carne destes animais é diferente, apresentando o Branco Belga tendência para a produção de carnes pálidas, moles e exsudativas (P. S. E.), enquanto nos híbridos Duroc x Branco Belga este defeito se encontra corrigido (ANTUNES-CORREIA, 1984).

É bastante difícil estabelecer um preço diferencial entre os animais Duroc, Branco Belga e seus híbridos, uma vez que este é determinado pelas leis do mercado. Se admitirmos porém, que existe um acréscimo de pagamento de 10$00 por quilograma de peso vivo trará consigo uma diminuição nos custos de 10^3 escudos por porco de 100 quilogramas e modificação consequente da respectiva isoquanta em termos de avaliação de genótipos. Daí que a avaliação correcta de reprodutores, deva incluir também estes aspectos. O valor exacto a estabelecer, será consequência do modo como o mercado pagar a melhor qualidade de carcaça e da carne.

O sistema aqui apresentado permite assim fazer a simulação dos efeitos produzidos por modificações nos diferentes parâmetros genéticos que condicionam a eficiência produtiva do porco. Permite consequentemente avaliar reprodutores e sistemas de produção, em toda a gama de situações económicas. Bastará para tanto ser adaptado em função dos parâmetros observáveis nas condições da sua utilização.

BIBLIOGRAFIA

ANTUNES-CORREIA, J.C. (1984) — O Teste da Sensibilidade ao Halotano no Melhoramento da Qualidade da Carne do Porco, Rev. Port. Cienc. Vet. (em publicação)

ANTUNES-CORREIA, J.C., M.L. PAIVA e J. SERRA (1984) — Análise do Custo de Produção do Porco numa Unidade de Engorda. Consequências do Melhoramento Genético das Características Produtivas (mimeografado).

DICKERSON, G. (1970) Efficiency of Animal Production — Molding the Biological Components, J. Anim. Sci. 30:849-859.

HARRIS, D.L. (1970) — Breeding for Efficiency in Livestock Production: Defining the Economic Objectives, J. Anim. Sci. 30:860-865.

MOAV, R. (1966) — Specialised Sire and Dam Lines I. Economic Evaluation of Crossbreds, Anim. Prod. 8:193-202.

NAVEAU, J., M. FERRADINI, M. HAMELIN e G. DERIAN (1976) — Orientation Économique d'un Programme d'Amélioration Génétique des Porcs, 27e Reúnion Ann. F.E.Z. Doc. p. 32.

WRIGHT, S. (1952) — The Genetics of Quantitative Variability, Edição de Reeve e Waddington — London, Pgs. 5-42.

BROTÉRIA-GENÉTICA, Lisboa, V (LXXX), 107-114 (1984)

ESTATUTOS DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA

Capítulo I

Da Sociedade e seus fins

Art.º 1.º — Constitui-se, sob a designação de *Sociedade Portuguesa de Genética*, uma sociedade que agrupa as pessoas que se interessam pela Genética e se dedicam a estudos em qualquer dos seus aspectos.

§ único — A Sociedade terá a sua sede no Instituto Gulbenkian de Ciência, Rua da Quinta Grande, em Oeiras, enquanto a Sociedade não possuir instalações próprias.

Art.º 2.º — A Sociedade tem por objectivo promover o desenvolvimento e a difusão da Genética em Portugal. Para alcançar os seus fins, a Sociedade procurará apoiar e estimular, entre os cultores de Genética, nacionais e estrangeiros vinculados ao País, iniciativas tendentes à divulgação e ao intercâmbio de informação de carácter científico dentro dum contexto de entreajuda e aperfeiçoamento científico, obedecendo a um espírito de livre crítica científica. Para tanto, a Sociedade tomará a seu cargo fomentar, por si própria, ou com a colaboração da Universidade ou de outras Instituições públicas ou privadas que se dediquem à Genética, a realização de reuniões e simpósios científicos, a publicação de obras originais ou didácticas e outras quaisquer iniciativas tendentes a aumentar o conhecimento e a elevar o nível científico dos associados e da comunidade nacional.

Art.º 3.º — À Sociedade compete estabelecer relações com outras sociedades científicas paralelas ou afins, nacionais ou estrangeiras, podendo aceder a constituir com elas uniões ou federações nacionais ou supranacionais, para tal nomeando os seus representantes.

§ único — As relações da Sociedade com o Estrangeiro deverão conformar-se com a orientação da Direcção-Geral dos Assuntos Culturais, no uso da competênca que a Lei lhe confere.

Capítulo II

Dos Sócios

Art.º 4.º — Os sócios dividem-se em cinco categorias: *efectivos, honorários, beneméritos, correspondentes* e *agregados.*

Art.º 5.º — Serão sócios efectivos, além dos *fundadores,* todos os indivíduos residentes em território nacional, que forem aprovados como tal pela Direcção, sob proposta assinada de dois sócios efectivos que estejam em pleno uso dos seus direitos.

§ único — Serão considerados fundadores os sócios que estiverem inscritos à data da aprovação oficial dos Estatutos.

Art.º 6.º — Serão sócios honorários individualidades de reconhecido valor no campo da Genética, que a Sociedade deseje distinguir por serviços prestados à Ciência.

§ único — A admissão de sócios honorários far-se-á por votação da Assembleia Geral, após proposta subscrita pela Direcção ou por dez ou mais sócios efectivos ou agregados.

Art.º 7.º — Serão sócios beneméritos os indivíduos ou colectividades que contribuam com donativos ou serviços para o sustento ou desenvolvimento da Sociedade ou da Genética em Portugal.

