

BROTÉRIA GENÉTICA

REVISTA QUADRIMESTRAL

ÓRGÃO DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA

Subsidiada pelo

Instituto Nacional de Investigação Científica



ÓRGÃO DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA

CONSELHO DE REDACÇÃO:

Prof. Dr. Luis J. Archer (Director e Proprietário)
Cristina Marinho (Secretária)
Prof. Dr. Jorge Antunes-Correia
Prof. Dr. Miguel Pereira Coutinho
Eng.º Tristão Mello-Sampayo
Prof. Dr. Luis Sieuve Monteiro
Prof. Dr. Amândio S. Tavares

ADMINISTRADOR: Januário Geraldes

CONDIÇÕES DE ASSINATURA PARA 1986

Portugal: Esc.: 600\$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. 250\$00

REDACÇÃO E ADMINISTRAÇÃO:

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

Composto por Rolo, artes gráficas e fotocomposição
Rua Maria, 48-3.º 1100 Lisboa (aos Anjos)

ÍNDICE

TEMAS EM FOCO

- A Conjugação na Levedura 5
por *A. Madeira-Lopes*

ARTIGOS GERAIS E DE REVISÃO

- Ethical Questions Relating to Genetic Engineering in Humans 7
por *Luis Archer*

ARTIGOS DE INVESTIGAÇÃO

- Sur la Caryologie de *Lavandula Latifolia Medicus*.
II—La Microsporogénese chez les plantes du Portugal à $2n=24, 50, 54$, et 60 13
por *A. Fernandes e M. Teresa Leitão*
- Diversidade Fenotípica em *Lupinus Albus L.* da Região Mediterrânica 41
por *J. M. Neves Martins, or J. A. Simpson*
- A Testagem da Descendência nos Bovinos Leiteiros do tronco Frisia em Portugal.
I—Correcção de Factores Ambientais 55
por *L. Sieuve Monteiro*

A CONJUGAÇÃO NA LEVEDURA

A. MADEIRA-LOPES

As células haplóides da levedura *Saccharomyces cerevisiae* classificam-se em dois tipos sexuais, **a** e α , que são controlados pelos alelos codominantes, respectivamente, **MATa** e **MAT α** , localizados no cromossoma III.

Quando se misturam células haplóides **a** e células haplóides α dá-se uma aglutinação sexual, isto é, uma agregação de células em números aproximadamente iguais de cada tipo. Os ciclos mitóticos, em curso em cada célula, param em G1 devido à acção de substâncias peptídicas específicas, com onze a treze aminoácidos (feromonas sexuais), sintetizadas pelo outro tipo sexual. Dá-se então a conjugação **a** \times α , que se detecta pela formação de zigotos, caracterizados pela sua morfologia que faz lembrar os desenhos com que se costuma representar fantasmas (ver figura). É interessante notar que, quando as células **a** e α de um par se encontram em fases diferentes do ciclo mitótico, aquela que primeiro atingir G1, aguarda que a outra também lá chegue, dando-se então a plasmogamia. Segue-se a cariogamia e, eventualmente, a cromossomogamia (com meiose e esporulação) que origina novas células haplóides, contidas num asco, e fechando-se assim o ciclo meiótico (Brotéria Genética 2, 83-84, 1981).

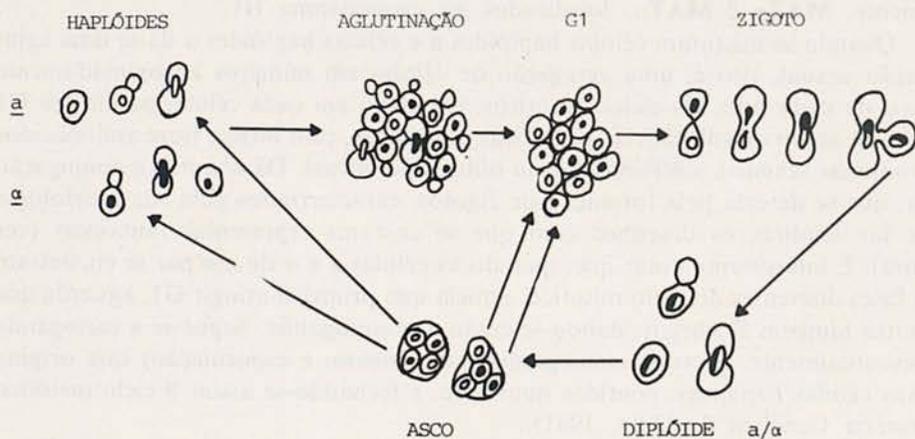
A feromona α estimula, nas células **a**, a síntese da feromona **a** e também a síntese doutras proteínas inactivantes da própria feromona α (Microbiological Sciences 3, 45-49, 1986). Além das feromonas e dos seus receptores, há, no fenómeno da aglutinação, a interferência doutras substâncias específicas de **a** e de α , que asseguram o contacto célula a célula, indispensável para a formação dos zigotos. Trata-se de glicoproteínas cujos pesos moleculares à superfície das células são inferiores aos encontrados quando as substâncias ainda estão no citoplasma (Archives of Microbiology 140, 113-119, 1984).

A expressão dos genes responsáveis pelas substâncias específicas dos sexos é controlada, supostamente ao nível da transcrição (Annual Review of Microbiology 37, 623-660, 1983), pelos produtos dos genes **MAT**. Estes, por seu lado, só são expressáveis (e são-no constitutivamente) se transpostos para outra região do mesmo cromossoma (Brotéria Genética 2, 83-84, 1981). Nos haplóides **a**, contendo os genes **MATa 1** e **MATa 2**, as funções específicas de **a** (**a-sfs**) são expressas constitutivamente, mas as α -**sfs** não são expressas devido à ausência de **MAT α 1**, cujo produto induz a síntese das α -**sfs**. Nos haplóides α , contendo os genes

MAT α 1 e **MAT α 2**, as **a-sfs** são reprimidas pelo produto de **MAT α 2** mas as α -sfs são induzidas pelo produto de **MAT α 1**. Nos diplóides, **a/ α** , o produto de **MAT α 2** reprime as **a-sfs** enquanto que os produtos de **MAT α 2** e de **MAT α 1**, em conjunto, levam a cabo a repressão da função de **MAT α 1** e permitem a expressão das funções específicas dos diplóides, tais como capacidade de meiose e esterilidade (Microbiological Sciences 3, 45-49, 1986).

As leveduras ascosporigénicas onde se encontraram sistemas de regulação sexual com feromonas incluem espécies dos géneros *Pichia* e *Hansenula*, além de *Saccharomyces*.

Desconhece-se ainda se existirá algum sistema central de regulação da síntese das substâncias específicas de cada tipo, mas já se encontrou um gene capaz de estimular as várias actividades sexuais.



ETHICAL QUESTIONS RELATING TO GENETIC ENGINEERING IN HUMANS(*)

LUÍS ARCHER

I—INTRODUCTION

My professional experience in prokaryotic genetic engineering⁽¹⁾ together with my education in philosophy and theology⁽²⁾, introduced me into several international committees dealing with ethical problems related to genetic engineering⁽³⁾.

With this background, I would like to address myself to some of the ethical constraints imposed to future developments of genetic engineering applied to humans.

Some of these applications are easily condemned, for the time being, by some committees, on the basis of the present lack of scientific knowledge and/or of safety conditions. Differently, my approach will try to devise the day when such knowledge and conditions are in existence, and to ask, for those conceivable situations, which ethical barriers, if any, should be set.

This approach has obvious difficulties. However, I am persuaded that if ethical discussions were to be initiated only after technical feasibility is at hand, we might then find, once more, that they started too late to be fully effective.

II—SCIENTIFIC BACKGROUND

There are five main levels to be considered in the applications of genetic engineering⁽⁴⁾ to humans:

1. *Gene therapy in somatic cells*

In this kind of therapy, recombinant DNA is introduced into somatic cells of a human subject with the intent of stably modifying a deficient section of the subject's genome.

(*) Communication presented to the European Parliament in Brussels on March 21, 1986.

In the case, for instance, of patients suffering from certain blood diseases, it will be possible to remove some of their bone marrow cells, treat those cells *in vitro* by healthy human DNA, cloned by genetic engineering, and then reintroduce the cured cells into the bone marrow of the patients. They will be cured from the disease.

Detailed studies are sufficiently advanced as to allow, in certain cases, to practice somatic cell gene therapy in humans. The National Institutes of Health in the U.S. (NIH) already published revised versions of the «Points to Consider in the Design and Submission of Human Somatic-Cell Gene Therapy Protocols»⁽⁵⁾.

2. Gene therapy in cells of the germ line

Even after being cured from a particular disease by somatic-cell gene therapy, a human subject will keep transmitting the same disease to his offspring. To prevent such transmission he would need to undergo gene therapy in cells of the germ line.

This kind of therapy is currently the object of very active research, with animals, in a good number of leading laboratories. The main strategy includes the use of artificial pseudoviruses constructed by *in vitro* assembly of nucleic acids and proteins. The nucleic acids contain the gene to be introduced, flanked by DNA sequences so designed as to facilitate integration at the right *locus*, and a regulatory region for the appropriate control of the gene's expression. The proteins of the pseudovirus are designed as to give to the particle an exclusive and specific affinity to the target cells — the male germ-line cells.

In this way it is expected that, within a decade or so, male germ-line cells of some patients might be corrected in their genes, so that the corresponding offspring is also free from the specific disease.

3. Gene therapy in embryos

This kind of therapy, to be connected with human *in vitro* fertilization, is far more difficult, and distant in time for applicability to humans.

Genes microinjected into the male pronucleus of newly *in vitro*-fertilized ova, in animals, did integrate in their genomes, were transmitted to the progeny, and expressed⁽⁶⁾. However, such gene integration takes place just in a fraction of the microinjected ova.

4. Enhancement of desirable human traits

From the concept of therapy, which implies a «disease», we could go over to the idea of the enhancement of traits which constitute limiting factors of human development, or may be the object of personal preferences.

Technically, this is, of course, much more difficult. Present scientific knowledge gives hope to interfere in the genetic make-up of humans just in cases of identifiable single gene traits, and only after an exhaustive knowledge of its molecular structure.

As leading scientists point out, «Intelligence, personality, fertility, organ structure, and physical, mental, and emotional characteristics are all presumably controlled or influenced by vast arrays of genes about which we know little or nothing. There are dozens (hundreds?) of genes within every cell that make regulatory substances used by the cell in unknown ways. We do not know what the substances are, how they work, or what genes are involved. Any planned alteration of multigenic traits will not be accomplished by gene therapy for many decades to come, if ever» (7).

Nevertheless, we will envisage, for our discussion purposes, the time when scientific knowledge is such as to enable us to interfere with characteristics as size, muscular strength, or even decision power, and capacity for abstract thinking.

5. «Betterment» of the human species

Even more remote, but yet still thinkable, is the question of the scientifically planned betterment of human nature.

With this same propose, was «Eugenics» proclaimed as scientific doctrine, at the end of last century, specially by Francis Galton and coworkers⁽⁸⁾.

The abuses and extreme consequences of this doctrine, not only in Hitler's time but also in the scandal of many thousands of compulsory sterilizations, projected a shadow of discredit over eugenics.

Modern gene technology, however, may well bring eugenics to revive, although in a completely new form. Old eugenics, even when theoretically divided into negative and positive forms, was interfering only indirectly with the evolution of our species, by selecting the human genetic crosses.

But if gene technology is one day able to alter the human genetic make-up in a direct and oriented fashion, we will have to face the grave ethical questions posed by a far more powerful type of eugenics.

III—ETHICAL CONSTRAINTS

The first item of the previous section doesn't cause special concerns from the ethical point of view.

After a two-year period of public deliberations and hearings, the Office of Science and Technology Assessment of the U.S. published a Report⁽⁹⁾ which states the following on somatic-cell gene therapy: «Civic, religious, scientific, and medical groups have all accepted, in principle, the appropriateness of gene therapy of somatic cells in humans for specific genetic diseases. Somatic cell gene therapy is seen as an extension of present methods of therapy that might be preferable to other technologies».

For any kind of gene therapy it is assumed, of course, that work in humans is only ethical to begin when successful experimentation in animals assures that benefits and risks stand in a favorable ratio. This is a general and universal principle expressed in the Nuremberg Code⁽¹⁰⁾ and in the Belmont Report⁽¹¹⁾.

For the cases under discussion, this principle means that it should be assured, prior to work in humans, that sufficient knowledge accumulated through animal experimentation as to allow insertion of the new gene into proper target cells, and in such a way that (i) it remains there, (ii) it is appropriately regulated, and (iii) it doesn't harm the cell⁽¹²⁾.

These conditions are now sufficiently fulfilled in some cases of somatic-cell gene therapy. As soon as the same happens to therapy of the germ-line cells, and assuming that no moral concerns develop from the procedure itself, there is no reason for ethical objections.

With the above mentioned assumptions in mind, I would like to go over to the two or three last items of the previous section, and raise questions like the following:

- Is it ethical to enhance at will, by gene technology, certain characteristics of our species?
- Are we entitled to shape, by science, the future evolution of man?
- Would it be morally acceptable that science plans the creation of a new human species?

For the discussion of these and similar questions, I would like to recall some principles derived from both evolutionary biology and ethics.

1. Evolution teaches us that genetic diversity is a key factor for the survival of any species. Such diversity allows that, in case of drastic environmental changes, and even if many individuals die, other survive and perpetuate the species. In biological terms, there is no ideal race. Ideal is only the genetic diversity⁽¹³⁾.

This biological consideration speaks against any attempt of producing genetically identical human individuals — by cloning, for instance⁽¹⁴⁾ — and also against racist approaches of eugenics.

2. Other biological observations show how delicate and vital the ecological equilibria are. Changes introduced in one species may drastically affect the survival of other species.

Certainly, new ecological equilibria may be considered and designed, but respecting the ground rules of ecological impact and interdependence.

Our species is also affected by this ecological balance. The concept of «betterment» of the human species should, therefore, also include the consideration of the delicate inter-relationships between man and its biological environment.

3. The biological analysis of man, even at the most profound molecular level, doesn't reveal nor reflect the reality apprehended, through introspection, by the selfconscious mind. Man experiences himself as person, as responsible for his own life and future. Consequently, he demands the freedom necessary for the full exercise of that responsible self-accomplishment⁽¹⁵⁾.

Such freedom implies that no person is used as means for anybody or anything else. Every individual human person has to be treated as an end in himself.

This intrinsic non-instrumental value of every individual person has been proclaimed in a variety of ways: by the abolition of any kind of slavery (even of chil-

dren); by the universal declaration of Human Rights; by christian and other religious tradition; by medical deontology, etc.

In my perception, this principle considerably limits the rights of parents, States or science in the planning of future human life.

If parents attempted to select and chose the characteristics of their children⁽¹⁶⁾, they would be imposing their own preferences to the lives of other persons. Children would be, in that case, somehow seen as parents' property and become the object of egoistic purposes.

Parents are, of course, entitled to decide in favour of their children. But this right is limited and vicarious. It is based on the expected wishes of the coming generation. It has, therefore, to be limited to fundamental values which may be presumed to be welcomed by them.

Similar arguments can be made at the levels of society, State and science.

Also the whole debate on eugenics can be considered along this same principle. To prevent the biological degeneracy of our species, and to promote progress and development of future generations are, certainly, relevant duties of science and society. But only as long as they don't violate the rights of individual persons and don't project to the coming generations some of our evaluations, which might not be theirs.

The concept of «betterment» of the human species is not an absolute one. It depends on each one's position about the purpose and value of life.

There are, for instance, biologically deficient human situations, which might be evaluated by some as totally negative or unbearable, while by others (due to human, artistic or religious life experience) are recognized as an occasion for special development of higher values and true self-fulfilment.

A Recommendation from the Parliamentary Assembly of the Council of Europe⁽¹⁶⁾ states that «the rights to life and to human dignity protected by Articles 2 and 3 of the European Convention on Human Rights imply the right to inherit a genetic pattern which has not been artificially changed» except for therapy of genetic diseases. The Recommendation further states that «outline regulations should be drawn up to protect individuals against non-therapeutic applications» of genetic engineering to humans.

It is generally accepted that the boundaries between therapeutic and eugenic applications are extremely difficult to draw. For that reason, a recent report of the german national committee on gene technology condemns even gene therapy in the germ-line cells, leaving for the future only an eventual exception for cases of certain severe monogenic diseases⁽¹⁷⁾.

Another disadvantage of the formulation used by the quoted Recommendation of the Parliamentary Assembly is to give the impression that the hazards of nature are necessarily better than the plans of science, and that we have the right to receive an hereditary patrimony by chance but not by intelligent and scientific planning.

Intelligence, with its capacity for innovation, also belongs to nature. Biological natural processes, as such, constitute no moral criterium at all for personal activity,

in spite of the fact that fundamental biological laws should be neither ignored nor subverted.

In summary, and for the discussion of the above mentioned questions, I would propose to draw the ethical line not in terms of therapy versus non-therapy, but rather in terms of a betterment both biologically sound and non-instrumentalist of any person, versus all the rest.

(¹) Ph. D. in molecular genetics (Washington, D.C., U.S.A.) Director, Molecular Genetics Laboratory, Gulbenkian Institute of Science, Oeiras, Portugal.

(²) Ph. Lic. (Braga, Portugal); Theol. Lic. (Frankfurt am Main, Germany).

(³) Governmental delegate to the following Committees:

— «European Science Foundation's Liaison Committee on Recombinant DNA Research» (1977-1981).

— «O.E.C.D. and *hoc* Committee on Safety and Regulations in Biotechnology» (1983-1985).

— «*Ad hoc* Committee on the Ethical and Legal Problems relating to Human Genetics», Council of Europe (1983-1985).

— «*Ad hoc* Committee of Experts on the Progress in Biomedical Science», Council of Europe (since 1985).

Member of the «International Study Group in Bioethics», 75341 Paris Codex 07.

(⁴) In this text I use the expression «Genetic engineering» in its strict sense, meaning the technology which uses *in vitro* recombinant DNA (see Document PE 100.378 of this Committee).

(⁵) Recombinant DNA Technical Bulletin, NIH Publ., 8 (3): 116-122 (1985).

(⁶) SCANGOS, G. & F. H. RUDOLF, Mechanisms and applications of DNA-mediated gene transfer in mammalian cells — a review. *Gene* 14: 1-10, (1981).

(⁷) W. FRENCH ANDERSON and JOHN C. FLETCHER, *New England Journal of Medicine* **303**: 1293-1297 (1980).

(⁸) PIERRE THULLIER, La Tentation de l'Eugenisme, *La Recherche* **155**: 734-748 (1984).

(⁹) Human Gene Therapy, U.S. Office of Science and Technology Assessment, 1984.

(¹⁰) Nuremberg Military Tribunal: United States versus Karl Brandt, *et al.* («The Medical Case»). *In* Trials of war criminals, Vol. 2 Washington, D. C., Government Printing Office, 1947: 181-4.

(¹¹) The National Commission for the Protection of Human Subjects of Biomedical and Behavioral Research. The Belmont Report. Ethical principles and guide-lines for the protection of human subjects in research. Washington, D.C., Government Printing Office, 1979: 16-7 (DHEW publication n.º | SO | 78-0012).

(¹²) W. FRENCH ANDERSON & JOHN C. FLETCHER, *New England Journal of Medicine*, **303**: 1293-1297 (1980).

(¹³) ALBERT JACQUART, *Eloge de la différence: la génétique et les hommes*. Ed. du Seuil, Paris, 1978.

(¹⁴) Also condemned by the Recommendations being prepared by the «*Ad hoc* Committee of Experts on the Progress in Biomedical Science (CAHBI)» of the Council of Europe.

(¹⁵) FRANZ BOCKLE, Wo die Gentechnologie ihre Grenzen finden muss, *In* Gentechnologie und Verantwortung, Max-Planck-Gesellschaft Berichte und Mitteilungen 3/85, München 1985, p. 65-77.

(¹⁶) Recommendation 934 (1982) on genetic engineering from the 33rd ordinary session of the Parliamentary Assembly of the Council of Europe. Text adopted by the Assembly on 26 January 1982.

(¹⁷) Gen-technologie, Chancen und Risiken, Bericht der Gemeinsamen Arbeitsgruppe des Bundesministers für Forschung und Technologie und des Bundesministers der Justiz, J. Schweitzer Verlag, München 1985, p. 45-48.

SUR LA CARYOLOGIE DE *LAVANDULA LATIFOLIA* MEDICUSII—La microsporogénèse chez les plantes
du Portugal à $2n=24, 50, 54$ et 60

A. FERNANDES* & M. TERESA LEITÃO*

Institut Botanique de l'Université de Coimbra

SUMMARY

The study of microsporogenesis in plants growing in Portugal of *Lavandula latifolia* Medicus with $24 (4x)$, $36 (6x)$ (A. FERNANDES & LEITÃO, 1985), $50 (8x+2)$ and $60 (10x)$ somatic chromosomes has shown meiosis occurring regularly, only with bivalents as in diploid plants. In fact, neither multivalents and univalents, nor anomalies of disjunction were observed in all the plants studied. On the contrary, a nonaploid plant with 54 chromosomes has shown irregular meiosis, with multivalents, bivalents and univalents. As the only difference between these two types of plants is the existence of an even-number of chromosomic sets in the first and an odd-number in the second ones, the suggestion is made that this difference may result from the genetic unbalance originated by the absence of a gene collection in the plants with an odd-degree number of polyploidy, as balance needs pairs of genes or gene collections. Similar phenomena were found by WATANABE (1981 a, b, c) in the genus *Chrysanthemum* and our results may come in harmony with the model this author proposes for this genus, in what concerns the mechanism of the pairing of chromosomes.

In *L. latifolia* and probably also in the others species of the *Lavandula* section, evolution took place by autopolyploidy and, given the fact that these plants have acquired a meiosis of diploid-type, the sexual reproduction occurs without difficulties, because their fertility is not affected as multivalents and univalents are not formed. Since these plants are allogamic, they are not really autopolyploids, because the gametes from what they are issued certainly differ by structural changes in their chromosomes sets. Thus the plants are not true autopolyploids but segmental allopolyploids. As segmental interchanges may occur also in the future, another strategy, beyond that of the development of a diploid-like meiosis under genetic control, seems to be appearing leading also the plants to a regular meiosis of diploid-type.

The hyperoctoploids plants ($48+2$) are the most frequent in Portugal and probably in all the area of distribution of the species. This fact shows that they are the most successful in natural conditions. They show a regular diploid-like meiosis with 25 bivalents, and gametes with this chromosome number are formed. Thus this number became a secondary basic chromosome number, which has already originated triploids with $2n=75$.

* Centro de Fito-sistemática e Fito-ecologia, Ec2, do Instituto Nacional de Investigação Científica (I.N.I.C.).

RÉSUMÉ

L'étude de la microsporogénèse de plantes de *Lavandula latifolia* Medicus pourvues de 24 (4x), 36 (6x) (A. FERNANDES & LEITÃO, 1985), 50 (8x + 2) et 60 (10x) chromosomes somatiques nous a montré que chez tous les individus examinés la méiose a lieu régulièrement avec la formation exclusive de bivalents, comme s'il s'agissait de plantes diploïdes. Par contre, une plante nonaploïde à 54 chromosomes nous a montré une méiose irrégulière, avec la formation de multivalents, bivalents et univalents. Étant donné que la seule différence entre ces deux types de plantes réside dans le fait que les premières possèdent un nombre paire de garnitures et les deuxièmes un nombre impair, la supposition est faite de que cette différence de comportement résulte du déséquilibre génique provoqué par le manque d'une collection de gènes dans les plantes à degré impair de polyploïdie. Des phénomènes semblables ont été trouvés par WATANABE chez *Chrysanthemum*, et nos résultats s'harmonisent avec le modèle proposé par cet auteur pour ce genre en ce qui concerne le mécanisme de l'appariement des chromosomes.

L. latifolia et probablement les autres espèces de la section *Lavandula* ont évolué par autopolyploïdie et, grâce au fait qu'elles ont acquis une méiose du type diploïde, elles se multiplieront sans difficultés au moyen de la reproduction sexuée, en dépassant ainsi les difficultés qu'une méiose typique des polyploïdes pourrait leur apporter, particulièrement la diminution de la fertilité. Par le fait qu'il s'agit de plantes allogamiques, il y en aura rencontre de garnitures provenant de plantes diverses, lesquelles peuvent différer plus ou moins considérablement au point de vue structurel. Donc les plantes ne seront pas tout à fait autopolyploïdes, mais des allopolyploïdes segmentaires à un degré plus ou moins considérable. Étant donné que les altérations structurelles continueront à avoir lieu, une autre stratégie, outre la diploïdisation de la méiose, aura lieu et qui correspondra à la conversion de ces plantes en allopolyploïdes.

Les plantes hyperoctoploïdes (48 + 2) sont les plus fréquentes au Portugal et probablement aussi dans toute l'aire de distribution de l'espèce, ce qui montre qu'elles sont aussi les plus réussites. Elles présentent une méiose diploïdisée, en engendrant régulièrement des gamètes à 25 chromosomes. Le chiffre 25 apparaît alors comme un nombre de base secondaire, qui a donné déjà origine à des triploïdes à $2n = 75$.

INTRODUCTION

Dans le premier numéro de cette série (A. FERNANDES & LEITÃO, 1985), nous avons montré que les plantes à 36 chromosomes somatiques présentent une microsporogénèse normale, avec la formation de 18 bivalents, généralement à un seul chiasma terminal. La disjonction aux anaphases I et II est aussi régulière et des grains de pollen presque 100% bien conformés en résultent. Dans cette deuxième partie, nous présentons les résultats que nous avons obtenus en étudiant des plantes à 24, 50, 54 et 60 chromosomes somatiques.

MATÉRIAUX ET TECHNIQUES

Les plantes à $2n = 50$ sont les plus fréquentes chez toutes les populations désignées par les lettres A-G dans notre article antérieur et les boutons floraux de celles à ce nombre chromosomique étudiées dans ce travail ont été prélevés sur des indi-

vidus appartenant aux populations A, B et E. Les plantes à $2n=54$ sont moins fréquentes et elles ont été rencontrées chez les populations A et E. Les plantes à $2n=60$ sont rares et elles n'ont été aussi rencontrées jusqu'à ce jour que dans les populations A et E, où nous avons prélevé les boutons floraux. Les plants à $2n=24$ semblent être encore plus rares, puisque des boutons floraux de celles-ci n'ont été rencontrés jusqu'à présent que chez la population A.

Le dénombrement des chromosomes somatiques de ces plantes n'est pas facile par le fait qu'ils sont très petits et possèdent une grande tendance à s'agglutiner. Donc des figures claires n'offrant pas des doutes d'interprétation sont rares et beaucoup souvent nous avons hésité en ce qui concerne l'établissement du nombre exact. Cependant, après plusieurs tentatives, nous avons réussi à développer une technique qui nous a donné des résultats satisfaisants. Cette technique consiste en soumettre les méristèmes radiculaires issus de la germination des graines (obtenue dans des caisses de Petri dont le fond était recouvert de coton hydrophile et d'une pièce circulaire de papier de filtre, les deux préalablement humidifiés par de l'eau) à une température comprise entre 0° et -1° C pendant 16 heures, après quoi les pointes végétatives des racines étaient fixées au Navachine et enrobées à la paraffine d'après la technique classique.

Bien que nous avons étudié déjà beaucoup de méristèmes radiculaires correspondant chacun à une plante, nous n'avons réussi encore à trouver des individus pourvus de 24 et 60 chromosomes somatiques. Cependant, nous les attendons pendant le recensement des nombres que nous poursuivons.

OBSERVATIONS

1. Plantes à $2n=24$

Comme nous l'avons remarqué, nous n'avons pas encore trouvé des méristèmes radiculaires provenant de la germination de graines avec ce nombre chromosomique. Cependant, nous avons prélevé des boutons floraux sur une plante de ce type dans laquelle nous avons rencontré quelques phases de la microsporogénèse. Ainsi, des diacinèses (Fig. text. 1 et Pl. I, Fig. a) ont été rencontrées, où nous avons identifié 12 bivalents, soit tous à un seul chiasma terminal, soit les plus nombreux à un et quelques autres à deux. Deux de ces bivalents étaient parfois attachés au nucléole. Nous n'avons pas eu la chance de trouver d'autres phases de la méiose, mais des microspores jeunes libérées après la dissolution des parois des cellules mères ont été observées en abondance (Pl. I, Fig. b). Il s'agit de petites cellules sphériques à gros noyaux (Pl. I, Fig. b, c). Ces cellules croissent au dépens du tapis et, peu à peu, elles se transforment en des grains de pollen à parois peu épaisses et à 6 colpi (Pl. I, Fig. c et Pl. II, Figs. a, b).

La mensuration du diamètre de 69 grains de pollen complètement développés nous a amené à la construction du graphique I, qui montre la variation du diamètre et que sa valeur moyenne est $22,9 \mu\text{m}$.

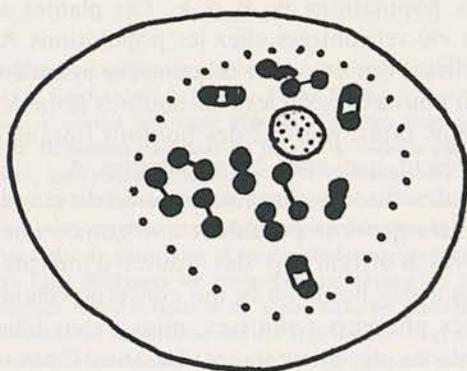
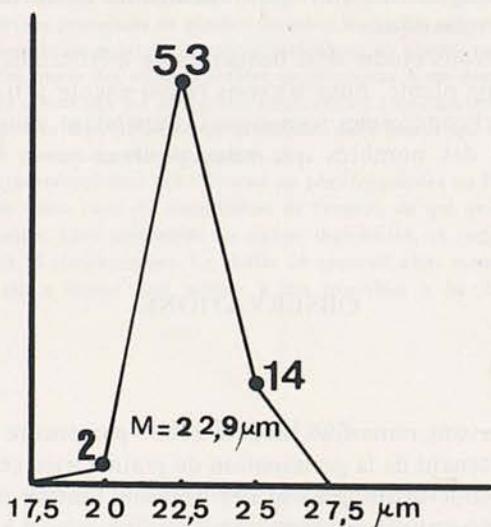


Fig. text. 1 — Diacinese montrant 12 bivalents, dont 9 à chiasma terminal et 3 à deux chiasmata terminaux. \times ca. 2000.