§ único — A admissão de sócios beneméritos far-se-á por votação da Assembleia Geral após proposta subscrita pela Direcção ou por dez ou mais sócios efectivos ou agregados.

Art.º 8.º — Serão sócios correspondentes os portugueses ou estrangeiros residentes fora do território nacional, que se interessem pelos objectivos da Sociedade e contribuam para o seu prestígio e sejam aceites pela Direcção por proposta de dois sócios efectivos no pleno uso dos seus direitos.

§ único — Os sócios correspondentes que venham residir para o território nacional passarão à categoria de sócios efectivos se o requererem e forem aprovados como tal pela Direcção da Sociedade.

Art.º 9.º — Serão sócios agregados os estudantes universitários ou do Curso Complementar do Liceu que sejam aprovados como tal pela Direcção mediante proposta de dois sócios efectivos, no pleno uso dos seus direitos.

Art.º 10.º — Os sócios efectivos são obrigados ao pagamento duma quota cuja importância mensal será fixada pela Assembleia Geral. Os sócios agregados pagarão metade dessa quota.

§ único — Em circunstâncias especiais a Direcção poderá dispensar temporariamente e durante o seu mandato, qualquer sócio efectivo ou agregado, do pagamento de quota.

Art.º 11.º — Todos os sócios poderão assistir às reuniões da Sociedade.

§ único — Só os sócios efectivos terão direito a voto, a subscrever moções ou propostas e a ser eleitos para a Direcção e a Mesa da Assembleia Geral.

Art.º 12.º — Deixarão de ser sócios:

a) Aqueles que o desejarem, exprimindo-o por escrito à Direcção;
b) Os sócios efectivos e agregados que deverem quotas correspondentes a dois anos;
c) Os sócios que forem expulsos da Sociedade, por votação de dois terços da Assembleia Geral.

§ único — Poderão ser readmitidos todos aqueles que tiverem deixado de ser sócios, mediante proposta da Direcção aprovada pela Assembleia Geral.

Capítulo III

Da Orgânica da Sociedade

Art.º 13.º — Os órgãos da Sociedade são a Assembleia Geral, a Direcção e o Conselho Fiscal.

§ 1.º — A Assembleia Geral terá uma Mesa da Assembleia Geral.

§ 2.º — A Direcção, a Mesa da Assembleia Geral e o Conselho Fiscal são os corpos gerentes da Sociedade.

Secção I

Da Assembleia Geral

Art.º 14.º — A Assembleia Geral é constituída por todos os sócios efectivos e agregados no pleno uso dos seus direitos.

Art.º 15.º — A Mesa da Assembleia Geral será constituída por um Presidente, um Vice-Presidente e um Secretário, os quais serão eleitos por maioria de votos da Assembleia Geral entre os sócios efectivos no pleno uso dos seus direitos, por um período de dois anos.

O Vice-Presidente substituirá o Presidente nos seus impedimentos.

§ 1.º — Nenhum sócio poderá ser eleito para a Mesa da Assembleia Geral por mais de duas vezes consecutivas.

§ 2.º — As eleições serão feitas obrigatoriamente por escrutínio secreto.

Art.º 16.º — Ao Presidente da Mesa compete convocar as reuniões ordinárias ou extraordinárias da Assembleia Geral e orientar as discussões, fazendo respeitar as agendas.

Art.º 17.º — Ao Secretário da Mesa compete elaborar as agendas dos assuntos a discutir nas Assembleias Gerais e redigir as actas das sessões.

Art.º 18.º — A Assembleia Geral reunirá em sessão ordinária, por convocação feita com quinze dias de antecedência. Haverá uma reunião ordinária no último semestre de cada ano para discutir e votar o relatório e contas da Direcção, eleger novos corpos gerentes antes de terminarem os mandatos, e deliberar sobre todos os outros assuntos constantes da agenda. Procurar-se-á que esta sessão seja coincidente, no tempo e no local, com uma reunião de carácter científico, em que participem os membros da Sociedade.

Da convocatória constará o dia, a hora, o local da reunião e a agenda dos trabalhos.

Art.º 19.º — A Assembleia Geral reunirá em sessão extraordinária quando haja necessidade de abordar qualquer assunto de importância ou gravidade que justifique a consulta à Assembleia Geral, sempre que a reunião seja pedida por escrito pelo Presidente da Direcção ou por dez ou mais sócios efectivos. A Convocatória será feita com quatro dias de antecedência e dela constarão o dia, hora, local e motivo da reunião.

§ 1.º — Covocar-se-á uma Assembleia Geral extraordinária sempre que, por impedimento definitivo ou por demissão, haja necessidade de eleger nova Direcção ou algum dos seus membros, bem como novos membros da Mesa da Assembleia Geral.

§ 2.º — Nas reuniões extraordinárias não poderá ser tratado qualquer assunto que não conste da convocatória.

Art.º 20.º — A votação nas Assembleias Gerais far-se-á por contagem dos votos dos sócios efectivos presentes, sendo as decisões aprovadas quando tenham a maioria de votos.

§ único — O voto em eleições para a Direcção e para a Mesa da Assembleia Geral e para o Conselho Fiscal poderá ser enviado à Direcção, em carta fechada.

Art.º 21.º — À Assembleia Geral compete:

a) Eleger ou demitir os corpos gerentes ou algum dos seus membros;
b) Deliberar sobre a admissão de sócios honorários e beneméritos, a expulsão de qualquer sócio e a readmissão de ex-sócios;
c) Deliberar sobre todos os outros assuntos que lhe tenham sido apresentados, constantes na agenda.