Graphique I — Explication dans le texte

2. Plantes à $2n = 50$

Le nombre des chromosomes somatiques a été établi après le comptage de plusieurs plaques assez nettes qui nous ont amené au même résultat (Fig. text. 2 a). Ce chiffre, comme nous l'avons mentionné (A. FERNANDES & LEITÃO, 1985), a été tout d'abord déterminé par KÜPFER (1974) et confirmé par QUEIRÓS (1983, 1984).

Beaucoup de diacynèses ont été trouvées (Pl. III, Fig. *a*) dans lesquelles nous avons dénombré 25 bivalents (Figs. text. *b, c, d, e*, Pl. III, Figs. *a, b* et Pl. IV, Figs. *a, b*) dont 4 se montraient quelquefois attachés au nucléole, particulièrement aux stades moins avancés (Fig. text. 2 *b* et Pl. IV, Figs. *a, b*).

Sur la plupart des figures, nous n'avons réussi à identifier que des bivalents semblables à ceux que nous avons trouvés chez les plantes à $2n=36$, c'est-à-dire constitués par des chromosomes assez petits reliés par un seul chiasma terminal (Fig. text. 1 *b, c* et *d*). Toutefois, sur quelques figures, nous avons constaté la présence, outre des bivalents à un seul chiasma, d'autres à deux chiasmata aux extrémités formant des anneaux (Fig. text. 1 *e* et Pl. V, Figs. *a, b*).

Le même nombre de bivalents (25) a été trouvé à la métaphase I (Figs. text. 3 *f* et Pl. V, Figs. *c, d*). Sur quelques figures, nous n'avons réussi à discerner que des bivalents à un seul chiasma terminal, mais sur d'autres nous avons observé des bivalents à un et à deux chiasmata terminaux. Outre toutes ces figures, de rares

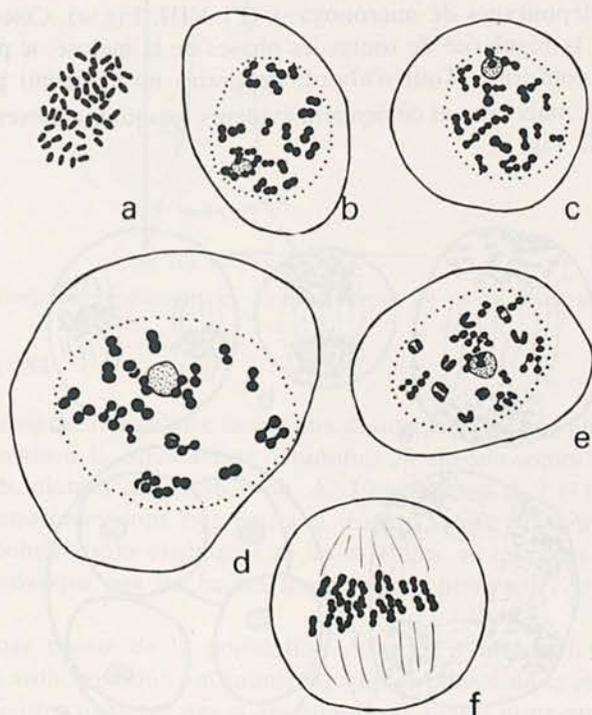


Fig. text. 2 — *a*, Plaque équatoriale à 50 chromosomes. \times ca. 3000. *b*, Diacynèse à 25 bivalents à un seul chiasma dont 4 attachés au nucléole. \times ca. 2000. *c*, *Idem* à 25 bivalents à un seul chiasma dont seulement 2 attachés au nucléole. \times ca. 2000. *Idem*. \times ca. 2000. *e*, *Idem* montrant quelques bivalents à deux chiasmata. \times 1300. *f*, Métaphase I à 25 bivalents. \times ca. 2000.

images ont été observées montrant un bivalent pourvu d'un chiasma terminal et d'un autre intercalaire (Pl. V, Figs. *c, d*). Malheureusement, par le fait que les bivalents sont assez petits, il n'a été possible de faire l'analyse complète d'aucune métaphase I. Cependant, nous devons remarquer que ce bivalent se distingue des autres et que l'appariement des chromosomes est régulière, n'ayant jamais constaté la présence de multivalents ou d'univalents.

De nombreuses télophases I ont été observées (Pl. VI, Fig. *a*), où nous avons dénombré toujours 25 chromosomes à chaque pôle (Fig. text. 3 *a, b* et Pl. VI, Fig. *b*), ce qui atteste la régularité de la disjonction à l'anaphase I. D'autre part, nous n'avons jamais constaté la présence de retardataires. Les nucléoles se forment de très bonne heure (Pl. VI, Fig. *b*), mais nous n'avons réussi à identifier le nombre maximum de ces corps, c'est-à-dire 4, correspondant à la moitié des bivalents nucléolaires. Le fait que nous n'avons observé que deux ou trois nucléoles est dû au fait qu'ils sont très petits et faiblement colorés aux premiers stades de la télophase et qu'ils peuvent se fusionner bientôt après leur apparition.

La métaphase II (Fig. text. 3 *c* et Pl. VII, Fig. *a*), l'anaphase II et la télophase II (Figs. text. 3 *d, e* et Pl. VII, Fig. *b*) s'ensuivent et nous avons constaté que ces phases découlaient aussi avec la plus grande régularité. De cette façon, les tétrades sont normales, dépourvues de micronoyaux (Pl. VIII, Fig. *a*). Comme il fallait s'y attendre d'après la régularité de toutes les phases de la méiose, le pollen (Pl. VIII, Fig. *b*) est bien conformé. Tout d'abord, les grains ne montrent pas les 6 colpes (Pl. VIII, Fig. *b*), mais ceux-ci deviennent évidents lorsqu'ils achèvent leur différenciation (Pl. VIII, Fig. *c*).

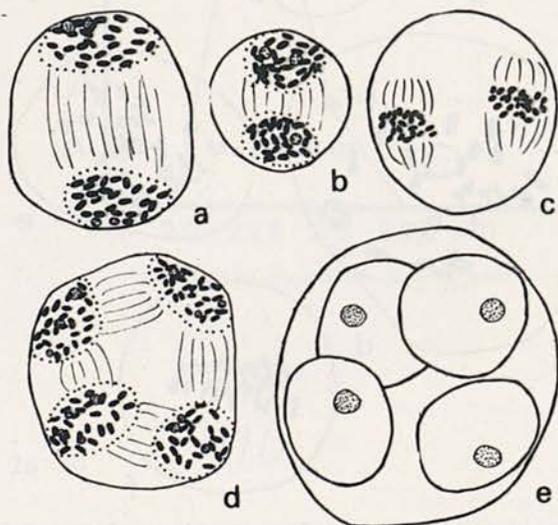
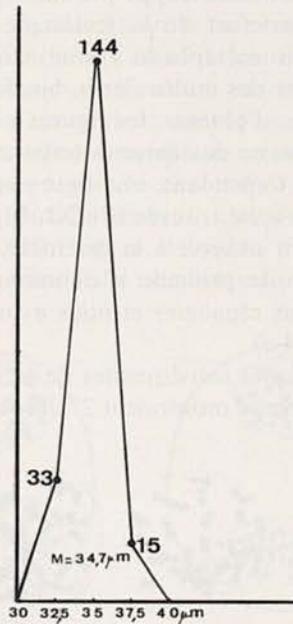


Fig. text. 3—*a, b*, Télophases I dans lesquelles, outre les nucléoles, 25 chromosomes se montrent. *a* \times ca. 2000; *b* \times ca. 1700. *c*, Métaphase II régulière à 25 chromosomes. \times ca. 2000. *d*, Télophase II, montrant 25 chromosomes et nucléoles aux pôles; remarquer la présence de 4 nucléoles dans deux des groupes polaires. \times ca. 1700. *e*, Jeune tétrade: remarquer qu'il n'y a pas de micronoyaux. \times ca. 1700.

En ce qui concerne la morphologie et la structure, le pollen ressemble celui que nous avons trouvé chez les plantes à $2n=36$ (A. FERNANDES & LEITÃO, 1985).

Le diamètre du pollen bien développé (montrant les 6 colpes) a été mesuré en 192 grains, ce qui nous a amené à construire le graphique II, qui montre que le diamètre équatorial moyen correspond à $34,7 \mu\text{m}$. Le pollen est presque 100% parfait, puisque, dans un échantillonnage de 308 grains, nous n'avons trouvé que 5 imparfaits, c'est-à-dire un pourcentage de 1,6%.



Grafhique II—Variation du diamètre et diamètre moyen du pollen d'une plante à $2n=50$.

3. Plantes à $2n=54$

Dans le méristème radiculaire issu d'une graine prélevée sur une plante appartenant à la population E, nous avons dénombré 54 chromosomes (Fig. text. 4 a). Comme dans les plantes à $2n=36$ (voir A. FERNANDES & LEITÃO, 1985) et à $2n=50$, les chromosomes sont très petits et nous n'avons pas réussi à mettre en évidence ni les constriction cinétiques ni les satellites, ce qui peut être dû au raccourcissement provoqué par les basses températures auxquelles les chromosomes ont été soumis.

Sur une autre plante de la population A, nous avons prélevé des boutons floraux dont les anthères nous ont montré quelques phases de la méiose. Malheureusement, ces figures n'étaient pas si abondantes et nettes pour qu'on puisse faire l'étude détaillée que le comportement de cette plante le méritait. Par le fait que ces plantes sont rares, nous avons profité de l'apparition de celle-ci pour étudier les images qu'elle nous a fournies, en attendant que d'autres plantes soient rencontrées pour mener à bout des observations plus complètes.

Tout d'abord, nous devons signaler que des diacinèses montrant 27 bivalents, dont tout au moins 4 étaient attachés au nucléole, ont été trouvées (Fig. text. 4 *b* et Pl. IX, Fig. *a*), bien que rarement. Nous avons constaté que, le plus souvent, à la diacinèse, les chromosomes, outre des bivalents, engendraient des multivalents et probablement des univalents. Ainsi, nous avons identifié les associations suivantes: $3_{IV} + 4_{III} + 15_{II}$ (Pl. IX, Fig. *b*); $4_{IV} + 2_{III} + 16_{II}$ (Pl. IX, Figs. *c*, *d*); $1_V + 2_{IV} + 1_{III} + 19_{II}$ (Figs. text. 4 *c* et Pl. X, Figs. *a*, *b*). Nous devons remarquer que, sur cette dernière figure, le pentavalent semblait être enveloppé par une sorte de pellicule qui pourra peut-être correspondre à un artefact de la technique employée.

D'une façon générale, les métaphases I sont irrégulières (Pl. X, Fig. *c* et Pl. XI, Figs. *a*, *b*, *c*), présentant des multivalents, bivalents et univalents. Malheureusement, il sera trop difficile d'obtenir des figures où les associations puissent s'identifier par suite de la petitesse des chromosomes et de l'agglutination provoquée par la technique utilisée. Cependant, une figure montrant probablement une association de 7 chromosomes a été trouvée (Pl. XI, Figs. *c*, *d*). Nous avons constaté que, comme le pentavalent observé à la diacinèse, ce multivalent se trouvait enveloppé aussi par une sorte de pellicule le délimitant. Dans quelques cas, les métaphases I se montraient plus régulières et nous avons trouvé une figure possédant 27 bivalents (Fig. text. 4 *d*).

En ce qui concerne les phases subséquentes de la méiose, nous avons trouvé une télophase II, dont deux noyaux montraient 27 chromosomes (Fig. text. 4 *e*)⁽¹⁾.

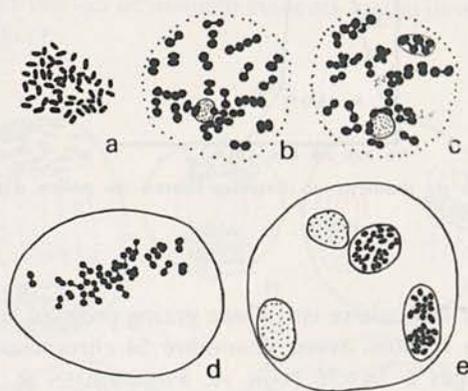


Fig. text. 4 — *a*, Plaque métaphasique montrant 54 chromosomes. \times ca. 2800. *b*, Diacinèse montrant 27 bivalents dont 4 attachés au nucléole. \times ca. 2000. *c*, Diacinèse montrant un pentavalent, 2 tétravalents, un trivalent et 19 bivalents. \times ca. 2000. *d*, Métaphase I montrant 27 bivalents. \times ca. 2000. *e*, Télophase II dont 2 noyaux-fils montrent 27 chromosomes chacun. \times ca. 2000.

(¹) GARCIA (1942) ne croit pas que les plantes à $2n=54$ soient de nonaploïdes, puisque, par le fait qu'à ce temps là on ne connaissait chez l'espèce que les nombres 36 et 54, pensait que le chiffre de base serait 9 au lieu de 6 et, par conséquent, que les plantes à 54 seraient des hexaploïdes. En constatant que les plantes à degré impair de polyploïdie sont très rares à l'état spontané, nous (A. FERNANDES & LEITÃO, 1984, pág. 37, note 1) nous avons relié au point de vue de GARCIA et nous avons considéré les plantes à $2n=50$ comme des hypohexaploïdes. Cependant, nous avons ajouté que «seul l'étude de la méiose pourra peut-être éclaircir le problème». Or cette étude que nous avons maintenant menée à bout montre qu'en réalité les plantes à $2n=54$ sont des nonaploïdes à base 6.

4. Plantes à $2n=60$

Nous avons prélevé des boutons floraux sur des individus appartenant aux populations A et E dont l'étude a montré qu'il s'agissait de plantes à $2n=60$. Les stades plus précoces que nous avons rencontré correspondaient au pachytène-diplotène montrant des phénomènes de cytomixie (Pl. XII, Fig. a), tels qu'ils arrivent chez les plantes à $2n=36$ (A. FERNANDES & LEITÃO, 1985).

Les diacynèses nous ont montré 30 bivalents, la plupart desquels présentaient un seul chiasma terminal, tandis qu'un petit nombre d'autres possédaient deux chiasmata aux extrémités, montrant alors la configuration d'un anneau (Pl. XII, Fig. b, c). Le nombre maximum de bivalents attachés au nucléole était 5, ce qui est d'accord avec l'existence d'un seul chromosome nucléolaire dans la garniture haploïde. Des multivalents et des univalents n'ont pas été observés.

Beaucoup de télophases I ont été examinées et nous avons constaté qu'elles présentaient toujours 30 chromosomes à chaque pôle (Figs. text. 5, a, b, c, Pl. XIII, Figs. a, b et Pl. XIV, Figs. a et b). Les premiers stades de la télophase I sont propices à la détermination du nombre maximum de nucléoles, mais, étant

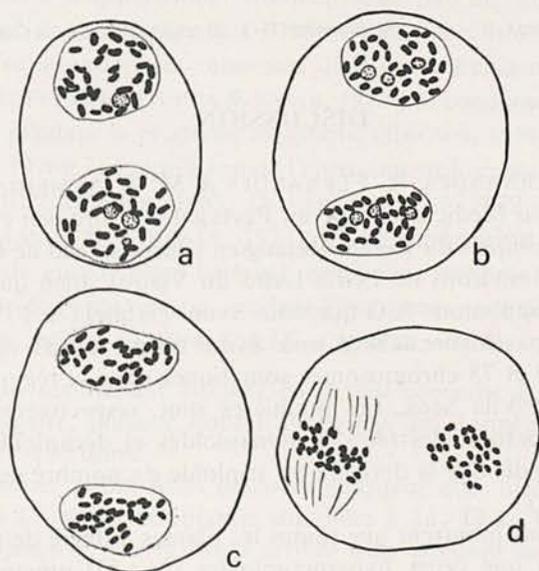


Fig. text. 5—*a, b, c*, Premiers stades de la télophase I montrant 30 chromosomes et des nucléoles; remarquer l'attachement de quelques chromosomes aux nucléoles. $\times 1300$. *d*, Métaphase II à 30 chromosomes. $\times 1700$.

donné qu'ils sont très petits, qu'ils peuvent se confondre avec les chromosomes aux premiers stades et encore qu'ils peuvent se fusionner les uns avec les autres de très bonne heure, nous n'avons pas réussi à déterminer exactement ce nombre que nous croyons être cinq. Dans quelques cas, nous avons dénombré 4, dans d'autres 3 et dans d'autres 2. Dans quelques cas, l'attachement des chromosomes nucléolaires au nucléole était net (Figs. text. 5, *a, b*, Pl. XIII, Figs. *a, b* et Pl. XIV, Figs. *a, b*).

Les métaphases II (Figs. text. 5 d, 6 a, b, Pl. XIV, Fig. b et Pl. XV, Figs. a, b, c) étaient aussi régulières montrant 30 chromosomes sur chaque plaque.

L'anaphase II n'a pas été observée. Les tétrades (Pl. XV, Fig. c) étaient régulières, mais le pollen n'a pas été observé.

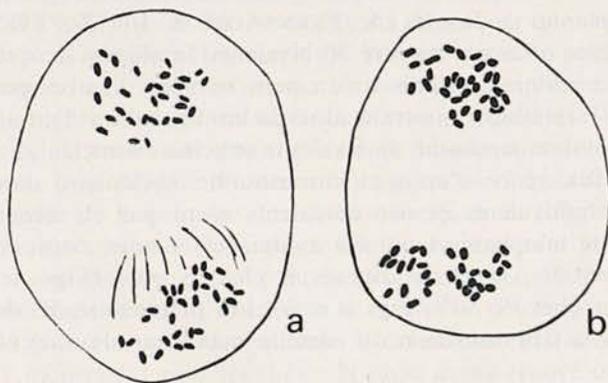


Fig. text. 6— a, b, Métaphases II à 30 chromosomes. $\times 1700$.

DISCUSSION

Comme A. FERNANDES, R. FERNANDES & M. T. ALMEIDA (sous presse) le signalent, *L. latifolia* Medicus occupe au Portugal une aire peu étendue aux collines calcaires dolomitiques du Rétien-Hétangien situées au sud de Coimbra et à une autre localisée aux environs de Leiria (Alto do Vieiro). Bien que le recensement caryologique des populations A-G que nous avons établies (A. FERNANDES & LEITÃO, 1985) ne soit pas encore achevé, nous avons trouvé jusqu'à ce jour des plantes à 24, 36, 50, 54, 60 et 75 chromosomes somatiques dans la région comprise entre Portela do Gato et Vila Seca. Les premières sont, respectivement, tétraploïdes, hexaploïdes, hyperoctoploïdes ($48+2$), nonaploïdes et décaploïdes du chiffre de base primaire 6, tandis que la dernière est triploïde du nombre de base secondaire 25 (voir ci-dessous).

Nos observations montrent que toutes les plantes à degré de polyplôidie paire ($4x, 6x, 10x$), ainsi que celles hyperoctoploïdes ($2n=50$) présentent une méiose régulière pendant laquelle des bivalents sont exclusivement formés comme s'il s'agissait de plantes vraiment diploïdes. Nous sommes donc en présence de plantes polyplôïdes se reproduisant sexuellement au moyen d'une méiose semblable à celle des diploïdes.

Des plantes se comportant d'une façon comparable ont été trouvées par plusieurs auteurs (SHIMOTOMAI, 1933; TAKEMOTO, 1939; SHIMOTOMAI & TANAKA, 1952; TANAKA, 1952 a, b, 1959 a, b, 1960; NAGAMI, 1954; KANEKO, 1961; WATANABE, 1977, 1981 a, b, c) chez des espèces spontanées de *Chrysanthemum*, où il y a une série polyplôïde à base 9 (18, 36, 54, 72 et 90). Cependant, il y a une différence

par rapport à ce qui arrive dans notre matériel, puisque chez *Chrysanthemum*, outre des bivalents, des tétravalents, trivalents et univalents s'engendrent aussi, bien que peu fréquemment (voir WATANABE, 1977 t. 1), tandis que chez *L. latifolia* nous n'avons observé que des bivalents. Cette différence pourra, peut-être, être due à la différence de longueur entre les chromosomes, lesquels sont relativement longs chez *Chrysanthemum* et très courts chez *Lavandula*.

D'autre part, on constate que chez *Chrysanthemum* les formes polyploïdes se trouvent dans des régions écartées, les unes des autres, tandis que chez *L. latifolia* elles occupent une aire très limitée.

WATANABE (1981 a, pag. 459) résume ainsi les stratégies au moyen desquelles les plantes polyploïdes peuvent stabiliser leur méiose (traduction): 1) une stricte amphidiploïdisation allopolyploïde (KARPETCHENKO, 1927; MÜNTZING, 1932)⁽¹⁾; 2) diploïdisation par l'accumulation sélective de nombreuses petites altérations dans la structure des chromosomes d'un autopolyploïde (JORGENSEN, 1928; DARLINGTON, 1932; MÜNTZING, 1936); 3) association préférentielle de bivalents basé sur de petites différences structurelles entre homoeologues (DIGBY, 1922; UPCOTT, 1937); 4) suppression d'appariement homoeologue par un simple gène majeur (OKAMOTO, 1957; SEARS & OKAMOTO, 1958; RILEY & CHAPMAN, 1958; LADIZINSKY, 1973); 5) canalisation des chiasmata dans un seul chiasma par paire chromosomique (KOSTOFF, 1940; GUPTA & KOAK, 1976); 6) condensation différentielle des chromosomes pendant la prophase méiotique (BROWN, 1954; ENDRIZZI, 1962; WATANABE *et al.*, 1976); 7) suppression de l'appariement homoeologue par le chromosome B (MOCHIZUKI, 1964, 1965; DOVER & RILEY, 1972; EVANS & MACEFIELD, 1972; BOWMAN & THOMAS, 1973); et 8) suppression de l'appariement homoeologue par de grands blocs hétérochromatiques responsables pour l'interférence avec le début de l'appariement pendant l'interphase préméiotique ou les premiers stades de la méiose (THOMAS & KALTISIKES, 1974).

Nous pourrions maintenant discuter en ce qui concerne *L. latifolia* quelques points de ce sommaire, puisque nous n'avons pas des données nous permettant aborder toutes les questions.

Quant au premier point, nous devons remarquer que, jusqu'à ce jour, nous n'avons pas réussi à trouver des plantes diploïdes à $2n=12$ au Portugal. Celles-ci pourront exister, mais il pourra aussi arriver que, pendant la dissémination de l'espèce elles n'ont pas réussi à arriver au Portugal ou bien qu'elles ont été amenées à l'extinction. Cependant, il faut continuer à les chercher au Portugal, en Espagne, France, Italie et Dalmatie.

Étant donnés les ressemblances morphologique et caryologique existentes parmi les espèces de la section *Lavandula* et que le chiffre de base de cette section doit être 6, il est très probable que ce groupe n'ait pas eu une origine amphidiploïde, mais qu'il a évolué par autopolyploïdie. La même conclusion se dégage

⁽¹⁾ Les références de WATANABE (loc. cit.) sont mentionnées aussi dans notre liste bibliographique.

du fait qu'il n'est pas facile de distinguer au point de vue de la morphologie externe les cytotypes trouvés jusqu'à ce jour⁽¹⁾. Nous sommes donc amenés à conclure pour la négative en ce qui concerne le premier point⁽²⁾.

En ce qui concerne le deuxième point, nous constatons que *L. latifolia* est une plante allogamique se reproduisant par voie sexuée. De cette façon, il y a de la pollinisation croisée et alors les garnitures réunies dans les polyploïdes pourront différer plus ou moins considérablement les unes des autres en ce qui concerne la structure des chromosomes. Nous croyons que ces différences structurelles seront peut-être de telle nature qu'elles permettront l'appariement homoeologue, et n'empêcheront pas encore l'appariement homologue. De cette façon, l'autopolyploïdie pourra avoir lieu avec une méiose diploïdisée.

Relativement au troisième point, nous pourrions dire qu'il peut avoir lieu, d'après ce qui a été référé pour le numéro antérieur.

Par rapport au quatrième point, nous devons dire que nous ne connaissons rien de ce processus chez ce matériel.

Quant au cinquième point, nous constatons que les chromosomes de *L. latifolia* sont très courts et que le plus souvent les bivalents sont reliés par un seul chiasma (des bivalents à deux chiasmata terminaux ne sont pas fréquents et un seul bivalent pourvu d'un chiasma interstitiel a été observé chez les plantes à $2n=50$). Ce mécanisme pourra donc agir dans la diploïdisation chez l'espèce en étude.

En ce qui concerne le point 6, nous ne savons rien.

Relativement au point 7, nous n'avons pas trouvé jusqu'à ce jour des chromosomes B dans ces plantes.

Concernant le dernier point, nous pouvons seulement remarquer que les noyaux de *L. latifolia* présentent beaucoup d'hétérochromatine, mais que nous ne savons rien quant à son interférence sur l'appariement.

D'après cette discussion, nous croyons pouvoir conclure qu'il y a chez *L. latifolia* des conditions favorables pour amener à la différenciation des garnitures réunies dans les polyploïdes qui auront comme conséquence la régulière formation de bivalents. De cette façon, ces plantes ne seront pas rigoureusement des autopolyploïdes, mais des allopolyploïdes à un certain degré, comme il arrive chez *Chrysanthemum* (WATANABE, 1981, a, b, c).

Malheureusement, nous n'avons pas eu la chance d'étudier la méiose de l'individu nonaplôïde ($2n=54$) d'une façon complète. Cependant, nous avons observé des particularités suffisantes pour nous apercevoir de l'importance de cette plante. Celle-ci a été la seule dans laquelle le nombre chromosomique n'appartient pas à un

(1) Nous n'avons pas eu encore du temps pour étudier la morphologie des cytotypes en détail, mais nous avons le projet de le mener à bout bientôt malgré la difficulté du problème.

(2) Ne connaissant pas encore les faits rapportés dans ce travail et dans le but de trouver une explication concernant la régularité de la méiose des plantes hexaploïdes, nous (A. FERNANDES & LEITÃO, 1985) avons attribué à ces plantes une origine allopolyploïde et nous avons formulé alors une hypothèse d'après laquelle le chiffre de base de *L. latifolia* serait 9 au lieu de 6. Cependant, nous avons considéré aussi l'hypothèse de ce chiffre être 6 et de l'évolution avoir eu lieu par autopolyploïdie (loc. cit, p. 169).

degré paire de polyploidie. On constate donc que, lorsque le degré de polyploidie devient impair, le mécanisme de la formation exclusive de bivalents est rompu et que des multivalents (VII, V, IV, III), des bivalents et des univalents font leur apparition.

Malgré les incertitudes régnant en ce qui concerne les mécanismes responsables de l'appariement des chromosomes à la méiose, les auteurs sont d'accord sur le fait qu'il y a des gènes ou des complexes de gènes (polygènes) qui commandent ou influencent ces mécanismes, pouvant les perturber ou même les supprimer. Bien qu'il est probable que, par suite de la reproduction sexuée obligatoire, les polyploïdes de *L. latifolia* soient des allopolyploïdes segmentaires, nous croyons que les garnitures de tous les polyploïdes sont comparables, c'est-à-dire que les garnitures des nonaploïdes sont semblables à celles des polyploïdes à degré pair. De cette façon, la seule, différence entre les polyploïdes à degré pair et ceux à degré impair réside, comme nous l'avons déjà remarqué, dans le fait du nombre de gènes ou des polygènes être pair ou impair. Il est évident que chez les plantes à $2n = 54$, une des garnitures est impaire et elle ne devrait pas former des bivalents, mais apparaître comme 6 univalents. En tout cas, des multivalents (hepta, penta, tétra et trivalents) se forment, ce qui autorise la supposition de que le nombre impair des gènes ou des polygènes rompt l'équilibre nécessaire à la formation exclusive de bivalents, les univalents pouvant alors entrer dans la composition de trivalents.

Les résultats rapportés par WATANABE (1977, tab. 1 et 2, pag. 127 et 128) chez les hybrides $3x$, $5x$ et $7x$ de *Chrysanthemum*, montrant particulièrement une augmentation du nombre des multivalents et une diminution de celui des bivalents, s'accorde avec ce que nous avons observé chez la plante nonaploïde de *L. latifolia*. Cependant, nous avons trouvé des métaphases I régulières à 27 bivalents. Dans le but d'expliquer leur apparition, nous pourrions supposer qu'il y a des cellules dans lesquelles les gènes ou le complexe de gènes contrôlant la formation de multivalents subissent un relâchement menant à la suppression de leur formation. Dans ces conditions, 48 chromosomes s'apparieraient d'une façon homologue, tandis que les 6 restants s'apparieraient d'une façon homoologue, par suite de l'existence de segments homologues. Ces plaques pourraient engendrer du pollen à 27 chromosomes, comme il nous a semblé.

Chez l'hybride *Chrysanthemum boreale* × *Ch. japonense* v. *octoploid* à $2n = 45$ ($5x$), WATANABE (1977) constate aussi l'existence de plaques à la constitution suivante; $18_{II} + 9_{I_1}$, $19_{II} + 7_{I_1}$, $20_{II} + 5_{I_1}$ et $21_{II} + 3_{I_1}$ et l'auteur admet qu'il doit y avoir de l'appariement non homologue entre les 9 chromosomes de la garniture qui restent sans partenaire. Notre cas serait comparable, mais les 6 chromosomes qui restent sans partenaire peuvent s'apparier en 3 bivalents, ce qui, d'après notre supposition, pourraient résulter de l'existence de segments homologues provenant de translocations.

À notre avis, les plantes à $2n = 50$ sont des hyperoctoploïdes, engendrés probablement par non-disjonction à partir d'un octoploïde. Il est à remarquer que, à la métaphase I de ces plantes, nous avons identifié sur quelques figures un bivalent semblant posséder un chiasma interstitiel. Il est probable qu'une inversion, ou une autre altération structurelle existe dans un des éléments de cette paire, qui empê-

chera quelquefois la terminalisation. Nous considérons aussi probable que cette paire correspondra à celle qui a subi la non-disjonction chez l'octoploïde. Par suite de ce phénomène, des gamètes à 25 chromosomes seraient produits, dont la conjugaison engendreraient des plantes à $2n=50$. Ces plantes continueraient à présenter une méiose diploïdisée comme les octoploïdes, par le fait que la paire surnuméraire ne portera pas des gènes contrôlant l'appariement des chromosomes.

Des modèles conçus dans le but d'expliquer l'appariement des chromosomes à la méiose ont été proposés par JOHN & HENDERSON (1962), SVED (1966) et SYBENGA (1966). WATANABE (1981 a) y a introduit quelques modifications concernant la localisation des zygomères, ce qui lui a permis de rendre le modèle compatible avec les résultats qu'il a obtenus chez les espèces et respectifs hybrides de *Chrysanthemum*. D'accord avec cet auteur, nous pourrions dire que les principes fondamentaux de ce modèle sont les suivants: 1) l'appariement commence généralement à deux places, disons A et B, et les deux places homologues A s'attachent l'un avec l'autre à l'étroite proximité de la membrane nucléaire; 2) à chaque place l'appariement est toujours deux à deux et l'appariement commencé à A est indépendant de celui commencé à B; 3) lorsque le début de l'appariement à la place B est supprimé par un gène, il y en aura stricte formation d'un bivalent; 4) le début de l'appariement à la place A est toujours rigoureux et il précède celui de B; 5) le début de l'appariement à la place B est généralement supprimé par contrôle polygénique, suppression qui amène à la formation stricte de bivalents. Pour les détails et schémas, voir WATANABE, 1981 a, pag. 490-493 et 1981 c, pag. 527-528. De cette façon, le modèle de WATANABE s'ajuste au comportement des formes tétraploïdes, hexaploïdes et décaplôïdes de *L. latifolia* où il n'y a que la formation de bivalents. Le même arrive avec les formes hyperoctoploïdes à $2n=50$ dans lesquelles il y a une paire chromosomique de plus, mais l'équilibre génétique est maintenu ou presque par le fait que la paire surnuméraire ne portera pas des gènes agissant sur le début de l'appariement, qui continuera donc supprimé à la place B. Chez les nonaploïdes, il y en aura une diminution de l'action du système polygénique (par suite du déséquilibre génique) qui ne supprimera pas le début l'appariement à la place B et alors des multivalents pourront se former. Quelquefois, cette diminution ne serait pas si drastique dans quelques cellules, dans lesquelles seuls des bivalents pourraient s'engendrer jusqu'au maximum de 27.

Bien que le recensement caryologique des populations de *L. latifolia* ne soit pas encore achevé, nous savons déjà que les plantes à $2n=50$ sont les plus fréquentes au Portugal et par conséquent les plus réussites. L'établissement de ces plantes qui, comme nous l'avons montré, présentent une méiose régulière avec la formation de 25 bivalents, a donné origine à un chiffre de base secondaire, puisque A. FERNANDES & LEITÃO, (1982, 1984) ont rapporté l'existence d'individus à $2n=75$. Selon nous, il s'agit en réalité de plantes triploïdes de ce nouveau nombre de base secondaire. Malheureusement, nous n'avons pas pu encore faire l'étude de la méiose de ces plantes, qui pourra, peut-être, apporter des données intéressantes⁽¹⁾.

(1) Ces plantes à $2n=75$ ont été tout d'abord (A. FERNANDES & LEITÃO, 1982, 1984) considérées comme des hyperoctoploïdes du chiffre de base 9, c'est-à-dire $72+3$. Cependant, l'hypothèse suggérée ici nous semble plus probable.

Il est encore tôt pour aborder la question de l'évolution des nombres chromosomiques chez *L. latifolia*. En tout cas, nous pourrions avancer que le chiffre de base de l'espèce, ainsi que celui de la section *Lavandula*, est 6. Cependant, des formes à $2n = 12$ ne sont pas connues. L'évolution a eu lieu par autopolyploïdie qui a amené aux nombres somatiques 24, 36, 54 et 60. Bien que le chiffre 48 soit connu chez *L. angustifolia* Miller subsp. *angustifolia*, il n'a pas été rapporté jusqu'à présent chez *L. latifolia* Medicus. Toutefois, nous croyons que des plantes pourvues de ce nombre existent ou ont existé. Elles ont engendré, certainement par non-disjonction, les plantes à 50. Celles-ci, à son tour, probablement par la fusion de gamètes non réduits avec d'autres réduits, ont engendré des plantes à 75 ($2 \times 25 + 25$), c'est-à-dire des triploïdes du chiffre de base secondaire 25.

Les données apportées par ce travail montrent que *L. latifolia* est un sous-arbrisseau à reproduction sexuée allogamique qui est à évoluer par autopolyploïdie. Comme on le sait, les autopolyploïdes possèdent des garnitures chromosomiques semblables dont le nombre correspond au degré de polyploïdie. À la méiose, les chromosomes homologues ont tendance à s'apparier et des multivalents et des bivalentes ou bien des multivalents, des bivalents et des univalents s'engendrent. La présence de ces formations amène à des irrégularités, ce qui a comme conséquence la mort de beaucoup de spores tant du côté mâle que femelle. De cette façon, les autopolyploïdes sont beaucoup moins fertiles que les diploïdes. En acquérant une méiose du type diploïde avec la formation exclusive de bivalents, les autopolyploïdes, outre les caractères avantageux que la polyploïdie peut leur conférer, maintiennent une fertilité comparable à celle des diploïdes et ces plantes peuvent réussir dans la nature. La méiose du type diploïde chez les autopolyploïdes représente donc un caractère très avantageux dans l'évolution. Les plantes à $2n = 50$, c'est-à-dire les hyperoctoploïdes, sont les plus fréquentes au Portugal et probablement aussi en Espagne, France, Italie et Dalmatie. Ces plantes seront donc les plus réussites et elles finiront probablement par se superposer à toutes les autres.

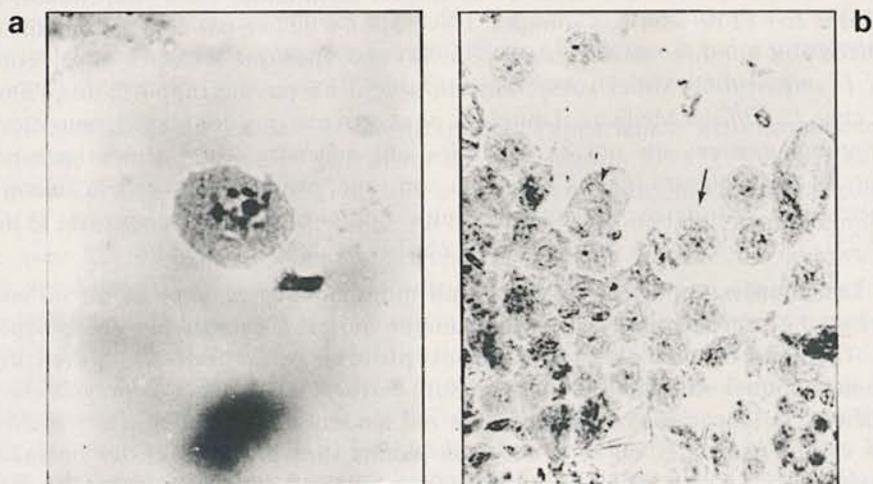
L'existence de plantes nonaploïdes présentant des métaphases I à 27 bivalents montre qu'il y a dans ces plantes de l'appariement entre des segments homologues de certains chromosomes, ce qui révèle que les garnitures réunies diffèrent au point de vue structurelle. Donc, il semble que, parallèlement à l'acquisition d'une méiose de type diploïde, ces plantes essayent encore une autre stratégie pour obtenir aussi, au moyen d'altérations structurelles des garnitures, une méiose régulière. Les plantes hyperoctoploïdes pourront être, les plus avancées dans cette voie.

REMERCIEMENTS

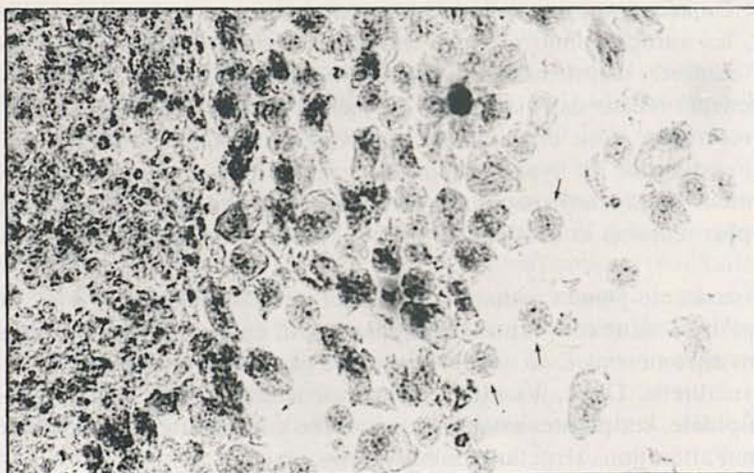
Au Conseil de Direction de l'Institut Botanique de Coimbra, nous remercions toutes les facilités qu'il nous a accordées pendant l'exécution de ce travail.

Nous remercions aussi les techniciens du même Institut de l'aide qu'ils nous ont otroyé pendant l'élaboration de ce travail.

PL I a,b,c



c



PL II a,b

a

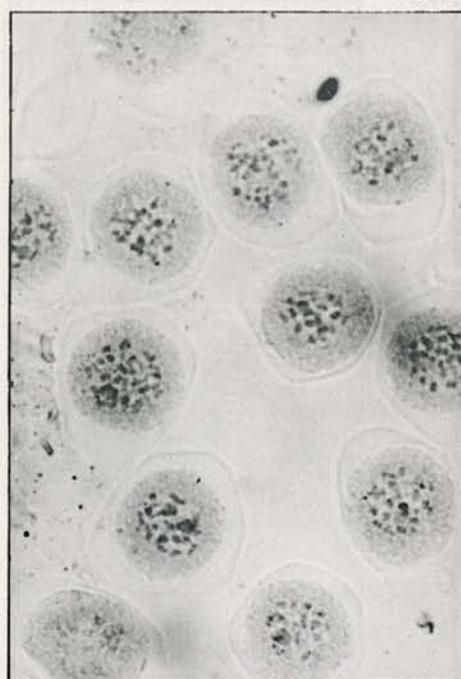


d

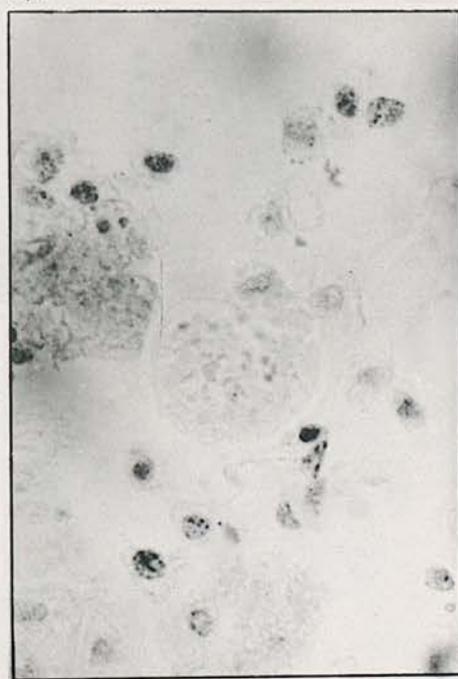


PL III a,b

a



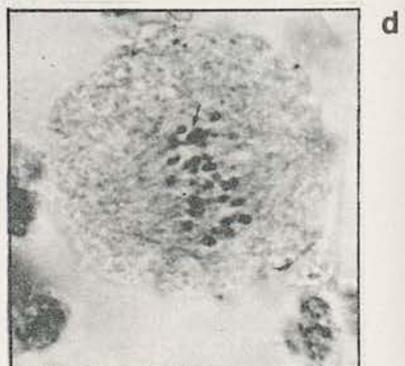
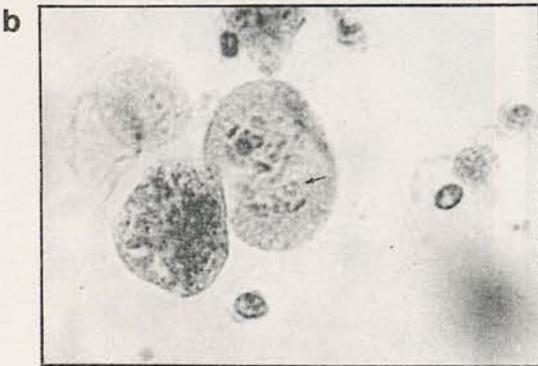
d



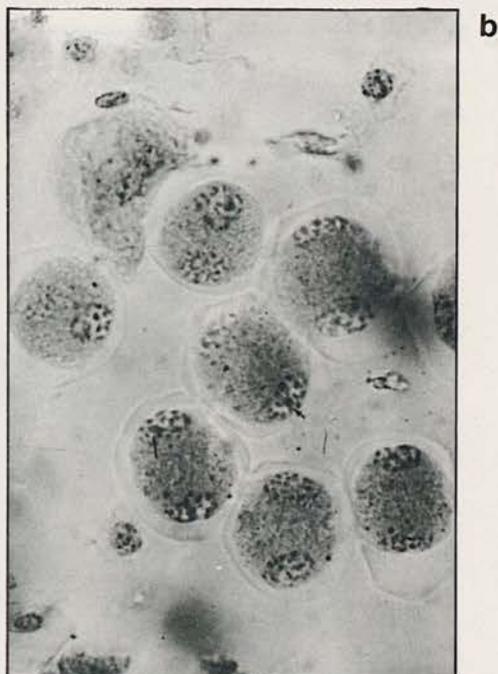
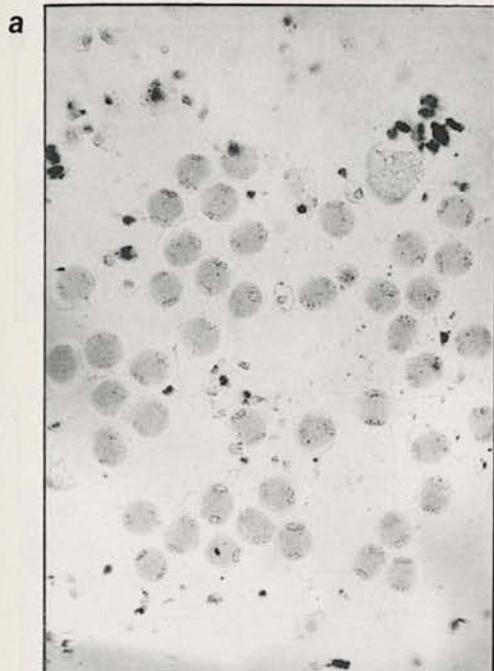
PL IV a,b



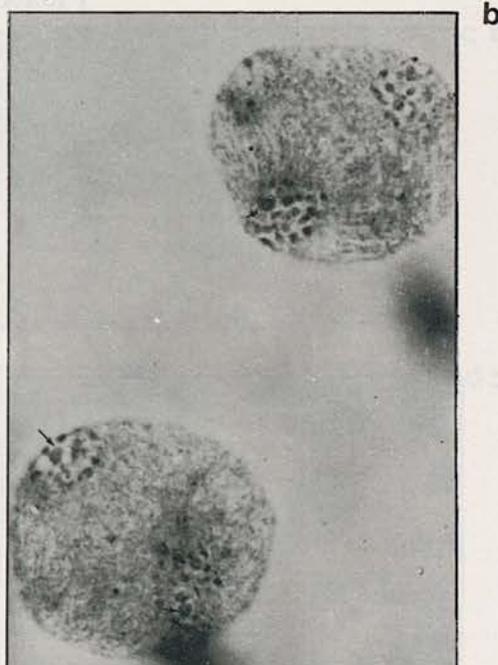
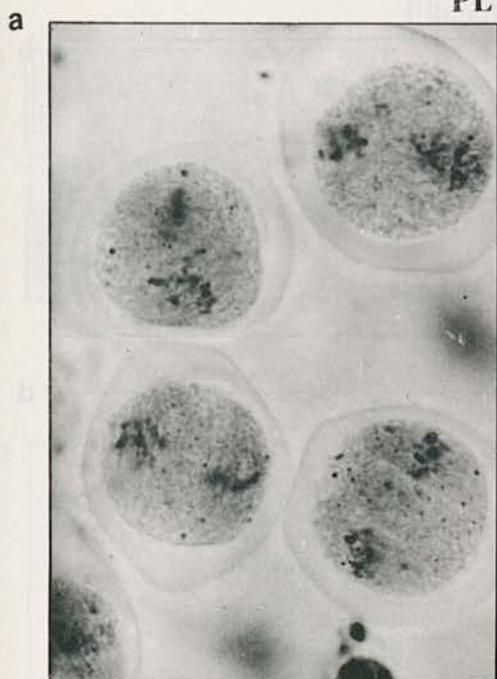
PL V a,b,c,d



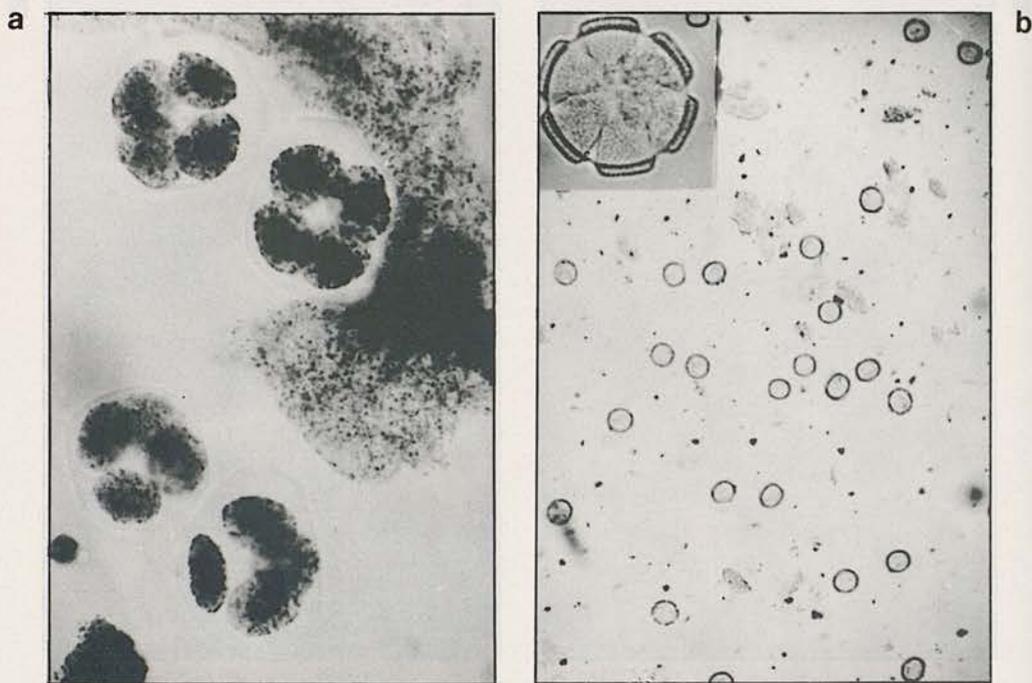
PL VI a,b



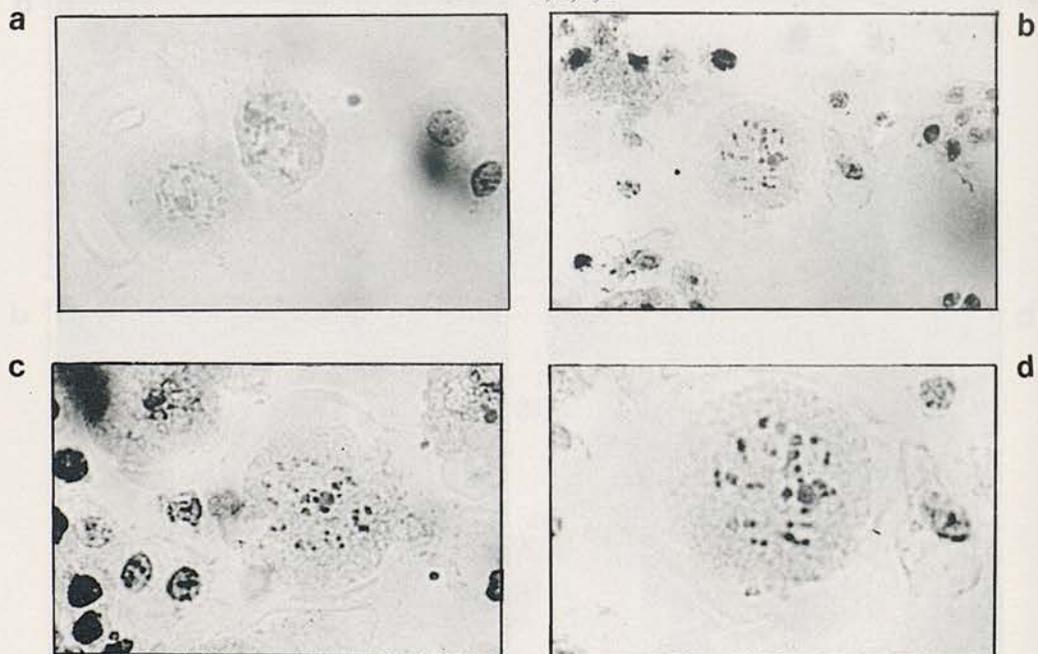
PL VII a,b



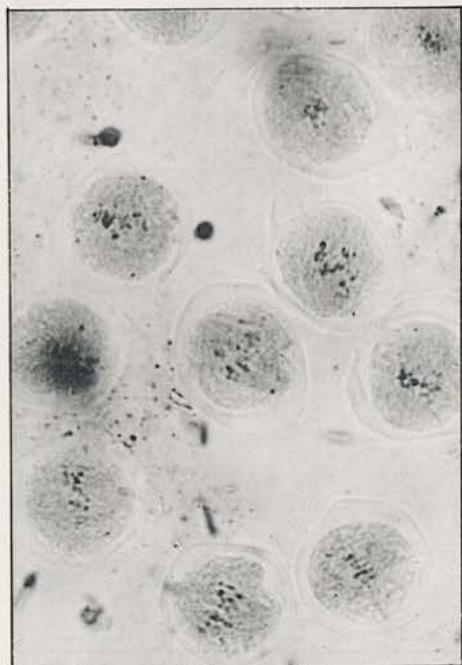
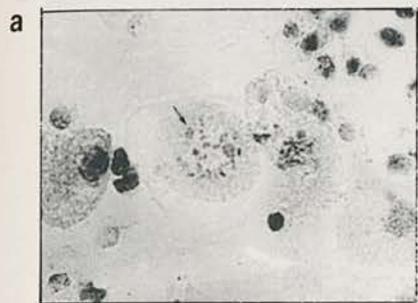
PL VIII a,b



PL IX a,b,c,d



PL X a,b,c



PL XI a,b,c,d



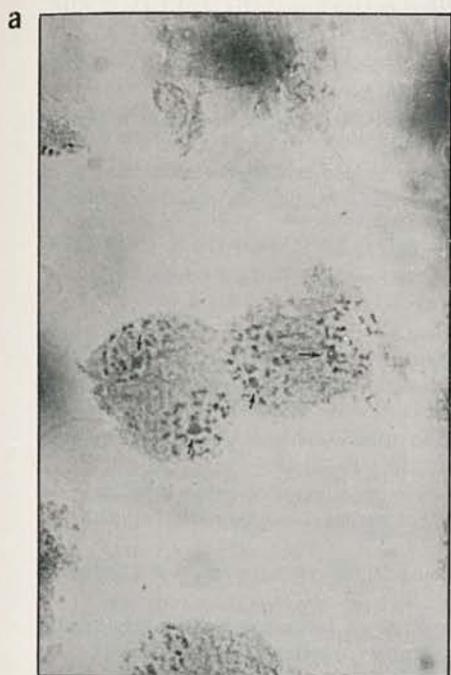
PL XII a,b,c



PL XIII a,b

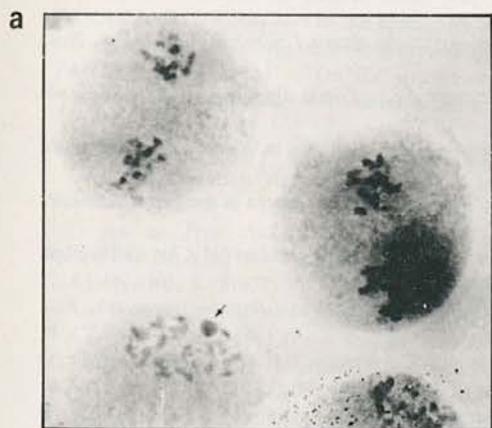


PL XIV a,b



b

PL XV a,b,c



c

BIBLIOGRAPHIE

- BOWMAN, J.G. & THOMAS, H. (1973) — B chromosomes and chromosome pairing in *Lolium perenne* × *Festuca arundinacea* hybrid. *Nature New Biol.* **245**:80-81.
- BROWN, M.S. (1945) — A comparison of pachytene and metaphase pairing in species hybrids of *Gossypium*. *Genetics* **39**: 962-963.
- CUNHA, A.P. da; QUEIRÓS, M. & ROQUE, O.R. (1984) — Estudo cariológico e determinação da composição química do óleo essencial de *Lavandula latifolia* Medicus da região de Coimbra. *Bol. Fac. Farm. Coimbra* **8**:27-34.
- DARLINGTON, C.D. (1932) — *Recent advances in cytology*. London.
- DIGBY, L. (1912) — The cytology of *Primula kewensis* and other related *Primula* hybrids. *Ann. Bot.*, London, **26**:357-388.
- DOVER, G.A. & RILEY, R. (1972) — Prevention of pairing of homoeologous meiotic chromosomes of wheat by an activity of supernumerary chromosomes of *Aegilops*. *Nature* **240**: 159-161.
- ENDRIZZI, L.E. (1962) — The diploid-like cytogenetical behaviour of tetraploid cotton. *Evolution* **16**: 325-329.
- EVANS, G.M. & MACEFIELD, A.J. (1972) — Suppression of homocologous pairing by B-chromosomes in *Lolium* species hybrid. *Nature New Biol.* **236**: 110-111.
- FERNANDES, A. & LEITÃO, M.T. (1982) — Contribuição para o conhecimento cariológico das *Lamiaceae* de Portugal. *Résumenes Comn. XVIII Jornadas Luso-Espanolas de Genética*: 150-151. Granada.
- FERNANDES, A. & LEITÃO, M.T. (1984) — Contribution à l'étude cytotoxonomique des *Spermatophyta* du Portugal XVIII. *Lamiaceae*. *Mem. Soc. Brot.* **27**: 27-75.
- FERNANDES, A. & LEITÃO, M.T. (1985) — Sur la caryologie de *Lavandula latifolia* Medicus. I — La microsporogénèse chez les plantes à $2\mu=36$ *Broteria Genética*, **6** (LXXXI): 161-178.
- FERNANDES, A.; FERNANDES, R. & ALMEIDA, M.T. (sous presse) — *Lavandula latifolia* Medicus: a reserve of wild-genes established by Sociedade Broteriana near Coimbra. International Symposium on Conservation of Genetic resources of Aromatic and Medicinal Plants. Oeiras, May 9-11. 1984.
- GARCIA, J.G. (1942) — Contribuição para o estudo cariológico do género *Lavandula* L. *Bol. Soc. Brot.*, 2.^a sér., **16**: 183-193.
- GUPTA, P.K. & KOAK, R. (1976) — Induced autotetraploidy in *Zinnia elegans* Jacq. *Cytologia* **41**: 187-191.
- JOHN, B. & HENDERSON, S.A. (1962) — Asynapsis and polyploids in *Schistocera parenensis*. *Chromosoma* (Berlin) **13**: 111-147.
- JORGENSEN, C.A. (1928) — The experimental formation of heteroploid plants in the genus *Solanum*. *Genetics* **19**: 133-271.
- KANEKO, K. (1961) — Cytogenetical studies on three high polyploid species of *Chrysanthemum*. *J. Sci. Hiroshima Univ. Ser. B, Div. 2*, **9**: 59-98.
- KARPETCHENKO, C.D. (1927) — Polyploid hybrids of *Raphanus sativus* × *Brassica oleracea* L. *Bull. Appl. Bot. Pl. Breed.* (Leningrad) **17**: 305-410.
- KOSTOFF, D. (1940) — Fertility and chromosome length. Correlation between chromosome length and viability of gametes of autopolyploids plants. *J. Heredity* **31**: 33-34.
- KÜPFER, Ph. (1974) — Recherches sur les liens de parenté entre la flore orophile des Alpes et celle des Pyrénées. *Boissiera*, **23**: 1-322.
- LADIZINSKY, G. (1973) — Genetic control of bivalent pairing in the *Avena strigosa* polyploid complex. *Chromosoma* (Berlin) **42**: 105-110.
- MOCHIZUKI, A. (1964) — Further studies on the effect of accessory chromosomes on chromosome pairing. *Japan. J. Genet.* **39**: 356.