Art.º 22.º — Quando, para uma reunião da Assembleia Geral, não estiver presente a maioria dos sócios com direito a voto, a Assembleia reunirá com qualquer número de sócios, em sessão realizada meia hora depois.

Secção II

Da Direcção

Art.º 23.º — A Direcção da Sociedade é constituída por: um Presidente, um Vice-Presidente, um Secretário, um Tesoureiro e dois Vogais.

§ 1.º — O Vice-Presidente substituirá o Presidente, e os Vogais substituirão o Secretário e o Tesoureiro, nos seus impedimentos.

§ 2.º — O Presidente poderá delegar a representação da Sociedade em reuniões internacionais num sócio efectivo ou correspondente de reconhecido prestígo.

Art.º 24.º — A Direcção é eleita entre os sócios efectivos no pleno uso dos seus direitos por maioria de votos da Assembleia Geral e terá a duração de dois anos.

§ 1.º — As eleições serão feitas obrigatoriamente por escrutínio secreto.

§ 2.º — Nenhum sócio poderá ser eleito por mais de duas vezes consecutivas.

Art.º 25.º — Compete à Direcção:

a) Promover a realização de reuniões ou outras quaisquer actividades que sirvam os objectivos da Sociedade;
b) Decidir sobre todos os assuntos da Sociedade que não careçam de sanção da Assembleia Geral;
c) Administrar os fundos da Sociedade;
d) Constituir, com a participação dos sócios, comissões de estudo ou grupos de trabalho para tratar de assuntos específicos de carácter científico ou outros que interessem à Sociedade, e coordenar a sua actividade;
e) Representar a Sociedade perante quaisquer órgãos e instituições oficiais ou privadas de carácter administrativo, jurídico ou científico;
f) Tomar a seu cargo as publicações da Sociedade;
g) Noticiar aos sócios acontecimentos de interesse geral para a Sociedade;
h) Admitir os sócios efectivos, correspondentes e agregados e propôr à Assembleia Geral a admissão de sócios honorários e beneméritos, bem como a expulsão de qualquer sócio e a readmissão de ex-sócios;
i) Admitir ou demitir quaisquer empregados da Sociedade e fixar os seus honorários.

Art.º 26.º — No final de cada ano a Direcção elaborará um relatório do qual constem as actividades e as contas da Sociedade para esse período. Deste relatório será enviado um exemplar a cada sócio, uma semana antes da data da sessão ordinária da Assembleia Geral, convocada para discussão daquele

Art.º 27.º — A Direcção ou qualquer dos seus membros poderão ser demitidos:

a) A seu pedido, dirigido por escrito ao Presidente da Mesa;
b) Por voto de desconfiança da Assembleia Geral.

§ único — Na falta simultânea do Presidente e Vice-Presidente da Direcção, o Presidente da Assembleia Geral tomará conta do expediente até um daqueles retomar as funções ou ser eleita nova Direcção.

Secção III

Do Conselho Fiscal

Art.º 28.º — O Conselho Fiscal é formado por um Presidente, um Secretário e um Relator os quais serão eleitos entre os sócios efectivos no pleno uso dos seus direitos, por maioria de votos da Assembleia Geral e por um período de dois anos.

§ 1.º — Nenhum sócio poderá ser eleito para o Conselho Fiscal por mais de duas vezes consecutivas.

§ 2.º — As eleições serão feitas obrigatoriamente por escrutínio secreto.

Art.º 29.º — Compete ao Conselho Fiscal:

a) Acompanhar a vida financeira da Sociedade examinando a escrita e o inventário dos bens pertencentes à Sociedade;
b) Nomear um dos seus membros para assistir, a título consultivo, às sessões da Direcção, quando se trate de deliberações que importem aumento de despesa ou redução de receita;
c) Estudar o relatório e contas da Direcção, elaborando sobre os mesmos o seu parecer que será enviado juntamente com aqueles a cada sócio, para servir de base da sua discussão e votação pela Assembleia Geral, convocada para tal fim.

Capítulo IV

Disposições diversas

Art.º 30.º — Os fundos da Sociedade são constituídos:

a) Pelas quotas dos sócios;
b) Por subsídios ou donativos de organismos ou entidades públicas ou privadas;
c) Pelo produto da venda de livros ou outros documentos editados pela Sociedade.

Art.º 31.º — Onde o número de sócios o justifique, a Direcção poderá, por proposta dos sócios residentes nessas áreas, nomear Delegações compostas por três desses sócios, as quais terão a função de incentivar e coordenar todas as actividades regionais ou locais da Sociedade.

Art.º 32.º — Os presentes estatutos poderão ser alterados por proposta da Direcção ou de trinta sócios efectivos, aprovada em Assembleia Geral.

§ único — Estas alterações deverão ser submetidas, antes de se efectivarem, à sanção das autoridades oficiais competentes e a outros trâmites legais necessários.

Art.º 33.º — Em caso de dissolução da Sociedade, os bens que esta possuir passarão para o poder duma outra Sociedade científica nacional, após prévio acordo da Assembleia Geral extraordinária convocada para esse fim.

Art.º 34.º — A Sociedade poderá, em casos excepcionais, patrocinar a organização de outras agremiações científicas, que nela se filiem, interessadas em assuntos especializados da Genética, cuja importância, desenvolvimento e número de praticantes justifiquem um agrupamento à parte.

BROTÉRIA-GENÉTICA, Lisboa, V (LXXX), 115-127 (1984)

SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA

FICHEIRO DE ACTIVIDADES DOS SÓCIOS

ALMEIDA, Licinia de Jesus de
Escola Secundária de Vila Real de Santo António, 8900 Vila Real de Santo António. Ensino Secundário.