- MOCHIZUKI, A. (1965) — Effect of accessory chromosomes of rye on chromosome association. *Japan. J. Genet.* **40**: 404-405.
- MÜNTZING, A. (1932) — Cytogenetic investigations on the synthetic *Galeopsis tetrahit*. *Hereditas* **16**: 105-154.
- MÜNTZING, A. (1936) — The evolutionary significance of autopolyploidy. *Hereditas* **21**: 263-378.
- NAGAMI, S. (1954) — On the polyploidy and the distribution of *Chrysanthemum* found in East Japan. *Sci. Rep. Yokohama Nat. Univ. Sec. II, N.º 3*: 36-48.
- OKAMOTO, M. (1957) — Asynaptic effect of chromosome V. *Wheat Inform. Serv.* **5**: 6.
- QUEIRÓS, M. (1983) — Notas citológicas em *Labiatae* portuguesas. *Bol. Soc. Brot., 2.ª sér.*, **56**: 71-77.
- RILEY, R. & CHAPMAN, V. (1958) — Genetic control of the cytologically diploid behaviour in hexaploid wheat. *Nature (London)* **182**: 713-715.
- SEARS, E.R. & OKAMOTO, M. (1958) — Intergenomic relationships in hexaploid wheat. *Proc. Xth Int. Congr. Genet.* **2**: 258-259.
- SHIMOTOMAI, N. (1933) — Zur Karyogenetik der Gattung *Chrysanthemum*. *J. Sci. Hiroshima Univ. Ser. B, Div. 2, 1*: 1-100.
- SHIMOTOMAI, N. & TANAKA, R. (1952) — Über die zweierlei F₁-Artbastarde von *Chrysanthemum makinoi* (2n=18) × *Ch. japonense* (2n=54). *J. Sci. Hiroshima Univ. Ser. B, Div. 2, 6*: 39-44.
- SVED, J.A. (1966) — Telomere attachment of chromosomes. Some general and cytological consequences. *Genetics* **53**: 747-756.
- SYBENGA, J. (1966) — The zygomere as hypothetical unit of chromosome pairing initiation. *Genetics* **37**: 186-198.
- TAKEMOTO, T. (1939) — Über die Morphologie der Chromosomen bei einer Art und zwei Bastarden von *Chrysanthemum*. *J. Sci. Hiroshima Univ. Ser. B, Div. 2, 3*: 205-209.
- TANAKA, R. (1952a) — Vergleichende Untersuchung über die Fertilität by Selbstbestäubung in der Polyploidie von *Chrysanthemum*, *Japan. J. Genetics* **27**: 1-2.
- TANAKA, R. (1952b) — Cytologische Untersuchungen über die triploiden F₁-Artbastarde von *Chrysanthemum makinoi* (2n=18) × *Ch. wakasaense* (2n=36) und einen triploiden Mutant von *Ch. makinoi*. *J. Sci. Hiroshima Univ. Ser. B, Div. 2, 6*: 45-59.
- TANAKA, R. (1959a) — On the speciation and karyotypes in diploid species of *Chrysanthemum* I. Karyotypes in *Chrysanthemum boreale* (2n=18). *J. Sci. Hiroshima Univ., Ser. B, Div. 2, 9*: 1-16.
- TANAKA, R. (1959b) — On the speciation and karyotypes in diploid and tetraploid species of *Chrysanthemum* IV. *Chrysanthemum wakasaense* (2n=36). *J. Sci. Hiroshima Univ., Ser. B, Div. 2, 9*: 41-58.
- TANAKA, R. (1960) — On the speciation and karyotypes in diploid species of *Chrysanthemum* V. *Chrysanthemum yoshinaganthum* (2n=36). *Cytologia* **25**: 43-58.
- THOMAS, J.B. & KALTISIKES, P.J. (1974) — A possible effect of heterochromatin on chromosome pairing. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **71**: 2787-2790.
- UPCOTT, M. (1937) — The nature of tetraploidy in *Primula kewensis*. *J. Genet.* **39**: 79-100.
- WATANABE, K. (1977) — The control of diploid-like meiosis in polyploid taxa of *Chrysanthemum* (*Compositae*). *Japan. J. Genetics* **52** (2): 125-131.
- WATANABE, K. (1981a) — Studies on the control of diploid-like meiosis in polyploid taxa of *Chrysanthemum* I. Hexaploid *Ch. japonense* Nakai. *Cytologia* **46** (3): 459-498.
- WATANABE, K. (1981b) — Studies on the control of diploid-like meiosis in polyploid taxa of *Chrysanthemum* II. Octoploid *Ch. ornatum* Hemsley. *Cytologia* **46** (3): 499-513.
- WATANABE, K. (1981c) — Studies on the control of diploid-like meiosis in polyploid taxa of *Chrysanthemum* III. Decaploid *Ch. crassum* Kitamura. *Cytologia* **46** (3): 515-530.
- WATANABE, K.; CARTER, C.R. & SMITH-WHITE, S. (1976) — The cytology of *Brachycome lineariloba* 6. Asynchronous chromosome condensation and meiotic behaviour in *B. lineariloba* A (n=2) × *B. campilocarpa* A (n=4). *Chromosoma (Berlin)* **57**: 319-331.

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS

- Pl. I — *a*, Diacinèse à 12 bivalents. $\times 600$. *b*, Jeunes microspores (flèche) libérées après la dissolution des parois des tétrades. $\times 650$. *c*, Jeunes microspores et grains de pollen à 6 colpes (flèches). $\times 500$.
- Pl. II — *a*, Jeunes microspores (flèche moins épaisse) et un grain de pollen complètement développé à 6 colpes (flèche plus épaisse). $\times 1000$. *b*, *Idem* $\times 1000$.
- Pl. III — *a*, Diacinèses à 25 bivalents. $\times 400$. *b*, Diacinèse à 25 bivalents à un plus fort grossissement. $\times 600$.
- Pl. IV — *a*, Deux diacinèses à 25 bivalents, dont 4 attachés au nucléole sur la figure de la gauche (flèche). $\times 600$. *b*, *Idem* à un plus fort grossissement montrant 4 bivalents attachés au nucléole (flèche). $\times 900$.
- Pl. V — *a*, et *b*, Diacinèses montrant quelques bivalents en anneaux (flèches) à 2 chiasmata terminaux. *c*, *d*, La même métaphase I à deux grossissements différents. La flèche indique le chromosome à chiasma interstitiel (flèche). *a*, *b*, et *c* $\times 600$, *d* $\times 900$.
- Pl. VI — *a*, Un aspect du champ du microscope montrant de nombreuses télophases I. $\times 250$. *b*, Télophases I normales dans lesquelles nous avons compté toujours 25 chromosomes (les flèches indiquent des nucléoles). $\times 600$.
- Pl. VII — *a*, Quatre métaphases II. $\times 900$. *b*, Deux télophases II, montrant chromosomes et nucléoles (flèches). $\times 900$.
- Pl. VIII — *a*, Tétrades normales. $\times 600$. *b*, Pollen bien conformé avant l'apparition des colpes (un seul grain les montre). $\times 120$. *c*, Grain de pollen montrant les colpes. $\times 600$.
- Pl. IX — *a*, Diacinèse à 27 bivalents. $\times 400$. *b*, Diacinèse à $3_{IV}+4_{III}+15_{II}$. $\times 600$. *c*, Diacinèse à $4_{IV}+2_{III}+16_{II}$. $\times 400$. *d*, *Idem*. $\times 900$.
- Pl. X — *a*, Diacinèse à $1_V+2_{IV}+1_{III}+19_{II}$ (la flèche indique le pentavalent). $\times 400$. *b*, La même figure. $\times 600$. *c*, Métaphases I montrant des irrégularités. $\times 400$.
- Pl. XI — *a*, *b*, Métaphases I, montrant des multivalents, bivalents et univalents, *a*, $\times 400$, *b*, $\times 600$. *c*, Métaphase I montrant des univalents, bivalents et multivalents ainsi qu'une association à 7 éléments (flèche). $\times 400$. *d*, La même figure à un plus fort grossissement. $\times 600$.
- Pl. XII — *a*, Phénomènes de cytomixie au pachytène-diplotène. $\times 600$. *b*, Diacinèse à 30 bivalents. $\times 600$. *c*, Une autre diacinèse à 30 bivalents. $\times 600$.
- Pl. XIII — *a*, Télophases I sur lesquelles les flèches indiquent les nucléoles. $\times 400$. *b*, Les mêmes à un plus fort grossissement montrant 30 chromosomes et des nucléoles (flèches). $\times 600$.

Pl. XIV — *a*, Deux télophases I aux premiers stades montrant 30 chromosomes et des nucléoles (flèches). $\times 600$. *b*, Deux télophases I (les flèches indiquent des nucléoles) et deux métaphases II. $\times 400$.

Pl. XV — *a*, Deux moitiés de télophases I et deux métaphases II. $\times 900$. *b*, Métaphase II à fuseaux parallèles. $\times 400$. *c*, Tétrade normale (flèche) et métaphase II à fuseaux perpendiculaires. $\times 400$.

DIVERSIDADE FENOTÍPICA EM *DIPLOPS ALBUS* L. NA REGIÃO MEDITERRÂNEA

L. S. NEFF, MARCOS M. D. A. NEFFIAS

Departamento de Zoologia, Instituto Superior de Agronomia, 13100

Alameda do Campo Alegre, 1069, 13100, Portugal, Portugal

SUMÁRIO

A study of morphological variation in *Diplops albus* L. was carried out on samples of sampled populations from Évora, Faro and the Algarve, as well as other and different populations from the Iberian...

Results of principal component analysis and other statistical approaches clearly indicated that morphological variation among populations was the result of genetic...

1. Genetic variation amongst all the populations sampled was a result of genetic drift as well as other evolutionary forces such as mutation and migration to other populations. Following this...
2. The Faro population was similar to populations from other localities but distinguished by a smaller number of...
3. Genetic divergence amongst the Faro population, Faro and Évora, was due to genetic drift...
4. Genetic variation amongst all the Faro and Algarve populations, representing different...

INTRODUÇÃO

A diversidade genética das *Diplops* (Diptera) de uma cultura dependo da...

DIVERSIDADE FENOTÍPICA EM *LUPINUS ALBUS* L. DA REGIÃO MEDITERRÂNICA

J. M. NEVES MARTINS, M. J. A. SIMPSON*

Departamento de Botânica, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa

* Agricultural Botany Department, University of Reading, England

SUMMARY

A study of geographical variation in *Lupinus albus* L. was based on seed samples of cultivated populations from Iberia, Turkey and the Nile Valley, as well as wild and cultivated population from the Balkans.

Results of principal component analysis and non-metric multidimensional scaling indicated that morphological variation among populations can be characterised as follows.

1. *Iberian race*: composed of a large-seeded ecotype and a small seeded ecotype as well as cline which runs from south Spain and Portugal to north Portugal. Flowering time, leaf size and leaf number increase from south to north, while pod and seed size tend to decrease. The race as a whole can be distinguished by its lack of features which characterise other races, despite the "megalosperma" type appear in Leiria region.
2. *Nile Valley race*: similar to populations from south Iberia but distinguished by a shorter rosette stage and fewer main stem leaves, which are relatively small.
3. *Turkish race*: characterised by very small pods, seeds and leaves, few main stem leaves, few primary pods, more secondary pods and numerous tertiary and higher level pods.
4. *Balkan race*: composed of both wild and cultivated ecotypes, characterised by short stature and abundant primary and secondary pods. Wild populations are readily distinguished from cultivated types by their shorter stems, deep blue flowers, shattering pods and coloured seeds that have impermeable testas. Hybrid populations between wild and cultivated types occur in southern Greece.

INTRODUÇÃO

A utilização eficiente dos Recursos Genéticos de uma cultura, depende do conhecimento e da interpretação da amplitude da variação morfológica e genética nela contida. O tremoço branco (*Lupinus albus* L.) tem sido reconhecido como uma espécie claramente definida dentro de um género natural e diferenciável (GLADSTONES, 1974; BISBY, 1981), mas em que abaixo do nível da espécie, as

cultivadas (FRANCO e P. DA SILVA, 1968; GLADSTONES, 1974) até ao reconhecimento de 5 grupos sub-específicos (ANIOL *et al.*, 1968). O objectivo deste estudo pretendeu caracterizar e avaliar a variabilidade das populações cultivadas e selvagens de *L. albus* L. que previamente tinham sido amostradas nas áreas geográficas de distribuição da espécie da Bacia Mediterrânica (MARTINS, 1981; SIMPSON e MCGIBBON, 1982, 1983 e PAPINEAU, 1982). As amostras das populações foram estudadas, usando as técnicas de Taxonomia Numérica pois proporcionam análises objectivas de grande quantidade de dados morfológicos e facilitam a determinação do padrão de variação infra-específica.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi conduzido durante três anos e consistiu de três ensaios de campo e um outro em condições de estufa, durante os anos de 1981 a 1983, usando-se sempre como padrões duas variedades uma francesa «Lucky» e uma da URSS a «Murante de Kievsky», num sistema de blocos casualizados, com 4 repetições (Quadro 1). A maioria das amostras das populações eram variedades regionais (*L. albus* var. *albus*), colhidas em Portugal, Espanha, Grécia, Turquia e Vale do Nilo, às quais se juntaram ecotipos selvagens de *L. albus* var. *graecus* nos Ensaios 2 e 3, assim como formas híbridas entre os tipos cultivados e selvagens, (Figuras 1, 2 e 3). As variedades padrão usadas nos ensaios proporcionaram a comparação dos resultados obtidos nos diferentes anos.

Os Ensaios de 1 a 3 tiveram por objectivo analisar uma vasta gama de amostras, enquanto que o Ensaio 4 proporcionou um teste de confiança nos métodos numéricos, comparando o padrão de variabilidade da colecção Portuguesa com o da Península Ibérica quando analisada como um todo, no Ensaio 1.

Uma confirmação adicional da solidez dos métodos usados foi conseguida com a inclusão no Ensaio 3 de populações diferentes das usadas no Ensaio 2, apesar de cobrirem a mesma distribuição geográfica amostrada na Grécia.

QUADRO 1
Os 4 ensaios realizados em populações de diferentes proveniências

Ensaio	Ano	Origem do material	Campo (C) Estufa (E)	Padrões
1	1981	Portugal e Espanha	C	MK, L
2	1982	Balcãs, Espanha e Vale do Nilo	C	MK, L
3	1983	Grécia e Turquia	C	MK, L
4	1983	Portugal	E	L

QUADRO 2
Características analisadas nas Experiências de 1 a 4

Características Estudadas	Experiências			
	1	2	3	4
1 N.º de dias até a germinação	1	1	1	1
2 Comprimento do cotilédono (cm)	1	1	1	1
3 Largura do cotilédono (cm)	1	1	1	1
4 Duração do estudo de roseta	1	1	1	1
5 N.º de dias até ao aparecimento da 1.ª flor	1	1	1	1
6 N.º de folhas no caule principal	1	1	1	1
7 Comprimento do maior folíolo (cm)*	1	1	1	1
8 Largura desse maior folíolo (cm)*	1	1	1	1
9 Comprimento da estipula nessa folha (cm)*	1	1	1	1
10 Largura da estipula (cm)*	1	1	1	1
11 Comprimento do pecíolo nessa folha (cm)*	1	1	1	1
12 Largura do pecíolo (cm)*	1	1	1	1
13 Comprimento do estandarte da 1.ª flor (cm)	1	1	1	1
14 Largura do estandarte (cm)	1	1	1	1
15 Comprimento do cálice na 1.ª flor (cm)	1	1	1	1
16 Largura do cálice na 1.ª flor (cm)	1	1	1	1
17 Cor das flores: Branca (1) - Azul escuro (5)	1	1	1	1
18 N.º de vagens no caule principal	1	1	1	1
19 Comprimento da vagem (cm)	1	1	1	1
20 Largura da vagem (cm)	1	1	1	1
21 Espessura da parede da vagem (cm)	1	1	1	1
22 N.º de sementes por vagem	1	1	1	1
23 Altura da planta (cm)	1	1	1	1
24 Altura até à primeira vagem (cm)	1	1	1	1
25 N.º de dias até a maturação completa	1	1	1	1
26 Comprimento da semente (cm)	1	1	1	1
27 Largura da semente (cm)	1	1	1	1
28 Cor das primeiras 5 folhas: Verde claro (1) - Verde escuro (3)	1	1	1	1
29 Duração da floração na inflorescência principal	1	1	1	1
30 N.º de dias até a floração secundária	1	1	1	1
31 Duração da floração secundária	1	1	1	1
32 Comprimento da inflorescência principal (cm)	1	1	1	1
33 N.º de folíolos*	1	1	1	1
34 N.º de pêlos em 2mm ² da face inferior do folíolo*	1	1	1	1
35 N.º de vagens secundárias	1	1	1	1
36 N.º de ramos secundários	1	1	1	1
37 Altura da inserção do 1.º ramo (cm)	1	1	1	1
38 Comprimento do 1.º ramo (cm)	1	1	1	1
39 Espessura do caule (cm)	1	1	1	1
40 N.º de vagens terciárias e superiores	1	1	1	1
41 Presença ou ausência da deiscência (0-1)	1	1	1	1
42 Cor da semente (1-branca; 2-Acast.; 3-Castanho)	1	1	1	1
43 N.º de folíolos da 5.ª folha	1	1	1	1
44 Comprimento do folíolo da 5.ª folha (cm)	1	1	1	1
45 Largura do folíolo da 5.ª folha (cm)	1	1	1	1
46 Comprimento do pecíolo da 5.ª folha (cm)	1	1	1	1
47 Comprimento médio dos ramos secundários (cm)	1	1	1	1
48 Altura à primeira flor (cm)	1	1	1	1

* Características medidas na folha abaixo da 1.ª inflorescência.

As medições das características morfológicas ao longo do ciclo de desenvolvimento (Quadro 2) foram feitas em plantas individualizadas, submetendo em seguida os dados à Análise dos Componentes Principais (ACP) que fornecem uma informação valiosa quanto à importância relativa das características consideradas na diferenciação das populações assim como uma representação a duas dimensões das semelhanças e diferenças entre as populações amostradas.

Nos Ensaios de 1 a 3, submeteram-se os dados colhidos a uma segunda análise denominada Ordenação Multidimensional não-métrica (OMD N-M) que difere da ACP quanto ao modelo subjacente, pois relaciona as dissimilaridades taxonómicas com distâncias diagramáticas (DUNN e EVERITT, 1982). A Ordenação Multidimensional foi usada com um coeficiente de dissimilaridade — k (JARDINE e SIBSON, 1971) que opera os valores das características dos indivíduos dentro das populações, enquanto que na ACP foram usadas as médias das populações.

Os dois métodos proporcionam soluções de classificação contrastantes e a concordância dos seus resultados aumenta a probabilidade da estrutura dos grupos indicada se aproximar da realidade, deixando possíveis artefactos dos métodos de classificação.

As informações detalhadas das amostras populacionais, incluindo o significado da numeração, foram apresentadas já noutros trabalhos (MARTINS, 1981; SIMPSON, 1982 e MOTA *et al.*, 1982).

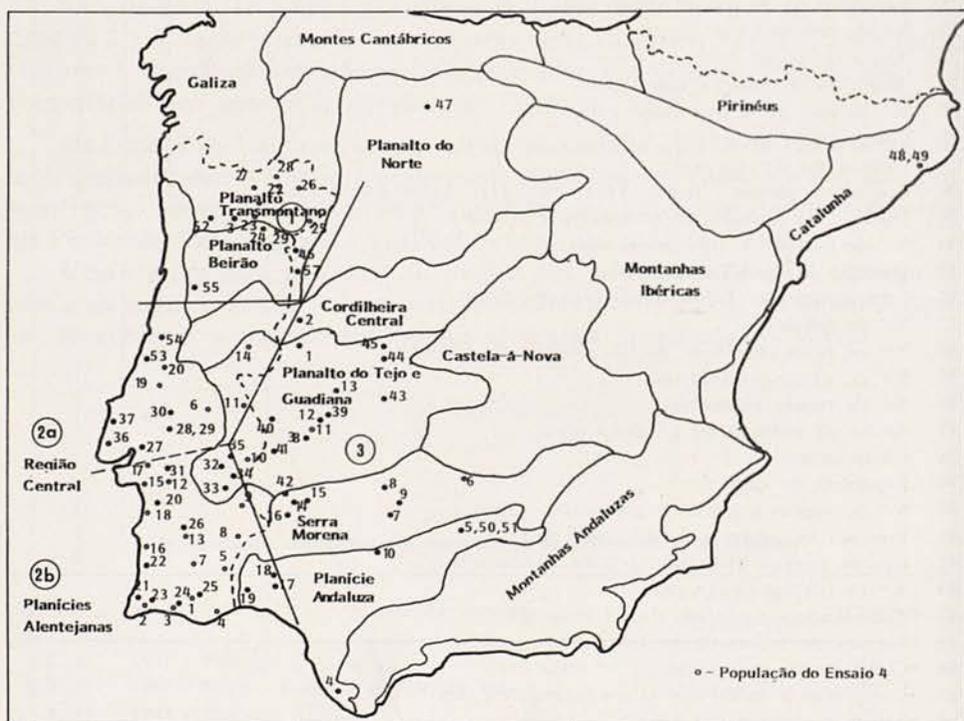


Fig. 1 — Península Ibérica: Algumas regiões climáticas e populações de *L. albus* estudadas

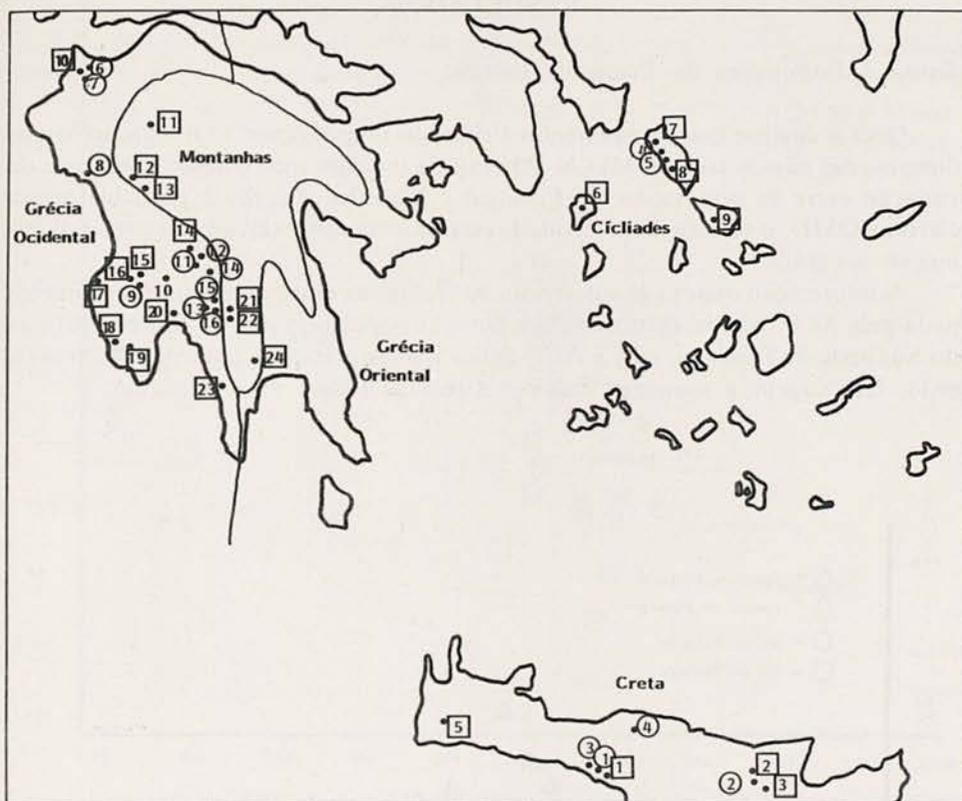


Fig. 2 — Grécia: Algumas regiões climáticas e populações estudadas indicando-se □ — Ensaio 2 e ○ — Ensaio 3.

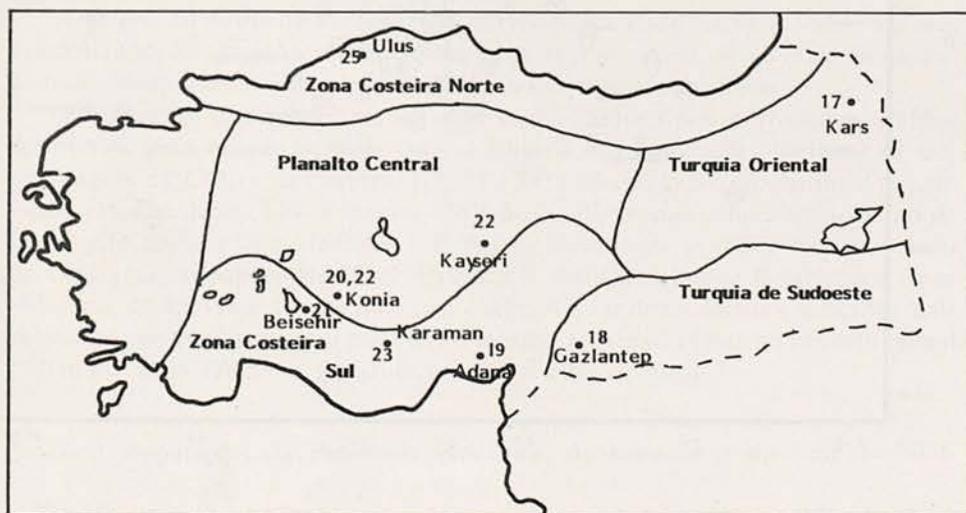


Fig. 3 — Turquia: Algumas regiões climáticas e populações estudadas.

RESULTADOS

Ensaio I: Populações da Península Ibérica:

Quer a Análise dos Componentes Principais (Fig. 4) quer a Ordenação Multi-dimensional não-métrica (OMD N-M) (Fig. 5) indicam uma grande amplitude de variação entre as populações de Portugal e Espanha, e como é particularmente claro na OMD, o padrão da diversidade está intimamente relacionada com a distribuição geográfica.

A informação quanto às diferenças morfológicas entre os grupos é proporcionada pela ACP. Não há distinção clara entre as populações do Sul de Portugal e as do Sudoeste de Espanha, mas a ACP indica que as primeiras tendem a florir mais cedo, têm vagens e sementes maiores e têm as folhas mais pequenas.

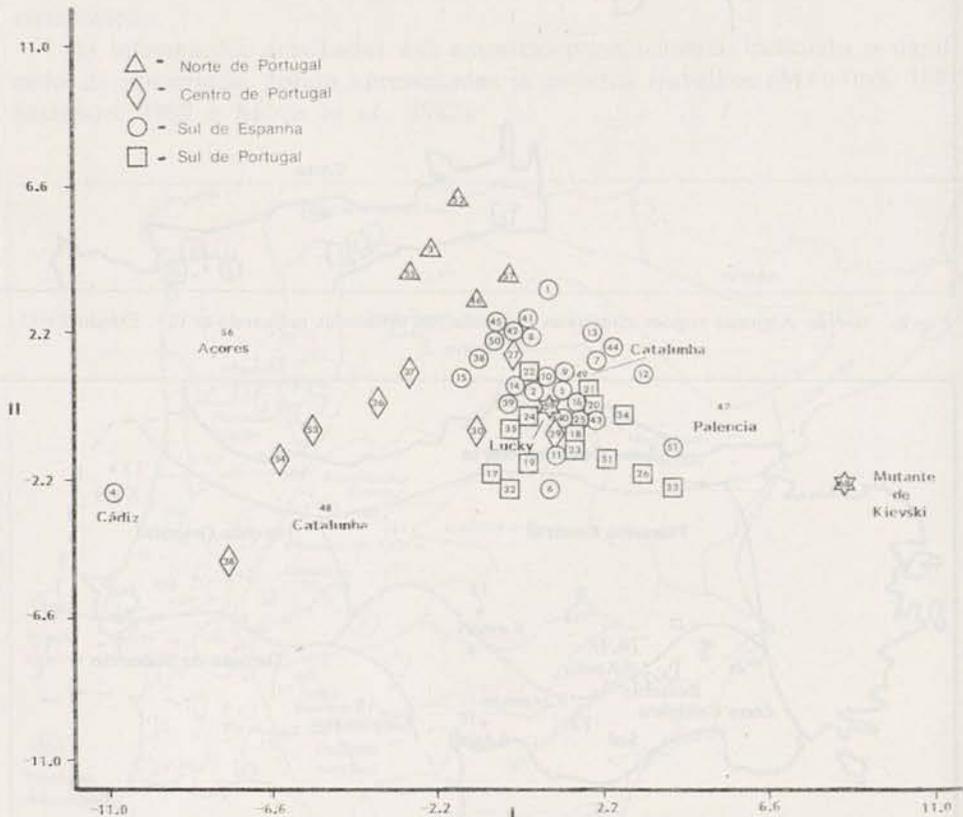


Fig. 4 — Populações da Península Ibérica. A componente principal I explica 41% da variação total e a II explica 18%.

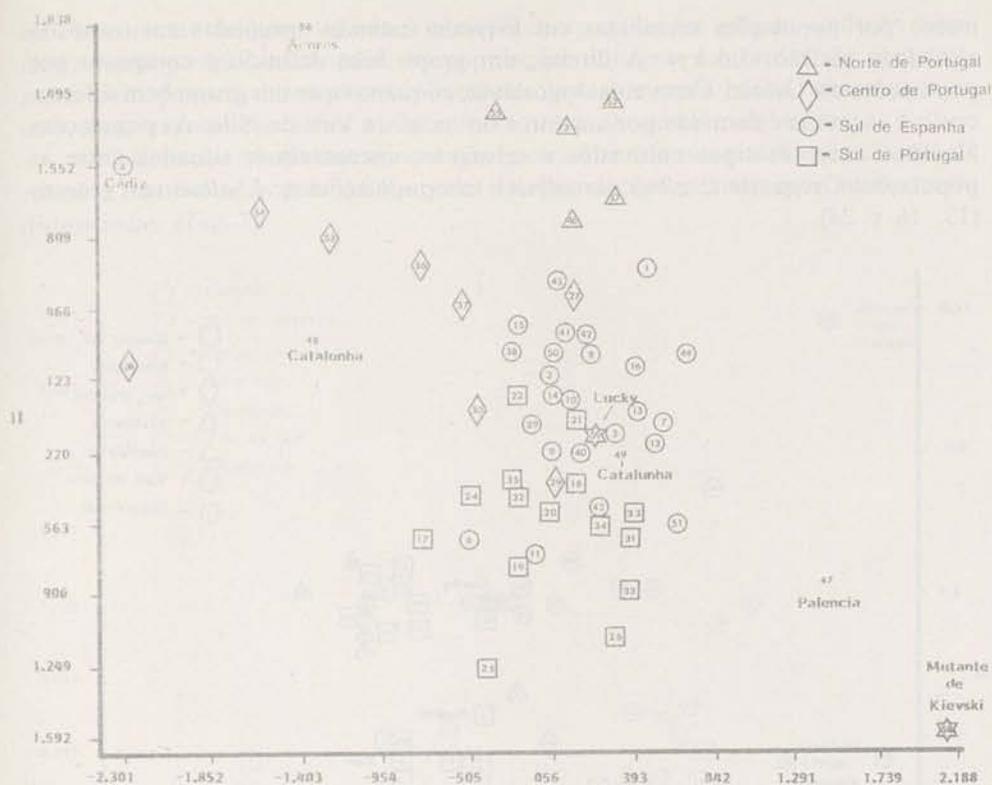


Fig. 5 - Populações da Península Ibérica: A-Ordenação Multidimensional não-métrica (OMD N-M) tem a dimensão I desenhada contra a dimensão II. Esta configuração tem um valor de «stress» de 0,14

Os tipos do Norte de Portugal são diferenciáveis dado terem as folhas maiores e um tempo de floração maior, apesar das vagens serem de idêntico tamanho, quando comparadas com as populações nordestinas espanholas.