ALMEIDA, Maria Leonor Osório Solano de
Instituto Gulbenkian de Ciência, Ap. 14; 2781 Oeiras Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Estrutura primária de ácidos nucleicos particularmente ácidos nucleicos de transferência de cloroplastos; localização de genes desses ácidos nucleicos no D. N. A. cloroplástico. G. M.

ALMEIDA, Maria Teresa
Museu, Laboratório e Jardim Botânico anexo à Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Métodos numéricos e de computador em Botânica, Taxonomia Numérica, Bancos de Dados, Taxonomia de plantas vasculares, Citotaxonomia. C. G.

ALMEIDA, Vasco Manuel Leal Martins de
Centro de Genética Humana e Biologia Social, Faculdade de Medicina, 4200 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Citogenética e Genética Humana. C. G. G. H.

ARCHER, Luís Jorge Peixoto
Instituto Gulbenkian de Ciência, Ap. 14; 2781 Oeiras Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: 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. G. M.

(*)

C.G.	Citogenética
G.A.	Genética e Melhoramento Animal
G.D.	Genética da Diferenciação e Desenvolvimento
G.E.	Genética das Populações e Evolutiva
G.H.	Genética Humana
G.M.	Genética Molecular e Microbiana
G.P.	Genética e Melhoramento de Plantas

BAGULHO, Francisco João Cortes
Estação Nacional de Melhoramento de Plantas, 7351 Elvas Codex. Linhas de Investigação: Melhoramento de cereais autogâmicos. G. P.

BAPTISTA, Manuel Bonet Monteiro
Departamento de Botânica, Instituto Superior de Agronomia, 1399 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Fixação do Azoto; Fisiologia Vegetal.

BAPTISTA, Maria Helena Serafim Guerreiro Brito
Inspecção-Geral de Ensino, Delegação Regional de Évora, Escola Preparatória André de Resende, 7034 Évora Codex. Ensino Secundário.

BARRADAS, Manuel Torres
Estação Nacional de Melhoramento de Plantas, 7351 Elvas Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Melhoramento de trigos, triticales, aveias e cevadas. G. P.

BARRADAS, Maria do Céu
Estação Nacional de Melhoramento de Plantas, 7351 Elvas Codex. Linhas de Investigação: Estudos citogenéticos em *Triticum* e *Hordeum*. C. G.

BENOLIEL, Luna Ruah
Escola Secundária Alfredo da Silva, 2830 Barreiro. Ensino Secundário.

BETTENCOURT, Aníbal Jardim
Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, Estação Agronómica Nacional, 2780 Oeiras. Linhas de Investigação: Genética da resistência à «ferrugem» em *Coffea;* Melhoramento de *Coffea arabica* para a resistência à «ferrugem». G. P

BOAVIDA, Maria Guida
Laboratório de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 1699 Lisboa Codex. Linhas de Investigação: Mapa Genético Humano; Estudos Cromossómicos nas populações. G. H. C. G.

BOELPAEPE, Robert Emile Angèle de
Laboratório de Ecologia Aplicada, Universidade dos Açores, 9502 Ponta Delgada Codex Açores. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Efeitos citotóxicos e mutagénicos de pesticidas ao nível da célula vegetal e animal. C. G.

BRANCO, João António Frazão Rodrigues
Departamento de Bioquímica, Faculdade de Ciências Médicas 1198 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Isolamento e caracterização química dos fotoprodutos do triptofano e estudo dos seus efeitos biológicos em estirpes de *Salmonella typhimurium* de Ames. G. M.

BRANDÃO, Celeste Fernandes da Silva
Instituto de Antropologia, Faculdade de Ciências, 4000 Porto. Linhas de Investigação: Estudo do endocruzamento em algumas populações humanas. Biologia e Ecologia das populações humanas. G. H. G. E.

CABRAL, Maria Antónia Sampaio Trigo
Serviço de Genética Médica, Faculdade de Medicina, 4200 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Genética Médica — citogenética das Leucemias. G. H.

CARDOSO, Maria Adelaide de Almeida S.
Instituto de Biologia Médica, Faculdade de Medicina, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Ultraestrutura celular e Citogenética Humana. G. H.

CARNEIRO, Ana Paula Capelas da Conceição
Centro de Estudos de Bioquímica e Fisiologia Animal, Instituto Rocha Cabral, 1200 Lisboa, Linhas de Investigação: Regeneração Hepática.

CARNEIRO, Maria Filomena L. I. M. N.
Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, Estação Agronómica Nacional, 2780 Oeiras. Linhas de Investigação: Indução de mutação em *Coffea arabica*, visando a resistência à ferrugem alaranjada; mutação para a patogenicidade na ferrugem alaranjada «Hemileia vastatrix». G. P.

CARNIDE, Olinda da Conceição Pinto
Divisão de Genética e Melhoramento de Plantas, Instituto Universitário de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001 Vila Real Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Estudos citológicos e Melhoramento de cereais (centeio, trigo e triticale). G. P.

CARVALHO, Maria da Assunção Siqueira de
Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 1699 Lisboa Codex, Linhas de Investigação: Estudo do mapa génico. Citogenética humana. C. G. G. H.

CARVALHO, Maria Egídia de Sousa Bettencourt de
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, 4000 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Sistemas autolíticos nos gram. +. Lise de *S. faecalis* induzido por enzimas muralíticas. G. M.

CARVALHO, Miguel António Ponces de
Rua da Bela Vista à Lapa, 55, 1200 Lisboa. Ensino Liceal.

CASTEDO, Sérgio Manuel Madeira Jorge
Serviço de Genética Médica, Faculdade de Medicina, 4200 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Genética Médica. Farmacogenética. Indução de anomalias cromossómicas por fármacos. G. H.

CASTRO, Maria Margarida Almeida Raposo
Instituto Biologia Médica, Faculdade de Medicina, 3049 Coimbra, Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Ultrastrutura celular e Citogenética Humana. G. H.

CATARINO, Fernando Pereira Mangas
Departamento de Botânica, Faculdade de Ciências de Lisboa, 1294 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Endopoliploidia na diferenciação de suculência salina. C. G. G. D.

CHAVECA, Maria Teresa Cardoso Marques da Cruz Franco
Faculdade de Farmácia, 1699 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Estudo genético da trissomia 21. C. G. G. H.

CONCEIÇÃO, Maria Helena Lopes Castanheira de Carvalho e S. da
Inspecção-Geral de Ensino — Delegação Regional de Lisboa, Av. Infante Santo, 68, 5.º F, 1300 Lisboa. Ensino Secundário.

CONDEÇO, Filomena Marques
Escola Secundária Rainha D. Leonor, 1700 Lisboa. Ensino Liceal. Linhas de Investigação: Marcadores bioquímicos em populações de peixes da costa portuguesa. G. E.

CORREIA, Aníbal Leal
Laboratório Químico, EPAC — Empresa Pública de Abastecimento de Cereais, 1000 Lisboa. Linhas de Investigação: Electroforese de proteínas dos cereais. Essa aplicação no melhoramento do trigo. G. M.

CORREIA, Jorge Calado Antunes
Departamento de Genética, Escola Superior de Medicina Veterinária, 1199 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Compensação de dosagem dos genes ligados ao sexo, polimorfismos bioquímicos em mamíferos e peixes. Melhoramento genético de porcos e coelhos. C. G. G. E. G. A.

COSTA, António Maurício Pinto da
Escola Secundária de Bocage, 2900 Setúbal. Ensino Secundário.

COSTA, José Eduardo Lima Pinto da
Instituto de Medicina Legal do Porto, Faculdade de Medicina, 4200 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Hereditariedade das impressões digitais. Genética da Psiquiatria. Criminalidade e Genética. G. H.

COUTINHO, Clarisse Domingues Graça Pereira
Escola Secundária de Moura, 7860 Moura. Ensino Secundário.

COUTINHO, Miguel Pereira
Departamento de Botânica, Instituto Superior de Agronomia, 1399 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Melhoramento da Videira particularmente no que se refere à resistência a doenças criptogâmicas. G. P.

CRUZ, Gil Silva
Departamento de Botânica, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Cultura de órgãos e tecidos com vista à indução de morfogénese e regeneração de plantas «*in vitro*». G. D.

CUNHA, Maria Fernanda Agostinho Gonçalves da
Escola Secundária de Almada (Pragal), 2800 Almada. Ensino Secundário.

CUNHA, Maria José Cabrita da Silva e
Escola Secundária João de Deus, 8000 Faro. Ensino Secundário.

FEIJÓ, Maria de Jesus Portas
Serviço de Genética, Hospital Egas Moniz, 1300 Lisboa. G. H.

FERNANDES, Abílio
Instituto Botânico, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049 Coimbra Codex. Linhas de Investigação: Citotaxonomia das plantas vasculares de Portugal. C. G.

FERNANDES, Maria Emília Queirós dos Santos Ribeiro
Faculdade de Medicina, 4200 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Estudo do Cariótipo nas Neoplasias Pulmonares e alterações do mesmo após terapêutica citostática. G. H.

FERNANDES, Rosa Maria Cabral Salgado da Cunha
Instituto Gulbenkian de Ciência, 2781 Oeiras Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Fagos Temperados de *Bacillus subtilis*.

FERREIRA, Margarida do Rosário D. D. Martins
Escola Secundária D. João de Castro, Alto de Santo Amaro, 1300 Lisboa. Ensino Liceal.

FIALHO, Maria da Graça Monteiro de Azevedo
Instituto Gulbenkian de Ciência, Apartado 14, 2781 Oeiras Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Genética da Produção de Bacitracina. G. M.

FIGUEIREDO, Maria Teresa Rangel de
Divisão de Genética e Melhoramento de Plantas. Instituto Universitário de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001 Vila Real Codex. Ensino Universitário. C. G. G. P.

FREITAS, Alberto Palyart do Carmo e
Departamento de Fitopatologia, Estação Agronómica Nacional, 2780 Oeiras. Linhas de Investigação: Fisiologia e genética de patogenicidade de *Puccinia recondita* do trigo. Resistência do trigo à *P. recondita*. G. P.

GONÇALVES, André Dias
Escola Secundária D. Pedro V, 1500 Lisboa. Ensino Liceal.

GONÇALVES, Maria Helena Lobo Maia
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, 4000 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Localização cromossómica de genes em procariotas *(B. subbtilis)*. G. M.

GONÇALVES, Maria Teresa Silva
Instituto Botânico, Universidade de Coimbra, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Cultura de tecidos vegetais «in vitro». G. D.

GRILO, Maria Leonor H. Teles
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, 4000 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Estudo da interacção nucleo-citoplasmática em mutantes deficientes na síntese da enzima citocromooxidase de *Neurospora crassa*, com o objectivo de obter informação sobre o mecanismo de regulação da síntese da enzima. G. M.

GUIMARÃES, Maria Ludovina Vieira Lopes Silva
Instituto Botânico, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Morfogénese em cultura de tecidos vegetais. Cariótipo em cultura de tecidos vegetais. C. G. G. P.