Este padrão representa uma variação contínua dos tipos morfológicos e assim descreve uma relação «clinal» entre a maioria das populações Ibéricas. As três populações do Centro de Portugal (28, 53 e 54) e três de locais tão distintos quanto Cádiz (4), Catalonha (48) e Açores (56) são relativamente altas com um tipo de maturação tardia e com sementes e folhas invulgarmente grandes. No outro lado do diagrama, a população 47 de Palência é mais semelhante à variedade russa «Mutante de Kievski» do que qualquer outra. Apesar de ter folhas e sementes mais pequenas que qualquer outra população Ibérica, tem mais folhas no caule principal e demora mais tempo a amadurecer que a cultivar russa.

Ensaio 2: Populações da Península Balcânica, de Espanha e do Vale do Nilo.

O diagrama da ACP (Fig. 6) apresenta uma separação clara de três grupos ao longo do Primeiro Componente Principal. O grupo central é formado principal-

mente por populações recolhidas em Espanha estando agrupadas em torno da variedade padrão «Lucky». À direita, um grupo bem definido é composto por populações da Grécia, Creta e da Jugoslávia, enquanto que um grupo bem diferenciado à esquerda é formado por amostras oriundas do Vale do Nilo. As populações híbridas, entre os tipos cultivados e selvagens, encontram-se situadas entre as populações Gregas de *L. albus* var. *albus* e três populações de *L. albus* var. *graecus* (13, 16 e 24).

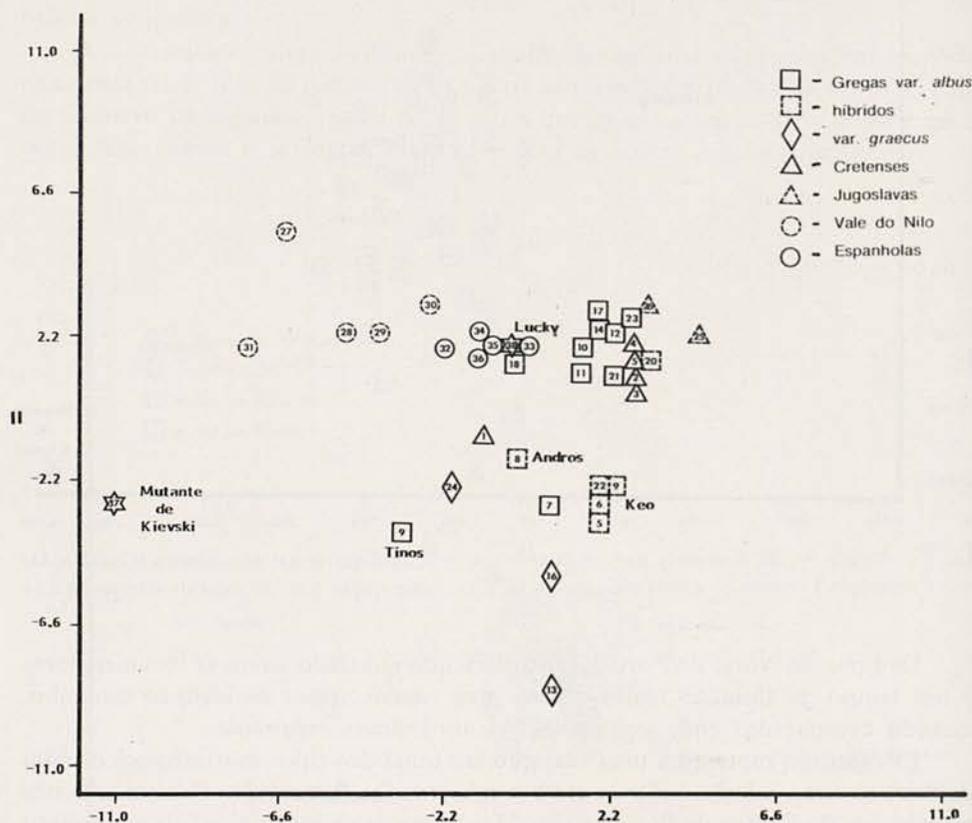


Fig. 6— Populações Gregas, Espanholas e do Vale do Nilo: A componente I contribui com 26% e a II com 21% da variabilidade total

A população (7) de Andros, a população (9) de Tinos e uma população de Creta (1) estão colocadas mais na vizinhança das populações híbridas que na proximidade das suas congéneres gregas de *L. albus* var. *albus*.

As populações gregas tendem a ter mais folhas no caule principal com uma cor verde mais escura, vagens mais suculentas assim como um estádio de roseta mais prolongado, sendo a característica mais saliente a produção de numerosas vagens primárias e secundárias. As proveniências do Vale do Nilo estão situadas

no extremo morfológico oposto à posição das populações gregas, tendo as espanholas uma posição intermédia. As populações selvagens e híbridas são caracterizadas pelo pequeno tamanho das sementes, estatura mais baixa, sementes mais coloridas, vagens deiscientes e flores com uma cor azul mais escura.

A Ordenação Multidimensional não métrica revela um padrão semelhante às relações manifestadas pela ACP apesar das populações estarem mais nitidamente distanciadas (Fig. 7).

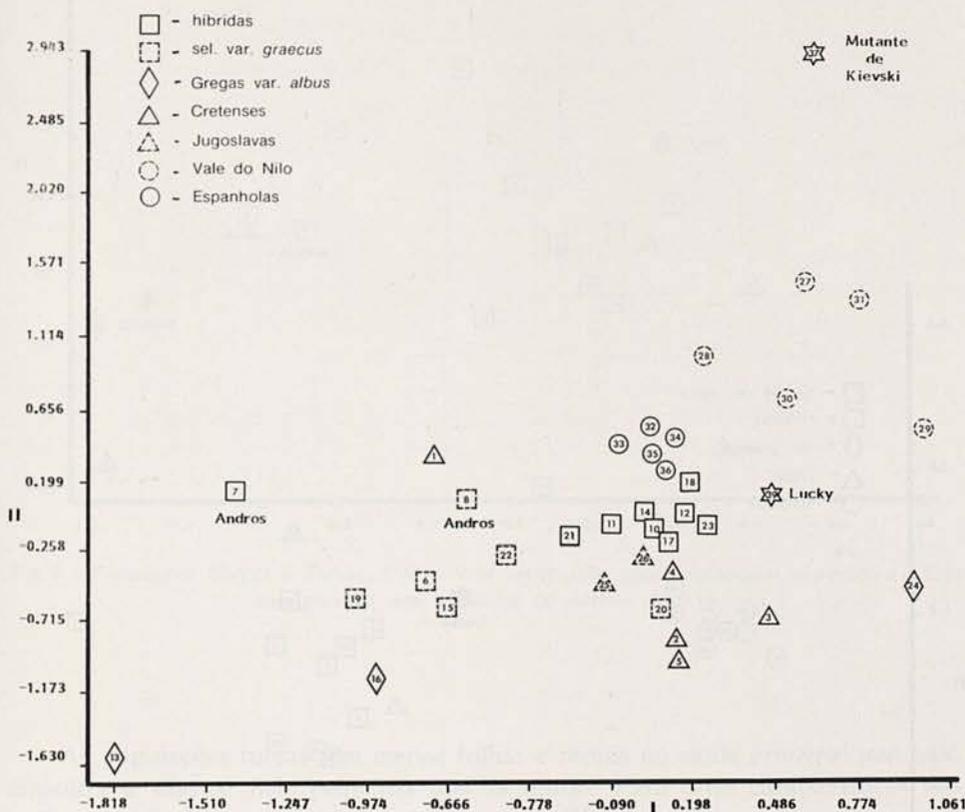


Fig. 7 — Populações Gregas, Espanholas e do Vale do Nilo: OMD N-M (ordenação multidimensional não métrica). A dimensão I está representada contra a dimensão II. Esta configuração tem um valor de «stress» de 0,16

Ensaio 3: Populações da Grécia e da Turquia

Quer a Análise dos Componentes Principais (Fig. 8) quer a Ordenação Multidimensional não-métrica (Fig. 9) revelam grandes diferenças na extensão da variabilidade representada nas populações provenientes da Grécia e da Turquia. Apesar de terem origens distintas (Fig. 2) os tipos Turcos são muito uniformes como se constata facilmente, enquanto que as proveniências da Grécia são muito mais

diversas, como seria de prever de um grupo que reunia populações selvagens, cultivadas e híbridas.

A ACP situa as populações turcas na proximidade da variedade «Mutante de Kievski» no Primeiro Componente Principal mas distancia-as no Segundo Componente. A variedade «Lucky» adopta a sua posição familiar no centro do diagrama distanciada quer das populações gregas quer das turcas.

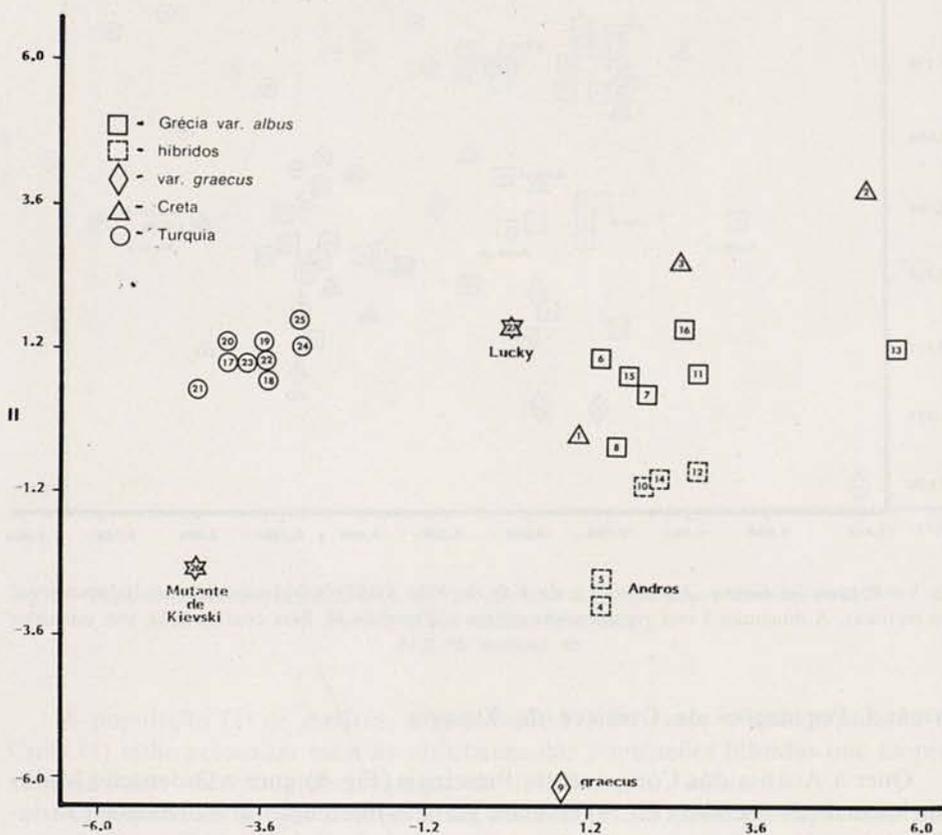


Fig. 8 — Populações Gregas e Turcas: O primeiro componente principal (I) contribui com 46% de explicação da variação total. O segundo componente principal (II) contribui com 21%

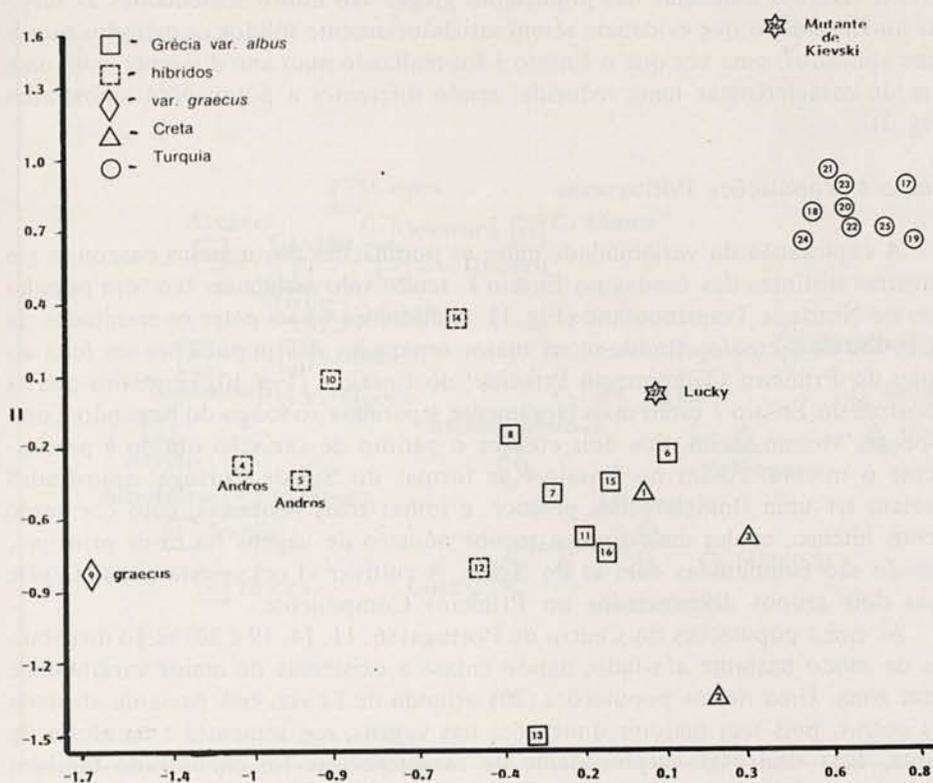


Fig. 9 — Populações Gregas e Turcas: OMD N-M (ordenação multidimensional não-métrica). Esta configuração tem um valor de «stress» de 0,11

As populações turcas têm menos folhas e ramos no caule principal mas com sementes e vagens mais pequenas que as outras. Para estas características são muito semelhantes à variedade «Mutante de Kievski».

As diferenças mais óbvias entre as populações da Grécia e da Turquia relacionam-se com o número das vagens nos diferentes níveis produtivos da planta. Assim as turcas têm menos vagens no caule principal, mais vagens no nível secundário, aumentando nos níveis superiores de localização na planta, enquanto que as populações gregas de *L. albus* var. *albus*, tendem a ter numerosas vagens no primeiro e segundo níveis de produção e relativamente menos nos níveis superiores.

As diferenças entre as populações gregas de *L. albus* var. *albus* e *L. albus* var. *graecus* e as suas formas híbridas, indicam um padrão idêntico ao mostrado no Ensaio 2. Assim os tipos selvagens e híbridos tendem a ser mais baixos que os outros, com um pequeno número de folhas e flores, tendo estas últimas um azul mais escuro.

As relações indicadas nas populações gregas são muito semelhantes às surgidas no Ensaio 2 o que evidencia serem satisfatoriamente sólidos os métodos numéricos aplicados, uma vez que o Ensaio 3 foi realizado num ano diferente, com uma lista de características mais reduzida, sendo diferentes a populações amostradas (Fig. 2).

Ensaio 4: Populações Portuguesas

A exploração da variabilidade entre as populações portuguesas baseou-se em amostras distintas das usadas no Ensaio 1, tendo sido estudadas também populações no Nordeste Transmontano (Fig. 1). A diferença óbvia entre os resultados da ACP dos dois ensaios traduz-se na maior separação das populações ser feita ao longo do Primeiro Componente Principal no Ensaio 4 (Fig. 10) enquanto que as amostras do Ensaio 1 estão mais largamente separadas ao longo do Segundo Componente. Mesmo assim, nos dois ensaios o padrão de variação obtido é precisamente o mesmo. Assim no Ensaio 4 as formas do Sul de Portugal amostradas revelam ter uma floração mais precoce, e folhas mais pequenas, com cor verde menos intenso, caules mais finos e menor número de vagens no caule principal, quando são comparadas com as do Norte. A cultivar «Lucky» está situada entre esses dois grupos diferenciados no Primeiro Componente.

As cinco populações do Centro de Portugal (6, 11, 14, 19 e 20) estão distribuídas de modo bastante afastado, dando ênfase à existência de maior variabilidade nessa zona. Uma dessas populações (20) oriunda de Leiria, está bastante afastada das outras, pois tem maiores dimensões nas vagens, nas sementes e na altura da planta. Este síndrome surpreendente de características foi encontrado também noutras populações do Centro de Portugal estudadas no Ensaio 1.

DISCUSSÃO

— Métodos de Taxonomia Numérica

Nos ensaios realizados de 1 a 4, quer a ACP quer a OMD N-M deram resultados comparáveis em cada experiência, tendo cada qual as suas vantagens.

Assim a ACP proporciona uma valiosa informação quanto à natureza das diferenças entre grupos, assim como um resumo do padrão da variação. A OMD N-M, sendo baseada na matriz de dissemelhanças- k dá padrões semelhantes, apesar das populações aqui serem mais separadas. Esta análise mostrou ser mais vantajosa no Ensaio 1 em que a relação «clinal» das populações Ibéricas foi claramente demonstrada pela separação nítida entre as populações.

A concordância dos resultados do Ensaio 1 e 4 exemplifica a fiabilidade da avaliação da variabilidade geográfica pela Taxonomia Numérica, apesar de serem diferentes as amostras das populações, as condições do ambiente, o experimentador e a lista de características usadas.

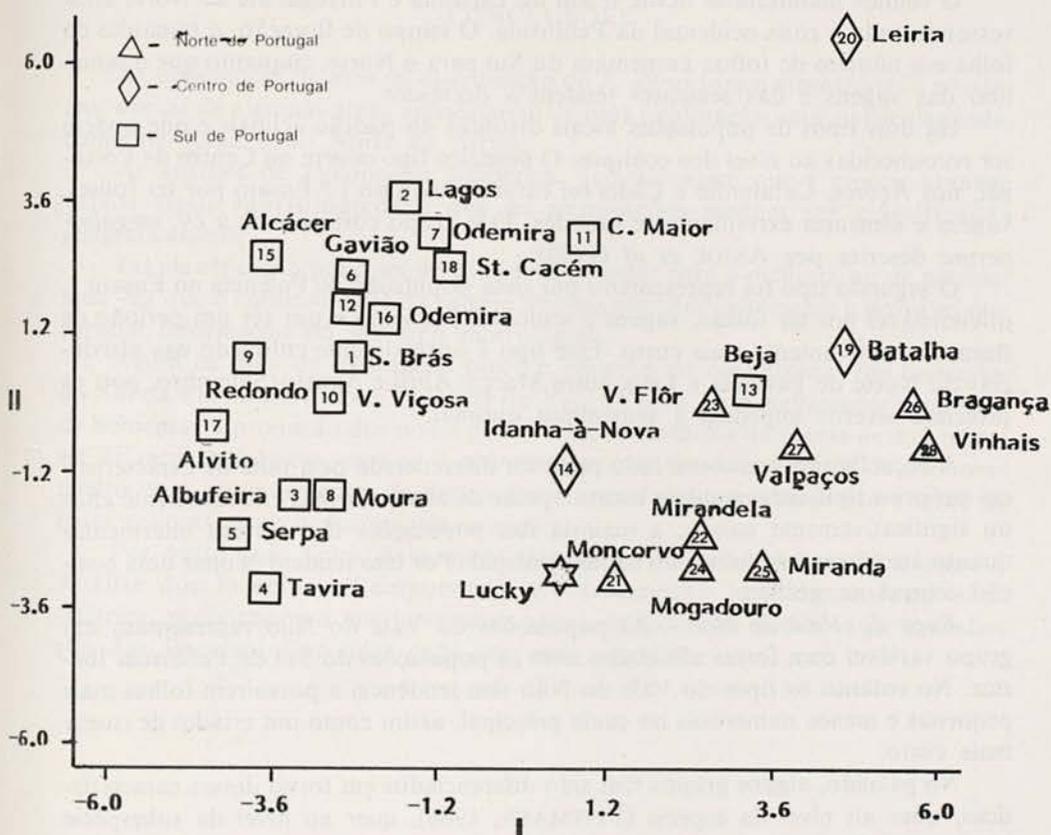


Fig. 10 — A.C.P. em populações portuguesas (Ensaio 4). O primeiro componente (I) explica 33% da variação total e o segundo (II) 19%

— *Classificação infraespecífica do L. albus*

Entre as populações cultivadas de *L. albus* há 4 tipos diferenciáveis que têm distribuições distintas e podem ser referenciados como raças geográficas diferentes.

Raça Ibérica — Há uma grande variação entre as populações de Portugal e de Espanha apesar de ser predominantemente «clinal» e quaisquer sub-divisões poderão obscurecer essa continuidade.

O «cline» manifesta-se desde o Sul de Espanha e Portugal até ao Norte atravessando toda a zona ocidental da Península. O tempo de floração, o tamanho da folha e o número de folhas aumentam do Sul para o Norte, enquanto que o tamanho das vagens e das sementes tendem a decrescer.

Há dois tipos de populações locais distintos do padrão «clinal» e que podem ser reconhecidas ao nível dos ecótipos. O primeiro tipo ocorre no Centro de Portugal, nos Açores, Catalunha e Cádiz foi caracterizado no 1.º Ensaio por ter folhas, vagens e sementes extremamente grandes. Este grupo corresponde à cv. *megalosperma* descrita por ANIOL *et al* (1980).

O segundo tipo foi representado por uma população de Palência no Ensaio 1, diferenciável por ter folhas, vagens e sementes pequenas e por ter um período de floração relativamente mais curto. Este tipo é normalmente cultivado nas províncias do Norte de Palência e Lião, entre Março/Abril e Agosto/Setembro, pois os invernos severos impedem a sementeira outonal.

A raça Ibérica como um todo pode ser diferenciada pela falta de características próprias tipificadas noutras raças. Apesar de conter formas extremamente altas ou significativamente baixas, a maioria das populações têm formas intermédias quanto ao número de folhas do caule principal. Por isso tendem ocupar uma posição central no gráfico.

Raça do Vale do Nilo — As populações do Vale do Nilo representam um grupo variável com fortes afinidades com as populações do Sul da Península Ibérica. No entanto os tipos do Vale do Nilo têm tendência a possuírem folhas mais pequenas e menos numerosas no caule principal, assim como um estádio de roseta mais curto.

No passado, alguns grupos têm sido diferenciados em torno dessas características, quer ao nível da espécie (PLITMANN, 1966), quer ao nível da subespécie (FRANCO e P. DA SILVA, 1968; ANIOL, 1968), correspondendo a raça do Vale do Nilo ao *L. termis* Forsk.

Raça Turca — No Ensaio 3, as populações turcas mostraram ser claramente distintas, formando um grupo homogéneo, caracterizado por ter vagens, folhas e sementes anormalmente pequenas. Têm poucas folhas no caule principal, poucas vagens primárias, sendo mais numerosas nos níveis superiores da planta. Tem um hábito de crescimento menos determinado que os outros tipos como poderá ser reconhecido pela produção de numerosas vagens quaternárias.

Raça Balcânica — Esta raça é caracterizada por incluir quer formas cultivadas quer selvagens. Os dois tipos têm um porte baixo característico e numerosas vagens primárias e secundárias. As populações selvagens são facilmente distintas das cultivadas pois possuem caules mais curtos, flores de azul mais escuro, vagens deiscentes e têm sementes coloridas de castanho com um tegumento impermeável. As populações híbridas do Peloponeso são misturas de sementes brancas e castanhas e quanto à cor da flor, variam desde o azul claro ao azul escuro. Quer a ACP quer a OMD efectuadas nos dados dos Ensaios 2 e 3, posicionam os híbridos entre as formas selvagens e cultivadas, como seria de esperar, apesar das suas distribuições serem semelhantes.

CONCLUSÕES

As populações da área da distribuição do *L. albus* foram amostradas e estudadas, apesar de algumas áreas necessitarem de uma exploração mais particularizada, como na Itália e no Norte de África.

As análises de Taxonomia Numérica, demonstraram que a espécie abrange vários tipos morfológicos e que as populações podem ser classificadas geograficamente.

Tal classificação pode ser de considerável valor para o melhorador de plantas, uma vez que o conhecimento da origem de uma amostra de semente é provável que forneça informação do seu tipo morfológico.

Assim os tipos de maturação precoce poderão ser encontradas nas colecções do Sul da Península Ibérica, Palência ou Vale do Nilo. Se o melhorador necessitar de aumentar a produção dos níveis primários e secundários da planta deverá recorrer às raças balcânicas, mas se o objectivo prioritário do programa de melhoramento visar obter sementes de dimensões mais reduzidas as raças turcas serão as mais valiosas para o sucesso da selecção.

Por outro lado ficou claro, que métodos de Taxonomia Numérica como a Análise dos Principais Componentes e a Ordenação Multidimensional não-métrica, proporcionam aos interessados uma metodologia poderosa para avaliação dos Recursos Genéticos cada vez mais urgente.

BIBLIOGRAFIA

- ANIOL, A., KAZIMIERSKI, T. e NOWACKI, E., (1968). Further studies on a species hybrid *Lupinus albus* L × *L. jugoslavicus* Kazim. & Nowaki., *Z. Pflanzenzucht* **59**, 317-326.
- BISBY, F.A., 1981. *Genisteae* (Adans.) Benth (1865). Em «Advances in legume Systematics, Part 1». (ed. R.M. Polhill & R. H. Raven. Royal Botanic Gardens, Kew).
- DUNN, G. e EVERITT, B.S. (1982). An introduction to Mathematical Taxonomy (Cambridge University Press).
- FRANCO, J. do A. e DA SILVA, A.R.P., 1968. *Lupinus* L. em Flora Europaea. Volume 2 (Ed. T.G. Tutin *et al.*) pp. 105-106.
- GLADSTONES, J.S. 1974. *Lupinus* of the Mediterranean region and Africa. *Technical Bulletin*, n.º 26 *Western Australia Department of Agriculture*.
- JARDINE, N. e SIBSON, R. 1971. *Mathematical Taxonomy* (Wiley & Son, London e New York).
- MARTINS, J.M.N., 1981. Colheita de Sementes de *Lupinus* em Portugal. (ciclostilado).
- MARTINS, J.M.N., 1982. Analysis of Genetic Variation on *Lupinus albus* considering some parameters of selection. *Proceedings of II International Lupin Conference* (Torremolinos-Espanha) p. 29-31.
- PAPINEAU (1983) Comunicação pessoal.
- PLITMANN, U., 1966. Studies in the taxonomy of the *Leguminosae* of Israel. *Israel J. Bot.* **15**, 25-30.
- SIMPSON, M.J.A. e Mc GIBBON, R., 1982. A report of a *Lupinus* seed collecting expedition to Spain and Portugal. *Plant Genetic Resources Newsletter* **50**, 14-19.
- SIMPSON, M.J.A. e Mc GIBBON R., 1983. *Lupinus* collection in Greece and Yugoslavia. *Plant Genetic Resources Newsletter* **52**, 28-30.

A TESTAGEM DA DESCENDÊNCIA NOS BOVINOS LEITEIROS DO TRONCO FRÍZIA EM PORTUGAL⁽¹⁾

I—CORRECÇÃO DE FACTORES AMBIENTAIS

L. SIEUVE MONTEIRO

Instituto de Ciências Biomédicas de «Abel Salazar»
Universidade do Porto—4000 PORTO

SUMÁRIO

A definição de unidades sazonais de testagem e o cálculo de factores de correcção apropriados às nossas condições, constituem o primeiro de uma série de trabalhos sobre a testagem de descendência de bovinos leiteiros em Portugal. São aqui analisados os efeitos da ordem de lactação e do mês e idade de parição na gordura total, produção de leite e teor butiroso em 305 dias de lactação de animais de raça Frísia. Verifica-se a contribuição significativa de todos estes efeitos, bem como da interacção entre a ordem de lactação e o mês de parição, interacção mês x ordem de lactação e idade dentro de cada ordem de lactação. Quanto à definição de unidades sazonais de testagem, os resultados apontam como melhor opção, o agrupamento em duas unidades semestrais, incluindo na unidade I as lactações iniciadas entre o dia 1 de Janeiro e o dia 30 de Junho e na unidade II as iniciadas entre 1 de Julho e 31 de Dezembro.

ABSTRACT

The first of a series of papers on the progeny testing of dairy cattle in Portugal, is concerned with the study of correction factors for age and month of calving and the definition of seasonal calving periods appropriate to our specific conditions. The analysis includes the effects of parity, month and age at calving on fat and milk yield and butterfat percent on 3763, 305 day lactations of Friesian cows. A significant interaction of parity by month of calving, indicates that production should be simultaneously adjusted for both factors. Stepwise multiplicative factors are presented, where each trait is corrected in succession for parity, month of calving, interaction and age within parity. In reference to seasonal periods, the results point out, as the best alternative, the grouping into two semesters, including in season I all lactations starting between the 1st January and the 30th June and in season II those starting between the 1st July and 31st December.