HAGENFELDT, Maria Manuela Duarte
Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 1699 Lisbboa Codex. Linhas de Investigação: Estudo do mapa génico. Doenças metabólicas. Diagnóstico pré-natal de anomalias do tubo neural. G. M. G. H.

HENRIQUES, Maria Susana
Escola Secundária Anselmo de Andrade, R. Garcia da Horta, 2800 Almada. Ensino Secundário.

INEZ, Maria de Lourdes Ulcêncio Fernandes Catroça
Escola Secundária da Amadora. Ensino Liceal.

ISIDORO, José Manuel Morais Ferreira
R. D. Manuel de Bastos Pina, 1, 2.º Dt.º, 3000 Coimbra. Ensino Secundário.

JÚDICE, Maria Luísa D. F. R. Alarcão
Direcção-Geral do Ensino Secundário, Av. 24 de Julho, 140-4.º, 1300 Lisboa. Ensino Liceal.

LAVINHA, João M. L. B.
Laboratório de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 1699 Lisboa Codex. Linhas de Investigação: Hemoglobinopatias; Mapa génico humano. G. H.

LEÃO, Maria Cecília de Lemos Pinto Estrela
Instituto Gulbenkian de Ciência, Ap. 14, 2781 Oeiras Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Termomicrobiologia. Produção de Etanol. G. M.

LUÍS, Maria da Cruz Ramos
Escola Secundária de Silves, 8300 Silves. Ensino Secundário.

LENCASTRE, Hermínia Garcez de
Instituto Gulbenkian de Ciência, Ap. 14, 2781 Oeiras Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Clonização de Genes de Esporulação de *Bacillus subtilis*. Mecanismo de transdução em *Bacillus subtilis*. Caracterização de mutantes de *Bacillus subtilis* resistentes ao fago SPPI. G. M.

LOPES, Amândio Joaquim Madeira
Instituto Gulbenkian de Ciência, Ap. 14, 2781 Oeiras Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Efeitos da temperatura e de antibióticos na morte e no crescimento de populações de leveduras. G. M.

LOUÇÃO, Maria Amélia Martins
Departamento de Botânica, Faculdade de Ciências, 1294 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Estudo fisiológico e citológico de uma possível associação simbiótica fixadora de N em *Ceratonia siliqua* (alfarrobeira). C. G.

MACHADO, Maria de Fátima Matias Sales
Instituto Botânico, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Cariossistemática de Plantas Superiores (gramineas). C. G.

MACHADO, Walter Goulão
Escola Secundária de Santa Maria do Olivai, 2300 Tomar. Ensino Secundário.

MADRUGA, Maria José R. Moisés
Direcção do Ensino Secundário, Av. 24 de Julho, 140-4.º, 1300 Lisboa. Ensino Liceal.

MAIA, José dos Santos Nascimento
INIA — CRIDA de Entre-Douro e Minho, Gualter, 4700 Braga. Linhas de Investigação: Melhoramento de milho, melhoramento de milho no sentido de resistência a doenças e pragas; melhoramento do milho no sentido do aumento em conteúdo de proteína. C. G. G. P.

MAIA, Maria de Fátima Valente Dias Pereira Batista
Escola Secundária do Entroncamento 2330 Entroncamento. Ensino Secundário.

MALHEIRO, Maria Isabel da Silva Nogueira Bastos
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, 4000 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Cromossomopatias. G. H.

MARQUES, Duarte Victorino

Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, Estação Agronómica Nacional, 2780 Oeiras. Linhas de Investigação: Análise genética e transferência de genes de resistência em *Coffea sp.* Cultura de tecidos de plantas *in vitro*, nomeadamente do gén. *Coffea*. G. P.

MARTINS, Antero Lopes

Departamento de Botânica, Instituto Superior de Agronomia, 1399 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Melhoramento da videira em relação à resistência a doenças criptogâmicas, selecção clonal da videira. G. P.

MARTINS, Deolinda da Costa

Instituto de Higiene e Medicina Social, Faculdade de Medicina, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Níveis e evolução de imunoglobulinas e antitoxinas nas populações. G. E.

MARTINS, João Manuel Neves

Departamento de Botânica, Instituto Superior de Agronomia, 1399 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Caracterização, Selecção e melhoramento do Gen. *Lupinus*. Estudo da variabilidade em alcalóides, teores proteicos e teores em óleo do *L. albus*, *L. luteus* e *L. augustifolius*. G. P.

MONTEIRO, Isabel Maria Silva

Instituto Superior de Agronomia 1399 Lisboa Codex.

MONTEIRO, Luís Sieuve

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, 4000 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Genética de sistemas de controlo; Crescimento e eficiência alimentar. G. A. G. E.

NEVES, João Cláudio Martins das

Av. João das Regras, 72-3.º, Santa Clara, 3000 Coimbra.

NEVES, João Vasco E. Roxo

Rua C — Bloco 21-5.º, Dt.º Queluz Ocidental, 2745 Lisboa. Ensino Liceal.

OLIVEIRA, Maria Helena Severino Moniz de

Escola Secundária de Angra do Heroísmo, 9700 Angra do Heroísmo. Ensino Secundário.

ORMONDE, José Eduardo Martins

Museu, Laboratório e Jardim Botânico anexo à Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de nvestigação: Taxonomia das plantas vasculares da Macaronésia. C. G.

PACHECO, Osvaldo Tadeu Simões
R. Rainha D. Amélia, 31, 9700 Angra do Heroísmo. Linhas de Investigação: Genética com aplicação aos problemas evolutivos. G. E.