⁽¹⁾ Este trabalho foi parcialmente suportado pelo subsídio para acção de investigação N.º 105/85 da Reitoria da Universidade do Porto e pelo UISEE/Laboratório de Doenças Infecciosas da Escola Superior de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

INTRODUÇÃO

A estratégia do melhoramento genético da produção leiteira passa necessariamente pela execução de um programa de selecção de reprodutores. Neste programa deve ser dada especial importância à escolha de *a*) as mães dos touros *b*) os touros a utilizar nos programas nacionais de inseminação artificial, correspondendo estas duas vias a 94% do melhoramento genético anual. Na produção leiteira, a selecção de reprodutores masculinos implica a organização de um sistema integrado de testagem de descendência dos touros que foram previamente escolhidos com base num índice calculado a partir da avaliação genética dos seus parentes (progenitores e colaterais).

Até hoje, em Portugal, a testagem de descendência dos touros da raça Frísia nunca chegou a ter implementação consistente. As razões invocadas baseiam-se na alegada incompatibilidade entre a estrutura da indústria leiteira nacional, dependente da produção de estábulos com um número reduzido de animais, e as necessidades decorrentes dos métodos de testagem disponíveis, nomeadamente no Método da Comparação de Contemporâneas. Assim, o melhoramento genético efectuado na última década tem dependido da importação de semen de reprodutores testados de várias origens com especial incidência nos Estados Unidos e Canadá.

O desenvolvimento de meios computacionais potentes levou ao aparecimento de novas técnicas de cálculo, designadamente o método de estimação estatística BLUP (HENDERSON, 1975). A aplicação de procedimentos que, em certa medida, são capazes de ultrapassar as limitações de planeamento experimental, aliados à expansão substancial do número de vacas submetidas ao contraste lacto-manteigueiro e a sua informatização, justificam que a testagem de descendência dos bovinos leiteiros venha a ser encarada de novo, pelo menos nos seus aspectos técnicos, como um processo manifestamente viável no nosso país.

Pretende-se desenvolver, nesta série de publicações, com base em número limitado mas significativo de animais cujos registos foi possível obter, numa primeira abordagem, uma tecnologia de testagem de descendência adaptada às nossas condições, com vista à sua implementação futura em moldes permanentes. Não se prevê que, no futuro próximo, a adopção de um sistema de testagem substitua de forma definitiva o recurso à importação de semen. A testagem de descendência permite, no entanto, contemplar o planeamento da estrutura da população leiteira nacional como forma de maximizar o seu progresso genético. O condicionamento da entrada ao semen proveniente do topo da pirâmide genética e a sua aplicação exclusiva na via de produção de touros, são consequências directas do programa de testagem. A restrição à aquisição de semen, complementada pela multiplicação e avaliação do património genético em animais nacionais, vai rentabilizar o investimento e levar o melhoramento a sectores da indústria leiteira que até hoje poucos benefícios dela têm obtido. O esquema de testagem permite ainda avaliar em termos de custos-benefícios o progresso genético realizado, bem como comparar em condições idênticas o valor de semen obtido a partir de várias origens e, sobretudo, submetido a diferentes métodos de testagem.

Neste trabalho são apenas considerados os caracteres de produção, nomeadamente a produção de leite, a percentagem de gordura e a gordura total produzida em lactações de 305 dias. Um estudo compreensivo deveria ainda incluir a proteína total, o que se espera virá a acontecer em breve. A inclusão de outras características no esquema de selecção, corresponde apenas a uma extensão dos métodos aqui utilizados, com as implicações habituais no progresso genético da característica principal.

Estudo de efeitos ambientais

a) Cálculo de factores de correcção para efeitos sistemáticos

A restrição da testagem à comparação de contemporâneas primíparas implica que, na maioria dos casos vão ser excluídas do processo as filhas produzidas em estábulos pequenos em que a probabilidade de se encontrar contemporâneas também primíparas é relativamente pequena. No entanto, esta limitação pode ser ultrapassada sem prejuízo da validade da comparação, se, aos animais em condições diferentes, forem aplicados factores de correcção calculados por métodos de estimação estatística. O facto de uma vaca na segunda lactação produzir em média mais leite do que na primeira é tomado em conta na comparação entre filhas e contemporâneas, desde que, com um ajustamento adequado às respectivas produções, se coloquem todos os animais em condições equivalentes.

O argumento principal contra a utilização na testagem de dados provenientes de lactações de ordem superior, deriva da existência de factores de rejeição diferenciais que ocorrem entre a primeira lactação e as seguintes. Este efeito pode levar a avaliações tendenciosas do mérito genético dos touros, nomeadamente por sobrevalorização dos animais geneticamente inferiores. Foi porém demonstrado por HENDERSON (1975) e LOAFGREEN et al (1983) que a utilização de modelos estatísticos mistos permite obter estimativas não tendenciosas do mérito genético dos touros leiteiros, desde que, entre outras condições, a primeira lactação seja sempre incluída nos dados.

Julga-se que nas condições portuguesas, a utilização de factores de correcção para os vários efeitos ambientais que actuam de forma sistemática é particularmente aconselhável. A natureza dos factores eminentemente dependentes das situações específicas em que os animais são mantidos exclui, em princípio, a adopção de coeficientes calculados em circunstâncias e países diferentes. Apresenta-se aqui um conjunto de factores de correcção que, calculados em dados nacionais, podem ser imediatamente aplicados às nossas condições. No entanto, dadas as limitações de tipo e localização dos estábulos disponíveis para este trabalho, a sua adopção a nível nacional deve ser confirmada com dados obtidos em outras regiões do país.

Numa primeira abordagem são considerados os seguintes efeitos sistemáticos:

- a) Ordem de lactação
- b) Idade de parição
- c) Mês de parição

São ainda considerados como efeitos ambientais não-sistemáticos não passíveis de correcção, o estábulo e o ano de parição (PHILIPSSON et al., 1978). O intervalo entre partos que também afecta de forma recorrente a lactação seguinte e que aqui não foi considerado deverá eventualmente ser avaliado e incluído na bateria de factores correctivos.

b) Unidades sazonais de testagem

Enquanto que os efeitos ambientais que actuam de forma regular e sistemática, como é o caso da ordem de lactação podem ser tratados pela aplicação de factores de correcção, outros condicionamentos ambientais não têm efeitos imediatamente predizíveis. Nestes casos a sua acção sobre a característica produtiva é removida estatisticamente em cada análise por especificação do nível ambiental em que as comparações são efectuadas e a que se designa de unidade de comparação.

Nos modelos mistos aplicados à testagem de reprodutores leiteiros, consideram-se como unidades de comparação o estábulo, o ano e o período em que ocorre a parição. Enquanto que os dois primeiros estão definidos por natureza, a divisão do ano num número arbitrário de períodos de testagem vai depender da estrutura das explorações leiteiras. Assim, se, por exemplo, forem consideradas muitas unidades sazonais de testagem, a comparação entre as produções das vacas paridas em períodos curtos, aumenta a precisão das estimativas relativamente a unidades em que se consideram períodos mais alongados. Por outro lado, apenas em estábulos muito grandes é provável encontrar um número apreciável de vacas naquelas condições.

São assim normalmente considerados dois (Estados Unidos e Canadá) ou três (Grã-Bretanha) períodos anuais. Nos Estados Unidos são agrupadas as partições efectuadas nos meses de Novembro a Junho designadas por Estação I e de Julho a Outubro designadas por Estação II (MILLER et al., 1969). Na Grã-Bretanha as três estações correspondem aos períodos de respectivamente Agosto a Novembro, Dezembro a Março e de Abril a Junho.

Tendo em consideração que se trata de definir unidades de comparação, a escolha dos meses a serem agrupados num período de testagem deve obedecer aos seguintes critérios objectivos:

- 1) A proporção de partos ocorrendo em cada estação deve ser sensivelmente igual;
- 2) Para as produções corrigidas deve existir um mínimo de heterogeneidade dentro dos períodos e o máximo entre períodos.

Pretende-se definir agrupamentos de meses em que as diferenças médias da produção entre os grupos seja a maior possível, enquanto que as diferenças das médias das produções mensais para a média de cada grupo seja mínima.

Nestas condições, o número de períodos, bem como a forma de agrupar os meses em unidades de comparação, vai depender das condições locais. Também aqui não é legítimo utilizar critérios obtidos da literatura estrangeira, mesmo se forem consideradas regiões do globo que se assemelham às nossas em termos de

condições climáticas e de métodos de manejo, sem previamente validar estes critérios com análises efectuadas em dados de produção nacional.

Corresponde, portanto, o segundo objectivo deste trabalho, a estabelecer, a partir da análise dos dados disponíveis, critérios para a definição dos períodos sazonais a utilizar conjuntamente com o estábulo e o ano, como unidades de testagem. Estas correspondem aos efeitos fixos do modelo misto de testagem de descendência dos reprodutores masculinos e da indexação genética das vacas da raça Frísia, a apresentar nas publicações seguintes desta série.

MATERIAL

Os dados utilizados neste trabalho consistem na produção de leite em 305 dias e percentagem média de gordura de 3763 lactações de animais pertencentes ao tronco Frísia obtidos a partir dos registos oficiais de contraste lacto-manteigueiro. A terceira característica analisada, a matéria gorda produzida em 305 dias, corresponde ao produto do teor butiroso pela produção de leite em kg, no mesmo período. Foram incluídas todas as vacas que produziram, pelo menos uma primeira lactação completa no mesmo estábulo. Foi obtido, nestas condições, um total de 1890 vacas.

As informações colhidas no contraste incluem, além das produções, a identificação do estábulo e da vaca, a data do parto (mês e ano) e a ordem e duração em dias, da lactação. Para alguns animais, foi possível obter do contraste informação sobre a data de nascimento (mês e ano). Noutros casos essa informação foi colhida nos registos do livro genealógico ou ainda de informações obtidas directamente do criador. Em 32% das vacas não existe qualquer registo de idade. Os registos facultados para este trabalho incluem dados sobre as lactações produzidas por animais até ao máximo de sete lactações, ocorridas entre os anos de 1976 e 1983 em dezasseis estábulos da região agrária de Ribatejo e Oeste.

Tendo em conta o número reduzido de animais de sexta e sétima parição, foram consideradas individualmente as lactações da primeira à quarta, agrupando-se as restantes numa única classe.

MÉTODOS

Para todas as análises efectuadas neste trabalho, foi considerado sempre o caso mais geral de modelos estatísticos lineares mistos, que incluem os efeitos considerados fixos, ano, mês e ordem de parição, bem como efeitos aleatórios.

O processo de análise consiste em estimar estatisticamente valores não tendenciosos de aumento ou redução que cada efeito fixo isolado determina na característica em estudo, neste caso a produção de leite. Estes valores são equivalentes aos que seriam obtidos se todos os restantes efeitos fixos e casuais incluídos no modelo se mantivessem, por controlo experimental, uniformemente constantes. Nestas condições, e exceptuando as circunstâncias especiais que a seguir se referem, cada

efeito pode ser tomado como actuando independentemente na característica, pela «remoção» estatística de todos os outros considerados. Este procedimento é conhecido por métodos de ajustamento de constantes.

No caso particular da produção de leite, os dados correspondentes às várias lactações produzidas pelos mesmos animais não obedecem aos critérios de casualização e independência que normalmente condicionam a utilização dos métodos de estimação estatística. Existe uma escolha, que em termos de produção de leite não é casual, dos animais recrutados para a lactação seguinte. Nestas condições, não é legítimo utilizar para estes casos o processo normalmente adoptado para o ajustamento de constantes, o método dos quadrados mínimos. O método da máxima verosimilhança (maximum likelihood) é recomendado por MILLER e HENDERSON (1968) para resolver de forma adequada situações deste tipo e fornecer estimativas não tendenciosas dos valores das constantes. Para os efeitos fixos, o método consiste em ordenar da forma habitual a matriz correspondente às equações de quadrados mínimos. Na sub-matriz de efeitos casuais, soma-se à diagonal a razão entre as variâncias «entre» e «dentro», definidas pelo mesmo factor. Aqui, o efeito casual é representado pela produção total de cada vaca, a variância «entre» pela variação média dessa produção em todos os animais e a variância «dentro» pela média dos desvios quadrados das diferentes lactações produzidas pela mesma vaca.

A razão entre variâncias está directamente dependente do parâmetro que, em teoria do melhoramento, se designa por repitabilidade da característica. Em análise prévia realizada nestes dados, verificou-se que as estatísticas de repitabilidade foram de 0,35 para a produção leiteira, 0,45 para a percentagem de gordura e 0,39 para a gordura total. Assim, foi adoptado o valor intermédio de 0,4 para os três caracteres analisados. Este corresponde ao valor clássico apresentado na literatura para repitabilidade da produção de leite e de matéria gorda mas ligeiramente inferior aos cotados para a percentagem de gordura.

a) Cálculo dos factores de correcção

Com o objectivo de utilizar no máximo os dados disponíveis, foram conduzidas separadamente duas análises, correspondendo a primeira à estimativa de efeitos de estábulo, ano, mês e ordem de lactação, informações que constam de todos os registos. Uma segunda análise incidiu sobre os efeitos da idade de parição dentro da ordem de lactação em que foram utilizadas apenas aquelas vacas em que a data de nascimento é conhecida.

Para a primeira análise, o método da máxima verosimilhança foi aplicado aos seguintes modelos lineares:

- 1) $Y_{ijklm} = \mu + A_i + M_j + OL_k + H_l + C_{lm} + e_{ijklm}$
- 2) $Y_{ijklm} = \mu + A_i + M_j + OL_k + I_{jk} + H_l + C_{lm} + e_{ijklm}$
- 3) $Y_{ijklm} = \mu + A_i + B_{jk} + H_l + C_{lm} + e_{ijklm}$

em que Y_{ijklm} são as características em estudo, respectivamente a produção de leite em 305 dias, a percentagem de gordura e a gordura total produzida; μ , OL_k , A_i , M_j e

H_l representam os efeitos de, respectivamente, uma constante comum a todas as lactações, o efeito da lactação de ordem k começada no ano i e no mês j e que teve lugar no estábulo l . C_{lm} é o efeito casual da m -ésima vaca no estábulo l , em que se assume uma distribuição normal de média zero e variância σ_c^2 ; e_{ijklm} é o efeito ambiental aleatório da k -ésima lactação em que também é assumida distribuição normal com média zero e variância σ_e^2 . No modelo 1) não foram consideradas explicitamente as possíveis interações entre a ordem de lactação e o mês de parição. Estas estão incluídas no modelo 2) representadas pelo efeito 1 correspondendo à interação entre a ordem de lactação k e o mês j . O efeito conjunto da interação $OL \times M$ e dos respectivos efeitos principais está representado no modelo 3) pela constante B_{jk} em que se considera separadamente cada lactação de ordem k iniciada no período mensal j num total de 60 factores (5 lactações e 12 meses).

Na segunda análise foram incluídos apenas os registos em que foi facultada a informação sobre a idade, correspondendo ao seguinte modelo:

$$4) Y_{ijklm} = \mu + A_i + M_j + OL_k + ID_{kn} + H_l + C_{lm} + e_{ijklm}$$

em que a notação é igual à descrita para os anteriores modelos incluindo aqui o efeito da idade n dentro de cada ordem de lactação k .

b) Análise da variação sazonal

As características de produção corrigidas da forma acima descrita foram analisadas tendo em vista a definição das unidades sazonais de testagem adequadas às nossas condições. Foram consideradas nesta análise seis sequências de unidades semestrais e quatro sequências quadrimestrais. A primeira sequência semestral inclui todas as lactações iniciadas entre Janeiro e Junho, formando um grupo designado de unidade I e as iniciadas entre Julho e Dezembro que ficam agrupadas na unidade II. A sequência seguinte corresponde respectivamente, aos períodos entre Fevereiro e Julho e entre Agosto e Janeiro, e sucessivamente. Para a primeira sequência quadrimestral foi considerada a unidade I entre Janeiro e Abril, a unidade II entre Maio e Agosto e a unidade III entre Setembro e Dezembro, procedendo-se para as restantes sequências de modo idêntico ao anterior.

Cada sequência semestral e quadrimestral foi analisada separadamente aplicando o modelo seguinte:

$$5) Y_{ijklm} = \mu + A_i + H_j + S_{kj} + C_{jl} + e_{ijklm}$$

em que Y_{ijklm} corresponde à produção da m -ésima lactação iniciada na unidade sazonal k , no estábulo j , pela vaca l durante o ano i . Com excepção da média geral μ e do ano A , todos os restantes factores são considerados efeitos aleatórios hierarquizados, com vacas e unidades sazonais «dentro» de cada estábulo. No modelo, as lactações, mas não as vacas, estão contidas em cada unidade sazonal. Isto porque lactações sucessivas da mesma vaca podem ser iniciadas em unidades sazonais diferentes. Não estão incluídos no modelo os efeitos da ordem de lactação e do mês e idade de parição que foram removidos por correcção.

Pela definição de unidades sazonais de testagem, estas devem corresponder a períodos de tempo em que a produção dos animais que iniciam a sua lactação nesse intervalo e no mesmo estábulo, é o mais homogênea possível. Em termos estatísticos pretende-se que o componente de variância «entre» lactações iniciadas no mesmo estábulo e unidade sazonal (σ_{HS}^2) seja mínimo e que, em contrapartida, o componente de variância entre as unidades sazonais em cada estábulo (σ_{HS}^2) seja máximo. Nestas condições, foi adoptado como critério para a definição da melhor sequência de unidades sazonais a maximização da correlação intraclasse, t , estimada pelo método dos mínimos quadrados, que corresponde à expressão seguinte:

$$t = \frac{\sigma_{HS}^2}{\sigma_{HS}^2 + \sigma_e^2}$$

e que, neste caso, representa a proporção da variância atribuível ao efeito sazonal que pode ser estatisticamente removida.

Todas as análises foram conduzidas no computador CYBER 170-720 do Centro de Informática da Universidade do Porto, utilizando o programa LSML 76 (HARVEY, 1982). Este programa foi modificado para compatibilização com o compilador de FORTRAN version 5 disponível naquele Centro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores da produção de cada estábulo relativamente à média geral, obtidos pela aplicação do método da máxima verosimilhança ao modelo (1) são apresentados na Tabela I.

TABELA I
Constantes adaptadas por máxima verosimilhança às produções de cada estábulo e respectivos erros padrão (s.e.)

Cod. Estab.	Número de lactac.	Gord. Total kg		Prod. Leite kg		Teor But. %	
		const.	s.e.	const.	s.e.	const.	s.e.
1	763	51,5	2,21	1442	63,7	,104	,0261
2	918	32,9	2,11	1000	61,1	,029	,0250
3	537	37,5	2,52	806	72,9	,235	,0298
4	323	- 21,8	2,76	78	79,8	-,466	,0326
5	106	- 4,8	4,68	29	135,2	-,081	,0553
6	84	- 26,7	4,86	- 537	140,2	-,256	,0573
7	67	- 13,6	5,15	372	148,7	-,474	,0680
8	49	- 36,5	5,97	- 1452	172,4	,193	,0705
9	39	5,8	6,74	- 99	194,9	,174	,0797
10	79	19,3	4,90	98	141,5	,303	,0579
11	52	22,5	6,34	84	183,2	,404	,0749
12	13	52,1	11,11	- 1811	320,2	,083	,1311
13	142	6,4	3,84	360	110,9	-,335	,0453
14	82	5,0	5,33	182	153,9	-,210	,0629
15	303	8,0	3,03	220	87,6	,297	,0358
16	206	10,4	3,48	335	100,5	-,002	,0411
Média	3763	151,2	2,26	4951	65,3	3,081	,0267

As médias (Média geral + const.) de produção corrigidas oscilam entre 6393 kg de leite e 203 kg de gordura total para o estábulo 1 e 3140 kg com 99 kg de gordura para o estábulo 12. Apenas na exploração 11 foram atingidos valores próximos dos 3,5% de gordura, não passando o estábulo 7 do nível de 2,6%.

Os valores equivalentes correspondendo ao ano em que a lactação foi iniciada são apresentados na Tabela II.

TABELA II
Constantes adaptadas por máxima verosimilhança às produções iniciadas em cada ano e respectivos erros padrão (s.e.)

Ano	Número de lactac.	Gord. Total kg		Prod. Leite kg		Teor But. %	
		const.	s.e.	const.	s.e.	const.	s.e.
76	66	— 7,3	4,02	— 216	116,2	,015	,0475
77	181	3,4	2,48	— 45	71,6	,082	,0293
78	243	— 10,9	2,11	— 280	61,1	—,046	,0250
79	422	3,9	1,65	— 40	47,6	,076	,0195
80	575	— 0,2	1,50	164	43,2	—,095	,0177
81	751	1,8	1,48	171	42,7	—,070	,0175
82	802	— 3,0	1,65	276	47,5	—,218	,0194
83	723	12,1	1,80	— 29	52,0	,257	,0213
Média	3763	151,2	2,26	4951	65,3	3,081	,0267

Esboça-se aqui uma tendência, ainda que pouco nítida, para um aumento gradual da produção leiteira em anos sucessivos. Não há, no entanto, qualquer efeito correspondente para a percentagem de gordura.

a) Efeito da ordem de lactação e do mês de parição

A distribuição dos meses de início da lactação por ordem de lactação é apresentada na Tabela III.

Não é aparente qualquer tendência para a concentração do início da lactação em determinada época. É, de facto notável, pelo menos para esta amostra, a regularidade da distribuição das partições ($QUI_{11}^2 = 31,96 N.S$). Parece, no entanto, haver algum relacionamento entre a ordem de lactação e o mês de início ($QUI_{44}^2 = 65,8 P \cong 0,5$). Este pode ser atribuído a uma deficiência na primeira lactação com início em Julho (104 observadas para 128 esperadas) e ao excesso de segundas lactações iniciadas no mesmo mês (96 observadas para 77 esperadas). Relativamente à ordem da lactação, verifica-se que aproximadamente metade das vacas que completam uma lactação, passam à lactação seguinte.

TABELA III
Distribuição do número de vacas que iniciam a lactação em cada mês
classificadas por ordem de lactação

	Mês	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Total
O R D E M	1	187	139	141	173	169	150	104	145	157	135	145	186	1831 49%
	2	99	83	95	91	93	100	96	104	70	91	99	88	1109 29%
L A C T A C Ã O	3	41	44	30	35	45	40	36	49	43	41	50	60	514 14%
	4	25	22	10	14	28	14	21	17	18	20	16	20	225 6%
	5+	5	4	3	4	10	11	6	10	9	5	12	4	83 2%
Total		357	292	279	317	345	315	263	325	297	292	322	358	3762

Interações na produção de leite entre a ordem de lactação e o mês de parição têm sido referidas por alguns autores. Assim, foi aplicado o modelo (2) em que o efeito destas interações é considerado, adoptando o procedimento geral de incluir inicialmente todos os factores possíveis e, em análises subsequentes, eliminar os que não têm consequências estatisticamente significativas na produção.

A análise de variância do modelo (2) é apresentada na Tabela IV.

Todos os efeitos principais incluídos no modelo são muito significativos correspondendo a redução da variância atribuível aos factores considerados respectivamente a 29% para a matéria gorda e 25% para a produção de leite e percentagem de gordura. Nota-se ainda que o valor do desvio padrão fenotípico, que corresponde a remoção dos efeitos considerados, tem um valor de 883 kg, bastante mais próximo do valor internacionalmente utilizado de 800 kg do que o valor não-coriado de 1024 kg de leite.

Verifica-se ainda que a interacção entre a ordem de lactação e o mês de início apresenta valores significativos para a gordura total e para o teor butiroso, mas que não atinge níveis de significância para a produção leiteira.

Os valores médios ajustados por máxima verosimilhança aos efeitos da ordem de lactação são apresentados na figura 1. O efeito é substancial, tanto na gordura total como na produção de leite, na passagem da primeira para a segunda lactação. O aumento continua menos acentuado na produção de leite nas lactações seguintes, mas o efeito é pouco aparente na gordura total. O teor butiroso apresenta uma relação inversa, com valores superiores para a primeira lactação.

TABELA IV
Análise de Variância (modelo 2)

Origem de variação	G.L.	Quadrado Médio		
		Gord. Total kg ²	Prod. Leiteira (kg × 10 ³) ²	Teor But. % ²
Estábulos	15	61 943,**	41,54**	5,263**
Anos	7	14 061,**	7,85**	9,910**
Ordem de Lactação	4	29 368,**	41,57**	0,610**
Mês	11	3 854,**	3,49**	0,245**
Interação Mês X Ord	44	1 419,*	0,75 NS	0,176*
Erro	3680	927,	0,78	0,128

** P < 0,01

* P < 0,05

NS P > 0,05 (Não Significativo)

Os valores equivalentes estimados para as constantes referentes aos meses de parição, para todas as lactações e, separadamente, para cada ordem de lactação, obtidos a partir de constantes de interação do modelo (2), são apresentados na figura 2, para, respectivamente, a gordura total, a produção de leite e o teor butiroso. Na mesma figura apresentam-se ainda os valores correspondentes a cada característica para as três primeiras lactações referentes ao modelo (3).

O gráfico referido na figura 2 como média geral (Gráfico A), mostra o efeito do mês de parição na produção da lactação sequente. Verifica-se que a produção tende a ser máxima para as lactações iniciadas no período de Novembro a Abril. De Maio a Outubro há tendência para uma redução na produção, que atinge o mínimo para as produções de vacas que pariram em Julho. Esta tendência geral parece ser consistente para os três caracteres considerados, ainda que com maiores oscilações para o teor butiroso.

Da análise dos restantes gráficos da figura 2 são aparentes as razões que determinam um valor estatisticamente significativo para a interação entre a ordem de lactação e o mês de parição. As constantes aí representadas correspondem a desvios para os efeitos principais da ordem de lactação e mês de parição. Na ausência de interação, os desvios observados são atribuíveis à variação casual, o que, de facto, se verifica para a produção de leite, o teor butiroso e gordura total em todas as lactações superiores à primeira. No entanto, para as novilhas, a situação encontra-se invertida na medida em que os maiores desvios positivos para o teor butiroso e para a produção total de matéria gorda e, em menor grau, para a produção de leite, se encontram justamente para as lactações iniciadas entre Maio e Setembro com o pico de produção para o mês de Julho.

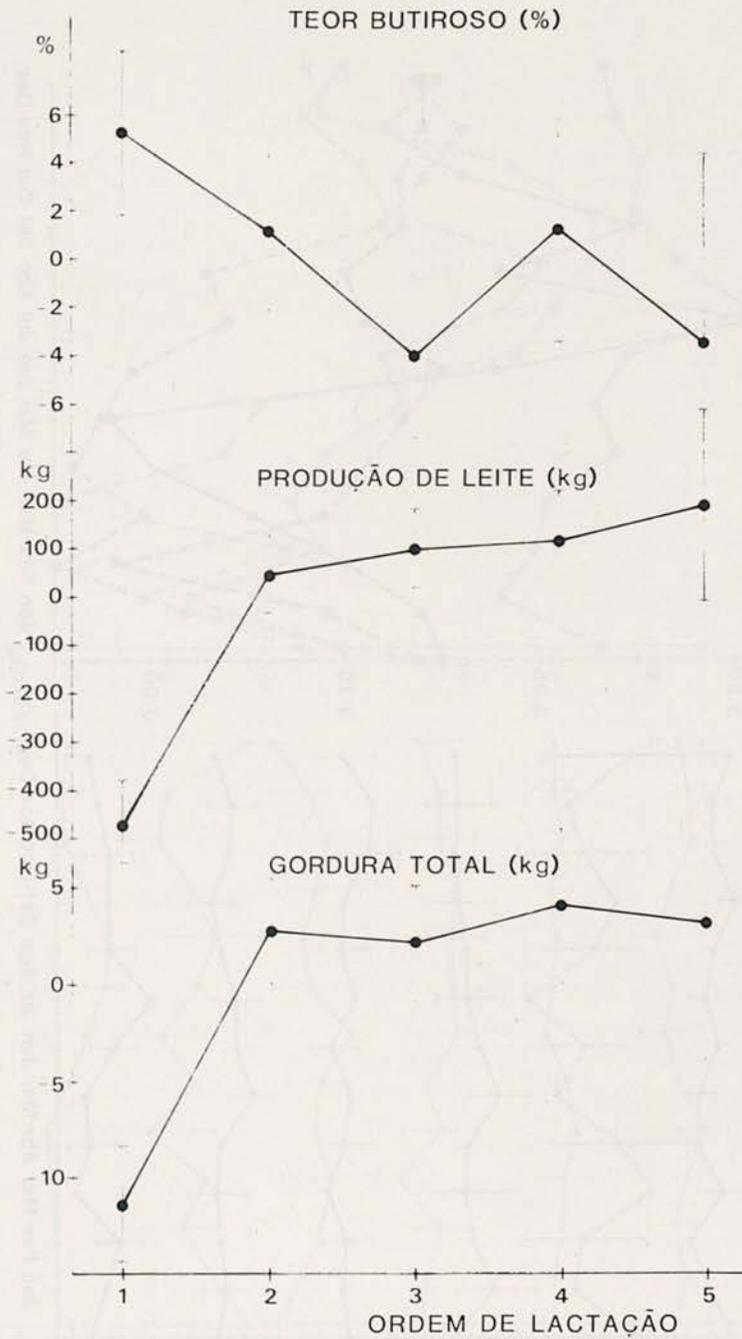


Figura 1 — Valores médios ajustados ± 2 erros padrão para o efeito da ordem de lactação na gordura total, produção de leite e teor butiroso

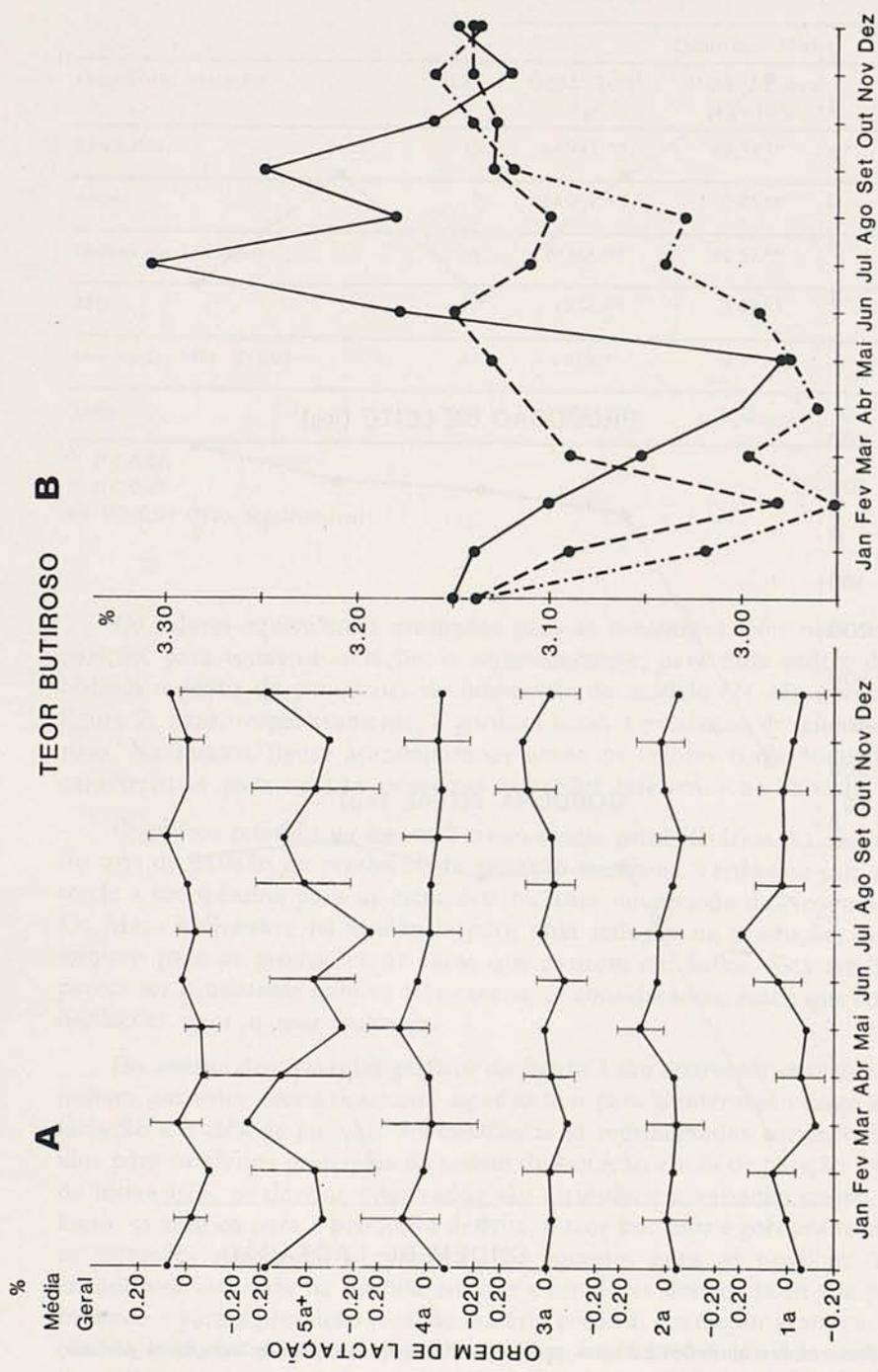
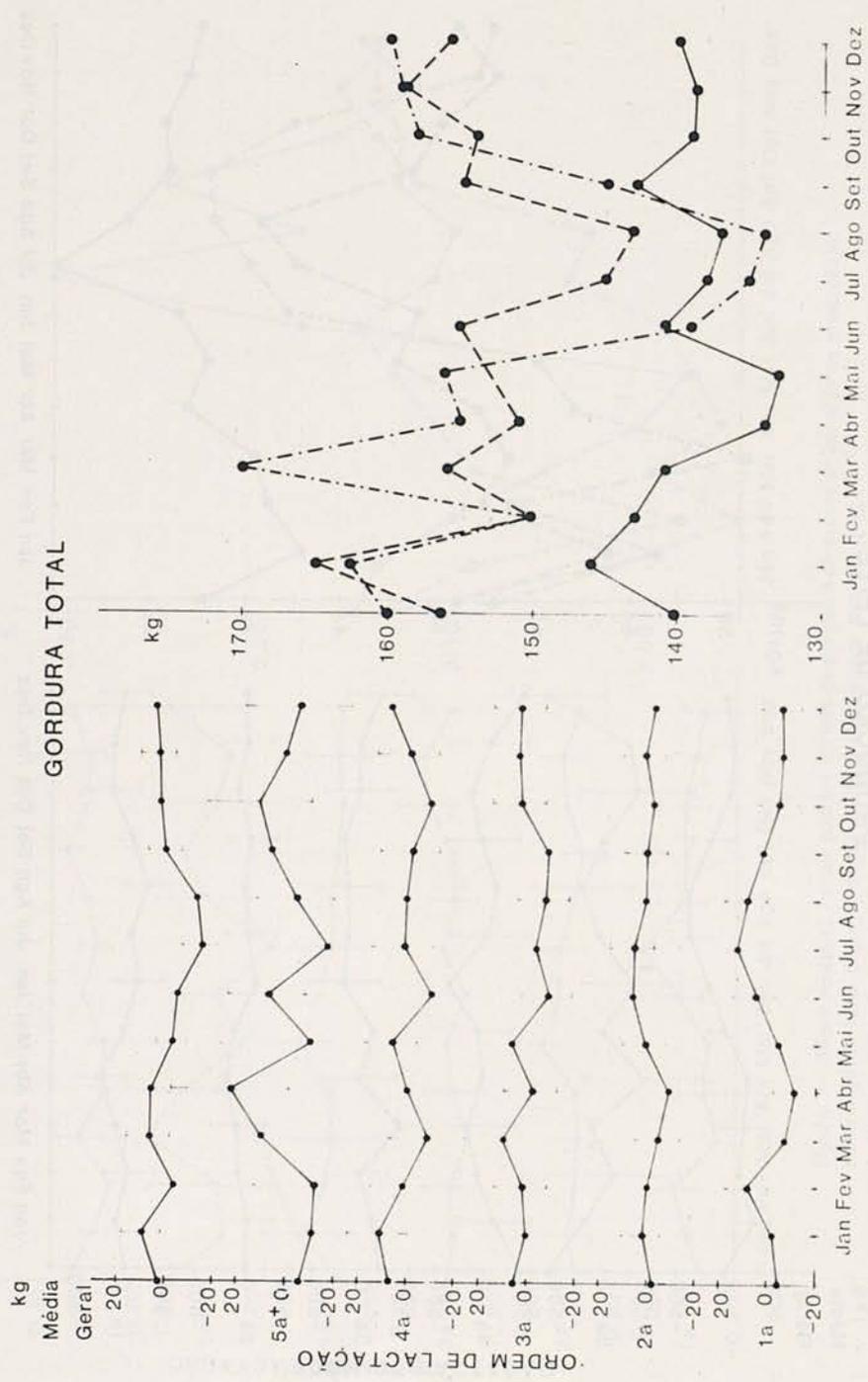


Figura 2—Efeito médio (± 2 erros padrão) do mês de parição e da ordem de lactação na produção de matéria gorda total (kg), produção de leite (kg) e teor butíroso (%): Gráfico A—Constantes de efeito médio geral e interação (modelo 2); Gráfico B—Constantes de ajustamento simultâneo da primeira (—), segunda (- - -) e terceira (- · - ·) lactação e do mês de parição (modelo 3).



Este efeito da interação é visível no gráfico B em que os efeitos principais e as suas interações são consideradas simultaneamente. Assim, a posição relativa de cada linha reflecte o efeito da ordem de lactação que determina a separação nítida entre a primeira e as restantes lactações para a produção de leite e gordura total. Verifica-se que, para o caso da produção de leite, as primíparas são *menos* afectadas pela depressão de parirem nos meses de verão do que os animais que atingiram a maturidade. Este efeito é ainda mais visível na gordura total e, principalmente, no teor butiroso, em que a maior produção de novilhas ocorre justamente nesse período. Resultados idênticos foram encontrados por WUNDER e MCGILLIARD (1969) em 50 000 lactações de 281 estábulos do Michigan, em que vacas de dois anos são menos afectadas pelas partições em Julho e Agosto do que as de três, quatro e mais anos de idade.

b) Efeito da idade de partição

Com o objectivo de tornar manejáveis os factores envolvidos na aplicação do modelo (4) aos dados disponíveis, as idades de partição em meses, consideradas separadamente para cada ordem de lactação foram agrupadas da forma apresentada na Tabela V. Para além da redução do número de factores considerados, o agrupamento em classes etárias permitiu também obter um número razoável de lactações para cada grupo.

A análise de variância utilizando o modelo (4) é apresentada na Tabela VI. Foram aqui incluídos todos os efeitos considerados nos modelos anteriores, adicionando-se a idade da partição dentro de cada ordem de lactação. Os resultados assim obtidos para cada classe etária correspondem aos desvios para a média da produção da respectiva ordem de lactação, corrigidos para todos os factores fixos anteriormente considerados.

Verifica-se que os efeitos da idade são significativos para a primeira e para a terceira lactação na matéria gorda total e produção de leite; no teor butiroso é significativo apenas para a terceira lactação. Nestas condições, não há qualquer vantagem em considerar lactações posteriores à terceira, visto que, a própria ordem de lactação que, obviamente está correlacionada com a idade média de partição, toma conta de forma adequada do efeito da idade. Assim, a análise foi repetida incluindo apenas as três primeiras lactações. A aplicação de contrastes lineares mostrou que o número de classes etárias pode ser reduzido sem perda significativa de informação. As idades de partição foram reagrupadas da forma apresentada na segunda coluna da Tabela V.

TABELA V
Agrupamento das idades de parição

Ordem de Lactação	Modelo completo		Modelo reduzido	
	Classe Etária (meses)	No. Lact.	Classe Etária (meses)	No. Lact.
Primeira Lactação	<= 22	54	<= 22	54
	23 - 23	209	23 - 26	539
	25 - 26	330	27 - 30	458
	27 - 28	261	31 - 34	137
	29 - 30	197	>= 35	74
	31 - 32	83		
	33 - 34	54		
	35 - 36	34		
	>= 37	40		
Total		1262		1262
Segunda Lactação	<= 34	30	<= 38	261
	35 - 36	77	>= 39	533
	37 - 38	154		
	39 - 40	157		
	41 - 42	128		
	43 - 44	88		
	45 - 46	57		
	47 - 48	38		
	>= 49	65		
Total		794		794
Terceira Lactação	<= 48	47	<= 48	47
	49 - 50	53	>= 49	318
	51 - 52	69		
	53 - 54	58		
	55 - 56	45		
	57 - 58	40		
	59 - 60	16		
	61 - 62	18		
	>= 63	19		
Total		365		365
Quarta Lactação	<= 60	24		
	61 - 62	15		
	63 - 64	25		
	65 - 66	31		
	67 - 68	19		
	69 - 70	12		
	71 - 72	12		
	>= 73	21		
Total		159		
Quinta Lactação	<= 70	2		
	71 - 72	4		
	73 - 74	2		
	75 - 76	3		
	77 - 78	9		
	79 - 80	5		
	81 - 82	7		
>= 83	22			
Total		54		

TABELA VI
Análise de Variância (modelo 4)

Origem de variação	G.L.	Quadrado Médio		
		Gord. Total kg ²	Prod. Leiteira (kg × 10 ³) ²	Teor But. % ²
Estábulos	14	47 887, **	27,79 **	4,373 **
Anos	7	14 239, **	5,98 **	7,823 **
Ordem de Lactação	4	15 896, **	13,83 **	0,106 **
Mês	11	2 985, **	4,64 **	0,412 **
Idade:				
1. ^a Parição	8	1 929, *	2,83 **	0,182 NS
2. ^a Parição	8	1 214, NS	0,81 NS	0,140 NS
3. ^a Parição	8	1 862, *	1,69 *	0,333 **
4. ^a Parição	7	620, NS	0,16 NS	0,067 NS
5. ^a Parição	7	640, NS	0,87 NS	0,025 NS
Erro	2559	930,	0,79	0,125

** P < 0,01

* P < 0,05

NS P > 0,05 (Não Significativo)

O efeito da idade de parição é agora significativo para a produção leiteira nas três lactações consideradas, mantendo-se não significativo na matéria gorda total produzida na segunda lactação. Para o teor butíroso não há qualquer efeito significativo da idade.

As constantes ajustadas por máxima verosimilhança são apresentadas na tabela VII.

Verifica-se uma tendência nítida para o aumento de produção de leite e de gordura total com a idade de parição. Este efeito é substancial, da ordem de 782 kg de leite e 21 kg de gordura na primeira lactação entre parições efectuadas com menos de 22 meses e depois dos 35 meses de idade. Os efeitos nas outras lactações não são tão dramáticos mas são consistentes com os obtidos na primeira lactação. Um efeito inverso ocorre no teor butíroso com uma tendência, ainda que não significativa, para teores mais elevados em lactações mais precoces, o que é, sem dúvida, um reflexo da correlação negativa entre a produção e a percentagem de gordura no leite.

TABELA VII

Constantes e erros padrão (s.e.) adaptados por máxima verosimilhança às produções correspondentes a cada grupo etário em cada ordem de lactação

Ordem de Lactação	Classe Etária (meses)	Gord. Total kg		Prod. Leite kg		Teor But.-%	
		const.	s.e.	const.	s.e.	const.	s.e.
1. ^a	<=22	- 12,6	4,22	- 455,	124,7	,029	,0496
	23-26	- 1,6	2,00	- 126,	59,2	,040	,0235
	27-30	0,8	2,05	70,	60,6	-,033	,0241
	31-34	5,5	2,89	185,	85,5	-,018	,0340
	>=35	8,0	3,67	327,	108,7	-,017	,0432
2. ^a	<=38	- 2,4	1,36	- 103,	40,3	,017	,0160
	>=39	2,4	1,36	103,	40,3	-,017	,0160
3. ^a	<=48	- 5,9	2,7	- 272,	80,0	-,040	,0318
	>=49	5,9	2,7	272,	80,0	,040	,0318

c) Unidades sazonais de testagem

Para a definição de unidades sazonais de testagem apropriadas, foram consideradas no modelo 5) todas as combinações alternativas de seqüências semestrais e quadrimestrais, num total de dez análises aplicadas às características de produção, corrigidas para a ordem de lactação, mês e, sempre que possível, para a idade de parição. Os resultados de cada seqüência em termos dos componentes de variância e correlações intraclasse são apresentados na tabela VIII. A correlação intraclasse, expressa em termos da percentagem de variância atribuível ao período sazonal, é apresentada graficamente na figura 3.

Relativamente ao componente de variância entre unidades sazonais, verifica-se uma maior estabilidade para os períodos quadrimestrais do que para os semestrais, que se reflecte nos valores das correlações intraclasse. Resulta, portanto, que, derivado da redução no número de seqüências alternativas, é menos crucial a escolha de uma seqüência apropriada para a opção de três unidades quadrimestrais do que para duas unidades semestrais por ano.

Na figura 3, é aparente que a seqüência mais eficaz na remoção da variabilidade sazonal, é a que corresponde ao agrupamento semestral das lactações iniciadas entre 1 de Janeiro e 30 de Junho na unidade I e entre 1 de Julho e 31 de Dezembro na unidade II. Esta seqüência remove 5,4% da variância da gordura total e 8,4% da variância do teor butiroso. Para a produção de leite, o valor correspondente é de 2,4%. Com excepção desta última característica em que a primeira seqüência quadrimestral é marginalmente superior (2,6% de variância removida), em todos os casos as seqüências quadrimestrais são sempre inferiores à melhor semestral. Nestas condições, conclui-se que o grau de liberdade por estábulo utilizado na divisão do ano em três unidades sazonais, não é compensado por maior homogeneidade das produções assim agrupadas.

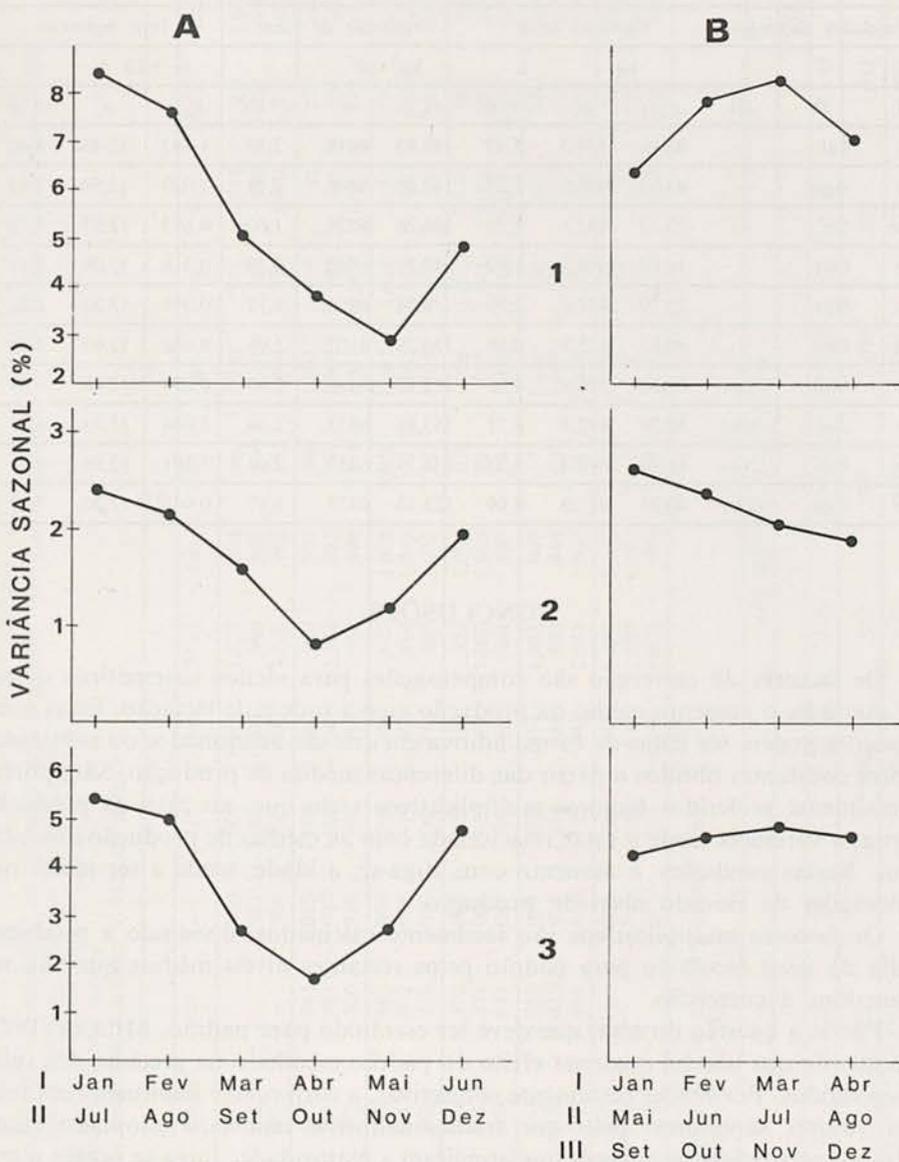


Figura 3 — Percentagem da variância «dentro» de estábulos atribuível ao período de início da lactação, para 1) Teor butíroso; 2) Produção de leite e 3) Gordura total. Gráfico A. — Sequências semestrais; Gráfico B. — Sequências quadrimestrais. Cada unidade sazonal compreende as lactações iniciais entre o primeiro dia do mês indicado e o último dia do mês anterior ao indicado para o período seguinte.

TABELA VIII

Componentes de variância entre unidades sazonais (dentro de estábulos), $\sigma_{S.H}^2$ e entre lactações iniciadas na mesma unidade sazonal, (erro), σ_e^2 e correlações intraclasse, t , para cada período sazonal. Cada unidade sazonal compreende as lactações iniciadas entre o primeiro dia do mês referido para o período e o último dia do mês referido para o período seguinte

Unidades Sazonais			Gordura total			Produção de Leite			Teor butíroso		
			kg ²			kg ² × 10 ²			% ² × 10 ²		
I	II	III	$\sigma_{S.H}^2$	σ_e^2	$t \times 10^2$	$\sigma_{S.H}^2$	σ_e^2	$t \times 10^2$	$\sigma_{S.H}^2$	σ_e^2	$t \times 10^2$
Jan	Jul	—	46,94	819,3	5,42	158,83	6478,	2,39	1,143	12,48	8,40
Fev	Ago	—	43,53	823,0	5,02	142,05	6496,	2,14	1,039	12,59	7,62
Mar	Set	—	23,52	842,1	2,72	106,26	6529,	1,60	0,683	12,93	5,01
Abr	Out	—	14,89	850,2	1,72	52,71	6580,	0,79	0,518	13,09	3,81
Mai	Nov	—	23,79	841,6	2,75	78,04	6556,	1,17	0,395	13,20	2,90
Jun	Dez	—	40,57	825,8	4,68	130,29	6507,	1,96	0,658	12,95	4,84
Jan	Mai	Set	36,82	816,9	4,32	171,27	6410,	2,60	0,854	12,48	6,41
Fev	Jun	Out	40,20	812,7	4,71	153,86	6433,	2,34	1,044	12,23	7,87
Mar	Jul	Nov	41,96	810,4	4,93	134,75	6457,	2,04	1,101	12,16	8,31
Abr	Ago	Dez	40,01	812,9	4,69	123,10	6472,	1,87	0,947	12,36	7,12

CONCLUSÕES

Os factores de correcção são compensações para efeitos sistemáticos como, por exemplo, o aumento médio da produção com a ordem de lactação. Estas compensações podem ser feitas de forma aditiva em que são adicionados ou subtraídos valores constantes obtidos a partir das diferenças médias de produção. São, porém normalmente preferidos factores multiplicativos visto que, no caso da produção leiteira, a variância tende a estar relacionada com as médias de produção dos estábulos. Nestas condições, o aumento com, diga-se, a idade, tende a ser maior nas explorações de elevado nível de produção.

Os factores multiplicativos são facilmente calculados, dividindo a produção média do nível escolhido para padrão pelos restantes níveis médios que vão ser submetidos à correcção.

Põe-se a questão do nível que deve ser escolhido para padrão. MILLER (1973) demonstrou que não há qualquer efeito do padrão escolhido na precisão dos valores corrigidos. Por razões certamente subjectivas, a correcção é habitualmente feita para valores superiores, pelo que tradicionalmente tem sido adoptado como padrão a produção dos animais que atingiram a maturidade. Julga-se porém que o critério mais correcto corresponde a escolher para padrão o grupo que habitualmente contém maior número de animais. As suas produções não são corrigidas e a incerteza ligada à aplicação de coeficientes médios vai afectar o mínimo possível de animais.

TABELA IX
Factores multiplicativos de correção para a gordura total (G.T.), produção de leite (P.L.) e teor butíroso (B%)

- A. Coeficientes para a correção sucessiva dos efeitos de:
 1) Ordem de Lactação (Total Ordem Lact.);
 2) Mês de Partição (Total mês) e
 3) Interação Ordem de Lactação x Mês de partição.

Caract.	Mês												Total Ordem Lact.	
	Jan.	Feb.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.		
O	G.T.	1	.960	1.005	1.014	1.022	.974	.964	.950	.971	.994	1.009	1.003	1
R	P.L.	1	.981	1.001	1.007	.998	.980	.990	.961	.981	.998	1.002	.999	1
D	B%	1	.986	1.013	1.007	1.028	.998	.965	.994	.992	1.000	1.010	1.006	1
E	G.T.	.981	1.015	1.000	.992	.980	.974	.996	1.007	.993	.990	.972	.991	.905
M	P.L.	.981	.997	1.002	.992	1.014	.982	.987	1.009	.980	.987	.978	.997	.897
D	B%	1.006	1.016	.990	.998	.968	.996	1.018	1.007	1.021	1.002	.994	1.002	1.009
E	G.T.	.985	.999	.909	.958	.947	1.078	1.058	1.062	1.047	.954	.959	.956	.915
C	P.L.	.972	.995	.919	.962	.964	1.049	1.033	1.043	1.042	.980	.988	.967	.890
L	B%	1.010	1.010	1.004	.994	1.003	1.033	1.021	1.014	1.008	.980	.969	.987	1.027
A	G.T.	.932	1.005	1.027	.936	.951	1.084	1.026	1.008	1.012	1.036	.990	.943	.982
C	P.L.	.971	1.006	1.023	.961	1.000	1.085	.994	.985	1.005	1.001	.973	.930	.884
T	B%	.971	1.001	.983	.991	.964	.993	1.034	1.008	1.014	1.038	1.017	1.012	1.010
A	G.T.	1.057	1.099	.902	.814	1.055	.949	1.172	1.036	.946	.897	.980	1.000	.909
Ç	P.L.	1.035	.974	1.014	.885	.996	.949	1.005	1.057	.999	.915	.980	1.136	.872
O	B%	1.016	1.012	.888	.942	1.045	1.008	1.117	.991	.958	1.007	1.021	.920	1.038
Total	G.T.	1	1.065	1.034	1.080	1.080	1.068	1.118	1.123	1.053	1.058	1.047	1.045	
	P.L.	1	1.036	1.021	1.044	1.057	1.080	1.134	1.126	1.084	1.067	1.050	1.048	
	B%	1	1.025	1.015	1.038	1.024	.990	.982	.993	.972	.992	.996	.990	

- B. Coeficientes de correção sucessiva para o efeito
 4) Grupo Etário de Partição.

Idade (m)	ORDEM DE LACTAÇÃO												
	1. ^a				2. ^a				3. ^a				
	< = 22	23-26	27-30	31-34	> = 35	< = 38	> = 39	< = 48	> = 49				
C	G.T.	1.082	1	.983	.953	.937	1.004	.975	1.052	.975			
T	P.L.	1.076	1	.960	.937	.911	1.008	.970	1.090	.979			

incerteza ligada à aplicação de coeficientes médios vai afectar o mínimo possível de animais.

Os coeficientes de interacção Ordem de Lactação x Mês de Parição, calculados directamente da análise de máxima verosimilhança, corrigem simultaneamente para os efeitos principais e para a própria interacção. O mesmo acontece relativamente à correcção para a idade de parição e o seu efeito principal, a ordem de lactação. No entanto, em termos operacionais e para tratamento informático dos dados, torna-se preferível optar por corrigir sucessivamente cada um dos factores principais, seguidos da interacção e da idade da parição. Os factores de correcção calculados de forma a poderem ser aplicados separadamente a cada efeito são apresentados na tabela IX.

De acordo com o critério acima definido, tomou-se como base de correcção a produção de primíparas que pariram no mês de Janeiro com 23 a 26 meses de idade.

O resultado da aplicação dos factores de correcção é aparente na análise de variância dos dados de produção corrigidos apresentada na tabela X.

Verifica-se, como de resto se esperava, que são justamente os efeitos não-sistemáticos do ano de parição e do estábulo, os únicos que contribuem significativamente para a variação das características de produção. Todos os outros passam a não significativos com reduções substanciais no quadrado médio correspondente.

TABELA X

Análise de Variância (modelo 2) aplicada aos dados corrigidos para os efeitos da ordem de lactação, mês e idade de parição e interacção mês x ordem de lactação

Origem de variação	G.L.	Quadrado Médio		
		Gord. Total kg ²	Prod. Leiteira (kg × 10 ³) ²	Teor. But. % ²
Estábulos	15	63 128, **	39,98 **	5,425 **
Anos	7	15 214, **	6,57 **	10,350 **
Ordem de Lactação	4	1 322, NS	0,41 NS	0,001 NS
Mês	11	216, NS	0,12 NS	0,000 NS
Interacção Mês X Ord	44	95, NS	0,05 NS	0,000 NS
Erro	3680	891,	0,73	0,132

** P < 0,01

* P < 0,05

NS P > 0,05 (Não Significativo)

Considere-se como exemplo de aplicação uma vaca que iniciou a terceira lactação em Maio, com 52 meses de idade, e produziu 4200 kg de leite com 3,2% de gordura e 134,4 kg de gordura total. O procedimento, utilizado os coeficientes da tabela IX, e os valores corrigidos é ilustrado na tabela XI.

TABELA XI
Exemplo de aplicação de factores de correcção:
terceira lactação iniciação em Maio com 52 meses de idade.

Característica	Produção Real	Factores de Correcção					Produção Corrigida
		Idade <= 49	Ordem de Lactação 3. ^a	Mês de Parição Maio	Interac. OL x MP 3. ^a x Mai		
Gordura Total kg	134,4	,953	,915	1,080	,947	119,9	
Produção Leite kg	4200	,892	,890	1,057	,964	3397	
Teor Butiroso %	3,2	1	1,027	1,024	1,003	3,38	

Tratando-se de coeficientes multiplicativos, é indiferente a sua ordem de aplicação. No entanto, não é lícito utilizar os factores de correcção da interacção ou da idade de parição sem também corrigir para os efeitos principais. Tendo em conta esta limitação, para qualquer efeito que não deva ser corrigido, basta substituir o respectivo coeficiente pela unidade, tal como foi feito no exemplo para a correcção do efeito da idade no teor butiroso.

No que se refere às unidades sazonais de testagem, baseado nos resultados apresentados na tabela VIII e figura 3, para as características de gordura total, produção de leite e teor butiroso, corrigidas da forma que acima se descreve, opta-se pela definição de duas unidades semestrais, agrupando-se na unidade I todas as lactações iniciais entre 1 de Janeiro e 30 de Junho e na unidade II as iniciadas entre 1 de Julho e 31 de Dezembro.