PAIVA, Isabel Maria Palaio de Freitas Rodrigues
Instituto Botânico, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Cultura de tecidos vegetais (cultura de anteras para indicação de androgénese). C. G. G. P.

PAIVA, Jorge Américo Rodrigues de
Instituto Botânico, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Citotaxonomia e biossistemática de plantas vasculares; aeropalinologia. C. G.

PARANHOS, António Henrique da Silva
Instituto Botânico, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049 Coimbra Codex. Linhas de Investigação: Cultura de células e tecidos com vista à indução de morfogénese e ao estudo da diferenciação celular *in vitro*. G. D.

PAVEIA, Helena
Grupo de Botânica, Faculdade de Ciências, 1200 Lisboa. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Estudo da utilização da L-arabinose em *Bacillus subtilis*. G. M.

PENEDA, Isabel Maria de Salles Guerra Jonet de Almeida
INIA — Estação Agronómica Nacional, 2780 Oeiras. Linhas de Investigação: Localização de genes responsáveis por caracteres componentes da produção em trigo hexaploide. C. G. G. P.

PEREIRA, António da Silva Pinto de Nazaré
Departamento de Microbiologia e Tecn. Prod. Aliment., Instituto Universitário de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001 Vila Real Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Mobilização microbiológica de recursos naturais, selecção e caracterização de m.o. para usos biotecnológicos. Estudo de mecanismo de controlo. G. M.

PIMENTA, Maria Celestina D. C. dos Santos
Instituto Botânico, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049 Coimbra Codex. Linhas de Investigação: Cultura de tecidos vegetais *in vitro*, (Diferenciação Citogenética). G. D.

PINTO, Henrique Guedes
Divisão de Genética e Melhoramento de Plantas, Instituto Universitário de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001 Vila Real Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Citogenética de Cereais (triticale, trigo e centeio), com particular incidência em aspectos de estabilidade cromossómica de diploides e de emparelhamento cromossómico; melhoramento do Triticale e trigo. C. G. G. P.

PINTO, Maria Helena Pratas Freire de Castilho da Silva
Escola Secundária N.º 1 de Beja, 7800 Beja. Ensino Secundário.

PINTO, Mary Claire Dolan Ferreira
Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 1699 Lisboa Codex. C. G.

PONTE, Maria da Graça Soares Rego
Escola Secundária Antero de Quental, Largo Mártires da Pátria. Ponta Delgada, 9500 Ponta Delgada (Açores). Ensino Secundário.

QUEIROZ, Maria Clara de Almeida de Barros
Departamento de Botânica, Faculdade de Ciências, 1200 Lisboa. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Mutação. Processo de expressão da mutação. G. M.

QUEIROZ, Maria Margarida Marini A. A. Vilar
Instituto Botânico, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Citotaxonomia das Plantas espontâneas e subespontâneas da flora de Portugal. C. G.

RAPOSO, Joaquim Luís Duarte
Faculdade de Ciências Médicas, 1198 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Rastreio de Hipotiroidismo congénito. G. H.

REBIMBAS, Maria do Céu Tavares
Instituto de Antropologia, Faculdade de Ciências 4000 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Estudo dos coeficientes de consanguinidade das populações e sua evolução e o polimorfismo genético dessas mesmas populações. G. H.

REYS, LESSEPS José António Lourenço
Instituto de Medicina Legal de Lisboa, Faculdade de Medicina, 1100 Lisboa.Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Estudo de marcadores genéticos; Aplicações da genética em medicina forense: na identificação e estabelecimento de filiação. G. H.

RIBEIRO, Maria João Prata Martins
Instituto de Zoologia, Faculdade de Ciências, 4000 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Genética. Bioquímica em Salmonídeos.

RIBEIRO, Ruy André Ferreira de Figueiredo
Departamento de Genética, Escola Superior de Medicina Veterinária, 1199 Lisboa Codex. Ensino Universitário. G. A.

ROMANO, Maria da Conceição Gonçalves Silva
Estação Nacional de Melhoramento de Plantas, 7351 Elvas Codex. Linhas de Investigação: Citogenética de Trigo. Localização de genes em trigo cuja interferência tenha repercussão no melhoramento deste cereal. Estudos relativos à produção de trigo híbrido. C. G. G. P.

ROMÃO, José Manuel da Luz
Instituto Botânico, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049 Coimbra Codex. Linhas de Investigação: Replicação e estrutura do cromossoma eucariótico. C. G.

ROSA, Maria Isabel Borrego Franco da
Escola Secundária de Sebastião e Silva, 2780 Oeiras. Ensino Liceal.

ROSÁRIO, Jorge Luís A. Lopes do
Departamento de Genética. Faculdade de Ciências Médicas, 1198 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Rastreios de doenças genéticas. C. G. G. H.

RUEFF, José A.
Departamento de Bioquímica, Faculdade de Ciências Médicas, 1198 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Mutagénese ambiencial, Cancerigénese. G. M. G. D.

SALAVESSA, João José Duarte Santos
Departamento de Genética, Escola Superior de Medicina Veterinária, 1199 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Melhoramento genético de coelhos, polimorfismos bioquímicos em mamíferos. G. A.

SAMPAYO, Tristão José de Mello de
Instituto Gulbenkian de Ciência, Apartado 14, 2781 Oeiras Codex. Linhas de Investigação: Citogenética do Trigo. C. G.

SANTOS, Ana Cristina Pessoa Tavares dos
Instituto Botânico Júlio Henriques, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Área da Fisiologia Vegetal. G. D.

SANTOS, António Manuel Amorim dos
Instituto de Antropologia, Faculdade de Ciências, 4000 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Marcadores Genéticos Humanos; Genética Populacional Humana; Localização Cromossómica de Marcadores. G. H. G. E.

SANTOS, Heloísa Gonçalves dos
Unidade de Genética, Serviço de Pediatria, Hospital de Santa Maria 1600 Lisboa. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Genética Médica. C. G. G. H.

SANTOS, Ilda Maria Barros dos
Instituto Gulbenkian de Ciência. Apart. 14, 2781 Oeiras Codex. Linhas de Investigação: Fagos temperados de *Bacillus subbtilis*. G. M.

SANTOS, Maria do Carmo d'Almeida da Costa Marques dos
Escola Secundária de Rio Maior. 2040 Rio Maior. Ensino Secundário.

SANTOS, Mário Manuel Carmo de Almeida
Departaemento de Biologia Vegetal, Faculdade de Ciências, 1294 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Mecanismos de adsorção fágica. Homologia entre fagos de *Bacillus subtilis*. G. M.

SARAIVA, Alzira Maria Rascão
Escola do Magistério Primário de Lisboa. Ensino Secundário.

SEQUEIROS, António Jorge dos Santos Pereira de
Departamento de Genética, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, 4000 Porto. Ensino Universitário. Citogenética Clínica. Linhas de Investigação: Cromossopatias, Polineuropatia Amiloidóica Familiar, Doença de Machado-Joseph. C. G. G. H.

SILVA, Alberto Manuel Barros da
Serviço de Genética Médica, Faculdade de Medicina, 4200 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Genética Médica. Citogenética de meioses humanas. Factores genéticos na infertilidade masculina. C. G. G. H.

SILVA, Maria Cecília Cabeça
Instituto Gulbenkian de Ciência, Apartado 14, 2781 Oeiras Codex. Linhas de Investigação: Acção do etanol e da temperatura na mutação para deficientes respiratórios em leveduras. G. M.

SILVA, Maria Odete Gomes Rodrigues da
Escola Secundária de Santiago do Cacém. 7540 Santiago do Cacém Ensino Secundário.

SILVA, Rui Vidal Correia da
Faculdade de Farmácia, 1699 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Caracterização e estudo de ácidos ribonucleicos ribossomais de P. M. baixo (2S a 6S, excluindo 4S), nomeadamente por sequenciação de RNA e DNA estudo de plasmídeos e de DNA mitocondrial por Engenharia Genética. G. M.

SOUSA, Luzia Maria da Costa
Instituto de Antropologia. Faculdade de Ciências. 4000 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Polimorfismos humanos. G. H.

TAVARES, Amândio Gomes Sampaio
Serviço de Genética Médica, Faculdade de Medicina, 4200 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Citogenética do intersexo no homem. Genética das malformações congénitas multifactoriais. Efeitos populacionais da acção médica e do conselho genético. Genética do cancro. C. G. G. H. G. E.

TAVARES, Maria do Carmo Valenzuela Sampaio
Serviço de Genética Médica, Faculdade de Medicina, 4200 Porto. Linhas de Investigação: Citogenética em Patologia Humana, Estudos dos cromossomas humanos em bandas finas. C. G. G. H.

TAVARES, Maria da Purificação Valeuzuela Sampaio
Serviço de Genética Médica. Faculdade de Medicina, 4200 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Genética Médica. Genética e citogenia dos casais com esterilidade ou abortamentos de repetição. Aconselhamento genético e sem efeito Bio-social. G. H.

TEIXEIRA, Rogério dos Santos Cardoso
Instituto de Biologia, Faculdade de Medicina, 3000 Coimbra. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Pesquisa de doenças monofactoriais, multifactoriais e por aberrações cromossómicas. Aconselhamento Genético. G. H.

TRINCÃO, Jacinta Amália Valente Rato Vieira
Escola Secundária de Torres Novas. 2350 Torres Novas. Ensino Secundário.

VELOSO, Maria das Mercês Silva e Sousa de Matos
Escola Secundária de Caldas da Rainha. Rua Maria dos Cacos-Bairro dos Arneiros. 2500 Caldas da Rainha. Ensino Secundário.

VICENTE, Joaquim Adelino Ferreira
Instituto Botânico, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Citogenética (Banding) — em fase de iniciação de investigação nessa linha. C. G.

VIEIRA, Dina Manuela da Trindade Morais Masseneiro
Rua Henry Delgado, 6, r/c. Dt.º, 2775 Parede. Ensino Liceal.

VIEIRA, Maria da Graça Calisto Laureano Santos Alves
Grupo de Botânica, Faculdade de Ciências, 1200 Lisboa. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Mecanismos moleculares da transdução de *Bacillus subtilis* pelo bacteriófago PBS1. G. M.

VIEIRA, Maria Rita de Almeida Madeira Clemente da Mota
Instituto Botânico, Faculdade de Ciências e Tecnologia. 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Citogenética do Triticales. Cultura de tecidos e protoplastos em cereais. C. G. G. P.

VOUGA, Luís Carlos Ferreira Pinto
Serviço de Genética Médica, Faculdade de Medicina, 4200 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Citogenética Humana. Esterilidade masculina, do ponto de vista genético. Cardiopatias congénitas. C. G. G. H.

WARDEN, Juana
Laboratório de Botânica, Faculdade de Ciências, 1294 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Estudo dos mecanismos de controlo da actividade meristemática no *Bryophyllum*. Estudo da variação da endopoliploidia em *Bryophyllum*. C. G. G. D.