BIBLIOGRAFIA

- HARVEY, W.R., 1982. Mixed model capabilities os LSML 76. *J. Anim. Sci.* **54**: 1279.
- HENDERSON, C.R., 1975 Best linear unbiased estimates and predictions under a selection model. *Biometrics* **31**: 423.
- LOAFGREEN, D.L., CASSEL, B.G., NORMAN, H.D. and MCDANIEL, B.T., 1983. Effects of culling on sire evaluation by mixed models. *J. Dairy Sci.* **66**: 2418.
- MILLER, P.D., 1973. A recent study of age adjustment. *J. Dairy Sci.* **56**: 952.
- MILLER, P.D. and HENDERSON, C.R., 1968. Seasonal age-correction factors by maximum likelihood. *J. Dairy Sci.* **51**: 958.
- MILLER, P.D. LENTZ, W.E. and HENDERSON, C.R. 1968. Joint influence of month and age of calving on milk yield of Holstein cows in the Northeastern United States. *J. Dairy Sci.* **53**: 351.
- PHILIPSSON, J., DOMMERHOLT, J. FIMLAND, E., GAILLARD, C., GJØL-CHISTENSEN, L., LEDERER, J., MCCLINTOCK, A.E. and MOCQUOT, J.C., 1978. Problems in cow evaluation and current use of cow index. Report of a working group on cow evaluation. *Livestock Prod. Sci.*, **5**: 3.
- WUNDER, W.W. and MCGILLIARD, L.D., 1969. Seasons of calving and their interactions with age for lactational milk yield. *J. Dairy Sci.* **50**: 968.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos são devidos ao Exmo. Senhor Dr. L. Bragança Parreira por ter facultado todos os dados utilizados neste estudo e ao Colega Vale Henriques pelo seu empenho pessoal em completar, sempre que foi possível, as genealogias e idades.



Até pag. 101

SOCIEDADE PORTUGUESA DE GENÉTICA

FICHEIRO DE ACTIVIDADES DOS SÓCIOS

SÓCIOS HONORÁRIOS

PROF. DOUTOR AURÉLIO QUINTANILHA
(DESDE 18 DE FEVEREIRO DE 1974)

PROF. DOUTOR ABÍLIO FERNANDES
(DESDE 29 DE DEZEMBRO DE 1975)

PROF. DOUTOR JOSÉ ANTUNES SERRA
(DESDE 26 DE JUNHO DE 1984)

SÓCIOS BENEMÉRITOS

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGAÇÃO AGRÁRIA
(DESDE 12 DE DEZEMBRO DE 1982)

MARIA CÂNDIDA GHIRA
(DESDE 26 DE JUNHO DE 1984)

SÓCIOS EFECTIVOS E AGREGADOS

- ALEXANDRE, Maria da Conceição Trabulo F.*
Escola Secundária de Trancoso, 6420 Trancoso. Ensino Secundário
- ALFARO, Valentina Manuela Ferreira da Silva*
Escola Secundária n.º 2 de Matosinhos, 4450 Matosinhos Ensino Secundário.
- ALMEIDA, Jorge Alexandre Matos Pinto de*
Departamento de Botânica, Instituto Superior de Agronomia, 1399 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Construção de um banco genómico do fago de *S. subtilis* ρ15. Identificação da origem de replicação de ρ15. G.M.
- ALMEIDA, Licínia de Jesus de*
Escola Secundária de Vila Real de Santo António, 8900 Vila Real de Santo António. Ensino Secundário.
- ALMEIDA, Luís Meneses de*
Instituto de Biologia e Genética Médica da Faculdade de Medicina, 3049 Coimbra. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Aconselhamento genético: Osteopatias genotípicas. Estudo biodemográfico da população portuguesa da Zona Centro G.H.
G.E.
- ALMEIDA, Maria Leonor Osório Solano de*
Instituto Gulbenkian de Ciências, 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. cloro-plástico. G.M.
- ALMEIDA, Maria Teresa*
Museu, Laboratório e Jardim Botânico anexo à Faculdade de Ciências e Tecnologia, 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.

(*)

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

- ALMEIDA, Victor Carlos Torres de**
 Direcção Regional de Pecuária, Direcção de Serviços Veterinários, Divisão de Fomento e Melhoramento. Av. Comunidades Madeirenses, 9000 Funchal. Linhas de Investigação: Melhoramento em ovinos de carne e leite. G.A.
- ANUNCIÇÃO, Maria Clara Fernandes Trigo**
 Escola Secundária de Linda-a-Velha. 2795 Linda-a-Velha. Ensino Secundário
- 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. G.M.
- ARTILHEIRO, Idalécia Freitas**
 Escola Secundária de André de Gouveia, 7000 Évora. Ensino Secundário.
- AZEVEDO, Deolinda Maria Rodrigues Jacinto de**
 Escola Secundária da Camarinha, 2900 Setúbal. Ensino Secundário.
- BAGULHO, Francisco João Cortes**
 Estação Nacional de Melhoramento de Plantas, Ap. 6 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, Ap. 6 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, Ap. 6 7351 Elvas Codex. Linhas de Investigação: Estudos citogenéticos em *Triticum* e *Hordeum*. C.G.
- BARRETO, Manuel Rato**
 Bairro da Mina, Vivenda Leonilde, Carcavelos, 2775 Parede.
- BENOLIEL, Luna Ruah**
 Escola Secundária Alfredo da Silva, 2830 Barreiro. Ensino Secundário.
- BESSA, Ana Maria Souto**
 Instituto Gulbenkian de Ciências, Ap. 14; 2781 Oeiras Codex. Linhas de Investigação: Cotogenética do Trigo. C.G.
- BETTENCOURT, Anibal 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 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.
- BRÁS, Maria Aldina Lopes**
Serviço de Genética, Faculdade Ciências Médicas, 1198 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Bioquímica nas alterações cromossómicas. G.H.
- 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.
- CANO, Maria Constança Fonseca, R.**
Escola Secundária, n.º 1, 7800 Beja.
- CARDOSO, Maria Adelaide de Almeida S.**
Instituto de Biologia Médica, Faculdade de Medicina, 3049 Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Ultraestrutura celular e Citogénica Humana. G.H.
- CARDOSO, Maria Cristina Simões da Silva**
Instituto Gulbenkian de Ciências, Ap. 14, 2781 Oeiras Codex Linhas de Investigação: Mapeamento físico de genomas de bacteriófagos. G.M.
- CARNEIRO, Ana Paula da Conceição**
Centro de Estudos de Bioquímica e Fisiologia Animal, Instituto Rocha Cabral, 1200 Lisboa, Linhas de Investigação: Regeneração Hepática.
- CARNEIRO, João Paulo Barbas Gonçalves**
Estação Nacional de Melhoramento de Plantas, Ap. 6; 7351 Elvas Codex. Linhas de Investigação: Melhoramento de plantas forrageiras e pratenses. G.P.
- 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 patogenidade 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 citogenéticos e melhoramento de cereais (Trigo, Centeio e Triticale). G.P.
- CARRAPATOSO, Maria Isabel Paiva*
R. Elias Garcia, n.º 110, 3800 Ovar.
- CARREIRA, Maria da Conceição Penteado e Silva*
Estação Nacional de Selecção e Reprodução Animal, Rua Elias Garcia, 38, Venda Nova, 2700 Amadora. Linhas de Investigação: Imunogenética. Grupos sanguíneos dos bovinos e Polimorfismos Bioquímicos (Bovinos e Equídeos). G.A.
- CARREIRO, Maria do Pilar Rego Costa*
Escola Secundária de Cantanhede, 3600 Cantanhede. Ensino Secundário.
- 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 feacalis* 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, José Adalmiro Barbosa Dias de*
Escola Secundária de Alexandre Herculano, Av. Camilo — 4300 Porto. Ensino Secundário.
- CASTRO, Marília Prisco*
Escola Secundária da Sé, Estrada das Alcáçovas, 7000 Évora. Ensino Secundário.
- CASTRO-E-ALMEIDA, Maria Emilia*
Centro de Antropobiologia. Instituto de Investigação Científica Tropical, 1000 Lisboa. Linhas de Investigação: Diversidade Biológica humana das populações actuais. G.H.
G.E.
- 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.
- HAVECA, 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*
Inspeção-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.
- CONSTANT, Ruth Arez**
Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 1699 Lisboa Codex. C.G.
Linhas de Investigação: Mapa génico humano. Estudos cromossómicos G.H.
na população.
- CONSTANTINA, Maria Luísa Baião da**
Escola Secundária da Baixa da Banheira. Baixa da Banheira, Moita,
2830 Barreiro. Ensino Secundário.
- CORREIA, Aníbal Leal**
Laboratório Químico, EPAC— Empresa Pública de Abastecimento de
Cereais, 1000 Lisboa. Linhas de Investigação: Electroforese de proteínas G.M.
dos cereais. Essa aplicação no melhoramento do trigo.
- CORREIA, Jorge Calado Antunes**
Departamento de Genética, Escola Superior de Medicina Veterinária,
1199 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Com- C.G.
pensatione de dosagem dos genes ligados ao sexo, Polimorfismos bio- G.E.
químicos em mamíferos e peixes. Melhoramento genético de porcos e G.A.
coelhos.
- 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 G.H.
pressões digitais. Genética da Psiquiatria. Criminalidade e Genética.
- COSTA, Maria Margarida Almeida Raposo**
Instituto de Biologia e Genética — Faculdade de Medicina, 3049 Coim- C.G.
bra Codex. Ensino Universitário. 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 Lis-
boa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Melhora- G.P.
mento da Videira particularmente no que se refere à resistência a doen-
ças criptogâmicas.
- CRUZ, Gil Silva**
Departamento de Botânica, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049
Coimbra Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Cultura G.D.
de órgãos e tecidos com vista à indução de morfogénese e regeneração
de plantas «in vitro».
- CUNHA, Isabel Maria de Almeida Alves Pereira Carvalho**
Escola Secundária Infanta D. Maria, 3000 Coimbra. Ensino Secundário.
- CUNHA, Maria Fernanda Agostinho Gonçalves da**
Escola Secundária da Almada (Pragal), 2800 Almada. Ensino Secundário.

- CUNHA, Maria José Cabrita da Silva e*
Escola Secundária João de Deus, 8000 Faro. Ensino Secundário.
- CUNHA, Zaida Rodrigues Lopes da*
Instituto Gulbenkian de Ciências, Ap. 14; 2781 Oeiras Codex. Linhas de Investigação: Citogenética do Trigo e outras Triticinae. C.G.
- DIAS, Isabel Margarida Cunha*
Rua Dr. Eduardo dos Santos Silva, 136, 2.º Esq. 4200 Porto. Ensino Secundário.
- DIAS, Maria Manuela Pascoal*
Escola Secundária Avelar Brotero, 3000 Coimbra. Ensino Secundário.
- DOMINGUES, Maria Helena Vaz*
Escola Secundária da Moita, 2860 Moita. Ensino Secundário.
- DUARTE, José Manuel Casdoso*
Departamento de Tecnologia de Indústrias Químicas — LNETI. Queluz de Baixo, 2745 Queluz. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Produção de amino-ácido; produção de vitamina B-12. G.M.
- ESCOLA SUPERIOR DE EDUCAÇÃO DE VISEU*
Rua Maximiano Aragão, 3500 Viseu.
- EVANGELISTA, José Manuel Gomes*
Escola Preparatória e Secundária de Alcochete, 2890 Alcochete. Ensino Secundário.
- FARIA, Graça Maria dos Santos Costa*
Escola Secundária da Marinha Grande, 2430 Marinha Grande. Ensino Secundário.
- FARIA, Maria dos Anjos Inocêncio Teixeira de*
Escola Superior de Educação, 4900 Viana do Castelo. Ensino Universitário.
- 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, Ap. 14, 2781 Oeiras Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Fagos de *Bacillus subtilis*. G.M.
- FERREIRA, Francisco da Fonseca*
Escola Secundária Infanta D. Maria, 3000 Coimbra. Ensino Secundário. Linhas de Investigação: Aprofundar e actualizar conhecimentos nos domínios da citogenética e da genética das populações e evolutiva.
- FERREIRA, Margarida do Rosário D. D. Martins*
Escola Secundária D. João de Castro, Alto de Santo Amaro, 1300 Lisboa. Ensino Secundário.

- FIALHO, José Lourenço de Oliveira*
Praça do Giraldo, 83; 7000 Évora.
- FIALHO, Maria da Graça Monteiro de Azevedo*
Instituto Gulbenkian de Ciências, 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 patogencidade de *Puccinia recondita* do trigo. Resistência do trigo à *P. recondita*. G.P.
- FREITAS, Maria Luísa Gomes Ribeiro*
Escola Secundária Martins Sarmento, 4800 Guimarães. Ensino Secundário.
- GAMA, Maria da Conceição Ferraz de Sousa*
Escola Secundária Sá de Miranda, 4700 Braga. Ensino Secundário.
- GOMES, Maria da Conceição Pereira Bagorro*
Estação Nacional de Melhoramento de Plantas, Ap. 6, 7351 Elvas Codex. Linhas de Investigação: Melhoramento de cereais autogâmicos. G.P.
- GONÇALVES, André Dias*
Escola Secundária D. Pedro V, 1500 Lisboa. Ensino Liceal.
- GONÇALVES, Maria da Conceição Teixeira da Fonte*
Escola Secundária Francisco Rodrigues Lobo, 2400 Leiria. Ensino Secundário.
- 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. subtilis*). 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.
- GRAÇA, Maria del Carmen Dominguez Bentes*
Escola Secundária de S. Julião, 2900 Setúbal.
- 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.
- GRUPO DE BIOLOGIA**
Escola Secundária de Loulé, 8100 Loulé, Ensino Secundário.
- GUALBERTO, José Manuel C. G.*
Instituto Gulbenkian de Ciência, Ap. 14; 2781 Oeiras Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Actividade proteolítica em reticulocitos. 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 A. D. Fonseca*
 Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 1699 Lisboa Codex.
 Linhas de Investigação: Estudo do Mapa Genético do Homem (Dosagem
 Génica e Híbridos Celulares Somático). Doenças metabólicas. G.H.
- HENRIQUES, Maria Antónia de Almeida*
 Escola Secundária de Rio Maior, 2040 Rio Maior. Ensino Secundário.
- 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 Dto., 3000 Coimbra. Ensino Se-
 cundário.
- JORGE, Maria do Sameiro Oliveira Rocha Saraiva*
 Escola Secundária de Almada, Pragal. Ensino Secundário.
- JÚDICE, Maria Luísa D. F. R. Alarcão*
 Direcção-Geral do Ensino Secundário, Av. 24 de Julho, 104-4.º, 1300
 Lisboa. Ensino Liceal.
- LAVINHA, João M. L. B.*
 Laboratório de Genética Humana. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ri-
 cardo Jorge, 1699 Lisboa Codex. Linhas de Investigação: Cartografia
 génica humana usando híbridos de células somáticas. Caracterização
 molecular das formas portuguesas de talassemia e outras hemoglobino-
 patias. G.M.
 G.H.
- LEÃO, Maria Cecília de Lemos Pinto Estrela*
 Instituto Gulbenkian de Ciências, Ap. 14, 2781 Oeiras Codex. Ensino
 Universitário. Linhas de Investigação: Termomicrobiologia. Produção
 de Etanol. G.M.
- LEMOS, António João Teixeira de*
 Escola Secundária N.º 2 de Lagos, 8600 Lagos. Ensino Secundário.
- LENCASTRE, Hermínia Garcez de*
 Instituto Gulbenkian de Ciências, Ap. 14, 2781 Oeiras Codex. Ensino.
 Universitário. Linhas de Investigação: Clonização de Genes de Esporu-
 lação de *Bacillus subtilis*. Mecanismo de transdução em *Bacillus subtilis*.
 Caracterização de mutantes de *Bacillus subtilis* resistentes ao fago SPPI. G.M.
- LIMA, Maria José Escária Santos Brito*
 Escola Secundária Gabriel Pereira, 7000 Évora. Ensino Secundário.
- LIMA, Nelson Manuel Viana Silva*
 Escola Superior de Educação de Viseu, Rua Maximiniano de Aragão,
 3500 Viseu. Linhas de Investigação: Taxonomia Entomológica. G.A.

- LOPES, Amândio Joaquim Madeira*
 Instituto Gulbenkian de Ciências, Ap. 14, 2781 Oeiras Codex. Ensino
 Universitário. Linhas de Investigação: Efeitos da temperatura e de anti-
 bióticos na morte e no crescimento de populações de leveduras. G.M.
- LOPES, Maria Dulce R. Paiva S.*
 Escola Secundária do Montijo, 2870 Montijo. Ensino Secundário.
- LOUÇÃO, Maria Amélia Martins*
 Departamento de Botânica, Faculdade de Ciências, 1294 Lisboa Codex.
 Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Estudo fisiológico e cito-
 lógico de uma possível associação simbólica fixadora de N em *Cera-*
tonia siliqua (alfarrobeira). C.G.
- LUÍS, José Henrique Pereira*
 Departamento de Protecção e Segurança Radiológica, L.N.E.T.I., Es-
 trada Nacional 10, 2685 Sacavém. Linhas de Investigação: Dosimetria
 biológica das radiações pela análise das aberrações cromossómicas. C.G.
- LUÍS, Maria da Cruz Ramos*
 Escola Secundária de Silves, 8300 Silves. Ensino Secundário.
- MAÇÃS, Benvindo Martins*
 Estação Nacional de Melhoramento de Plantas, Ap. 6, 7351 Elvas Codex.
 Linhas de Investigação: Melhoramento genético de cereais autogâmicos
 (trigo, triticale, cevada e aveia). G.P.
- MACHADO, Manuel Augusto Martins Peres*
 Escola Secundária N.º 1. Estrada do Alentejo, 2900 Setúbal. Ensino
 Secundário.
- 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 (gramíneas). C.G.
- MACHADO, Maria José Alves da Silva*
 Escola Secundária D. Maria II, 4700 Braga. Ensino Secundário.
- MACHADO, Walter Goulão*
 Escola Secundária de Santa Maria do Olival, 2300 Tomar. Ensino Se-
 cundário.
- MADEIRA, Ana Maria Vasconcelos*
 Escola Secundária de Odemira, 7630 Odemira. Ensino Secundário.
- MADEIRA, Maria Marta Correia Pires Mendes*
 Escola Alemã de Lisboa. Av. General Norton de Matos, Lisboa. 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.
- MAFALDA, Reinalda da Silva Gomes**
Escola Secundária Carolina Michaelis, 4000 Porto. Ensino Secundário.
- MALHEIRO, Maria Isabel da Silva Nogueira Bastos**
Laboratório de Citogenética — Instituto de Ciências Biomédicas «Abel Salazar», 4000 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Cromossomopatias. Estudo ultraestrutural dos cromossomas humanos com especial incidência nas associações dos cromossomas acrocêntricos. C.G.
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: Melhoria da videira em relação à resistência a doenças Criptogâmicas. Selecção massal e 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: Genética das populações humanas. Direcção e reorganização do ensino e investigação do citado Instituto de Higiene e Medicina Social. 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.
- MATIAS, Luís Manuel de Sousa**
Hospital Distrital de V.N.F., 4760 Vila Nova de Famalicão
- MATOS, Rolanda Maria Albuquerque de**
Centro de Genética e Biologia Molecular, Av. Professor Gama Pinto, N.º 2, 1699 Lisboa Codex. Linhas de Investigação: Citogenética e Análise Genética de Helicídios e especialmente *Helix aspersa*. Variação intraspecífica em espécies polimórficas. Aplicações genéticas em ovinos. C.G.
G.A.
G.D.
G.E.
- METELLO, Francisco Luís Marques**
Instituto de Biologia, Faculdade de Medicina, 3049 Coimbra. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Genética Médica. C.G.
G.H.
- MIGUÊNS, Manuel Isabelinho**
Escola Secundária de S. Lourenço, 7300 Portalegre. Ensino Secundário.
- MONTEIRO, Carolino José Nunes**
Serviço de Genética, Faculdade de Ciências Médicas, 1198 Lisboa Codex. Linhas de Investigação: Polimorfismos genéticos humanos. G.M.
G.H.
- MONTEIRO, Isabel Maria Silva**
Instituto Superior de Agronomia 1399 Lisboa Codex.

- MONTEIRO, Luís Sieuve*
 Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, 4000 Porto. Ensino Uni-
 versitário. Linhas de Investigação: Genética de sistemas de controlo;
 crescimento e eficiência alimentar. G.A.
 G.E.
- MOREIRA, Ilídio*
 Departamento de Botânica, Instituto Superior de Agronomia, 1399 Lis-
 boa Codex. Ensino Universitário.
- MORGADO, Maria Paula Marinho de Matos*
 Escola Secundária Francisco de Holanda, 4800 Guimarães. Ensino Se-
 cundário.
- 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, Dto, Queluz Ocidental, 2745 Queluz. Ensino
 Liceal.
- NEVES, Maria de Lourdes Lemos Cabral das*
 Escola Secundária D. Filipa de Lencastre, Bairro do Arco do Cego,
 1000 Lisboa. Ensino Secundário.
- OLIVEIRA, Ana Zita Rocha de*
 Escola Secundária de Mirandela, 5370 Mirandela. Ensino Secundário.
- OLIVEIRA, António do Rosário*
 Departamento de Genética, Centro de Produção Animal, Escola Supe-
 rior de Medicina Veterinária, 1100 Lisboa. Linhas de Investigação:
 Suinicultura (Porco Ibérico-Alentejano). G.A.
- OLIVEIRA, Manuela da Conceição Tavares Pontes de*
 Escola Secundária da Bela Vista, 2900 Setúbal. Ensino Secundário.
- OLIVEIRA, Maria de Fátima Ventura de*
 Escola Secundária do Entroncamento, 2330 Entroncamento. Ensino
 Secundário.
- 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, Faculdade de Ciências e Tecno-
 logia, 3049 Coimbra Codex. Linhas de Investigação: Taxonomia de plan-
 tas vasculares dos Açores — Polygonaceae da flora Zambeziana — Pte-
 ridófitas da Macaronésia — Citotaxonomia de Pteridófitas de Portugal
 e das Ilhas Macaronésicas. C.G.
- OSÓRIO, António José Meneses*
 Escola Secundária de Arcozelo, 4750 Barcelos. Ensino Secundário.
- PACHECO, Osvaldo Tadeu Simões*
 R. Rainha D. Amélia, 31, 9700 Angra do Heroísmo, Linhas de Investi-
 gação: 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, Jorege Américo Rodrigues de*
 Instituto Botânico, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049 Coimbra
 Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Citotaxonomia e
 bio sistemática de plantas vasculares; aeropalinologia. C.G.
- PAIVA, Laura Maria Ferreira Marques de*
 Escola Secundária José Falcão, 3000 Coimbra. Ensino Secundário.
- 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 Uni-
 versitário. Linhas de Investigação: Estudo da utilização da L-arabinose
 em *Bacillus subtilis*. G.M.
- PEDROSA, Carmen Manuela Henriques*
 Escola Secundária Emídio Navarro, 2800 Almada. Ensino Secundário.
- PEGO, Silas Esteves*
 INIAER e Centro de Gestão Agrícola do Vale de Sousa, 4620 Lousada
 Linhas de Investigação: Melhoramento de milho «On-farm research
 project». G.C.
 G.P.
 G.E.
- PENEDA, Isabel Maria de Salles Guerra Jonet de Almeida*
 INIA — Estação Agronómica Nacional, 2780 Oeiras. Linhas de Investi-
 gação: 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. Aliment., Instituto Uni-
 versitário de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001 Vila Real Codex.
 Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Mobilização microbio-
 lógica de recursos naturais, selecção e caracterização de m.o. para usos
 biotecnológicos. Estudo de mecanismos de controlo. G.M.
- PEREIRA, Isabel Maria da Silva Veiga Simão de Azevedo*
 Escola Secundária D. Duarte, 3000 Coimbra. Ensino Secundário.
- 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*, (Dife-
 renciação 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 Uni-
 versitário. Linhas de Investigação: Citogenética de Cereais (triticale,
 trigo, e centeio), com particular incidência em aspectos de estabilidade
 cromossómica de diploides e de emparelhamento cromossómico; melho-
 rammento 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.
- RAMOS, Luís Filipe Lopes*
Divisão de Ovinicultura e Caprinicultura — Instituto Universitário de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001 Vila Real Codex. Ensino Secundário. Linhas de Investigação: Estudo comparativo das aptidões lactopoiéticas dos caprinos da raça autóctone serrana e da raça norueguesa. Melhoramento das raças ovinas e caprinas nacionais. G.A.
- RAMOS, Pedro Manuel Ataíde Nogueira*
Departamento Genética. Faculdade de Ciências Médicas, 1198 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Doenças metabólicas. G.M.
- RAPOSO, Joaquim Luís Duarte*
Faculdade de Ciências Médicas, 1198 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Rastreo 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 polimorfismos génico dessas mesmas populações. G.H.
- REIS, Helena Maria da Costa Machado Pereira Palma dos*
Serviço de Genética Médica. Faculdade de Ciências Médicas. 1198 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Síndrome de Turner, oncologia. G.M.
G.H.
- REYS, Lesseps Lourenço*
Instituto de Medicina Legal de Lisboa, 1100 Lisboa. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Polimorfismos genéticos humanos para investigação de paternidade. G.H.
- RIBEIRO, Irmã Maria Tereza de Carvalho*
Colégio de S. José, Quinta do Ramalhão, 2710 Sintra. Ensino Secundário.

- 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.
- RIJO, Luisete*
 Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, Estação Agronómica Nacional, 2780 Oeiras. Linhas de Investigação: Histopatologia da relação cafeeiro-ferrugem. G.P.
- 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, Helena Maria Ricardo*
 Escola Secundária N.º 2, 4760 Vila Nova de Famalicão. Ensino Secundário.
- 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.
- RUEFF, José A.*
 Departamento de Genética, Faculdade de Ciências Médicas, 1198 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Mutagenese ambiental, Cancerigenese. 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.
- SALVATERRA, Vanda Maria da Conceição*
 Escola Secundária Sá da Bandeira, 2000 Santarém. Ensino Secundário.
- SAMPAYO, Tristão José de Mello de*
 Instituto Gulbenkian de Ciências, 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 M. Amorim dos*
 Instituto de Antropologia, Faculdade de Ciências, 4000 Porto. Ensino
 Universitário. Linhas de Investigação; Genética Bioquímica. Mapea-
 mento. Aplicações forenses e clínicas. G.H.
- 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 subtilis*. 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*
 Departamento 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.
- SAÚDE, Elsa Maria Reis Roque*
 Escola Secundária Francisco Rodrigues Lobo, 2400 Leiria. Ensino Se-
 cundário.
- 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 Amiloidótica Familiar,
 Doença de Machado-Joseph. C.G.
 G.H.
- SÉRIO, Isabel Maria Magalhães*
 Rua do Lugarinho, n.º 74, 2.º Esq. 4200 Porto. Ensino Secundário.
- SERRA, José Antunes*
 Centro de Genética e Biologia Molecular, Av. Prof. Gama Pinto 2, 1699
 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Genética
 trans-Mendeliana com base na Análise Genética de Helicídios. Inter-
 pretações em Genética Molecular, especialmente de Genes Variáveis.
 Aplicações da Genética em Ovinos, à Gerontologia, à Nutrição. C.G.
 G.M.
 G.A.
 G.E.
 G.D.
- SILVA, Alberto Manuel Barros da*
 Serviço de Genética Médica, Faculdade de Medicina, 4200 Porto, En-
 sino Universitário. Linhas de Investigação: Genética Médica. Citogené-
 tica 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. Li-
 nhas de Investigação: Acção do etanol e da temperatura na mutação
 para deficientes respiratórios em leveduras. G.M.

- SILVA, Maria Helena de Freitas Alves Bravo Almeida e*
Escola Secundária Alexandre Herculano, 4200 Porto. Ensino Secundário.
- SILVA, Maria Madalena de Almeida Cerqueira da*
Escola Secundária de Serpa, 7830 Serpa. Ensino Secundário.
- SILVA, Maria Odete Gomes Rodrigues da*
Escola Secundária de Santiago do Cacém. 7540 Santiago do Cacém Ensino Secundário.
- SILVA, Pedro João Neves e*
Departamento de Biologia Vegetal. Faculdade de Ciências, 1300 Lisboa. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Interação da genética populacional, dinâmica populacional e distribuição e estrutura espacial. Coevolução. G.E.
- 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.
- SILVA, Vera de Abreu Coelho Belo da*
Departamento de Genética. Faculdade de Ciências Médicas, 1198 Lisboa Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Estudo da fenilalanina. G.H.
- SOUSA, Ana Clara Ferreira de Andrade e*
Instituto Gulbenkian de Ciência, Ap. 14; 2781 Oeiras Codex. Linhas de Investigação: Citogenética do trigo. C.G.
- SOUSA, Luzia Maria da Costa*
Instituto de Antropologia. Faculdade de Ciências. 4000 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Polimorfismos humanos. G.H.
- SOUSA, Manuel Maria Tavares de*
Estação Nacional de Melhoramento de Plantas. Ap. 6; 7351 Elvas Codex. Linhas de Investigação: Melhoramento genético de pratenses e forrageiras alopáticas dos géneros *Medicago*, *Festuca* e *Dactylis*. G.P.
- 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.II
G.I
- 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 Valenzuela Sampaio*
 Serviço de Genética Médica. Faculdade de Medicina, 4200 Porto. Ensino
 Universitário. Linhas de Investigação: Genética Médica. Genética e cito- G.H.
 genia dos casais com esterilidade ou abortamentos de repetição. Aconse-
 lhamento genético e seu efeito Bio-social.
- TEIXEIRA, Rogério dos Santos Cardoso*
 Instituto de Biologia, Faculdade de Medicina, 3000 Coimbra. Ensino
 Universitário. Linhas de Investigação: Pesquisa de doenças monofacto- G.H.
 riais, multifactoriais e por aberrações cromossómicas. Aconselhamento
 Genético.
- TRIGUEIRO, Margarida Maria Neves*
 Escola Secundária Garcia da Orta, 4100 Porto. Ensino Secundário.
- TRINCÃO, Jacinta Amália Valente Rato Vieira*
 Escola Secundária de Torres Novas. 2350 Torres Novas. Ensino Secun-
 dário.
- VASCONCELOS, Maria Beatriz Beça Gonçalves Porto e*
 Laboratório de Citogenética — Instituto de Ciências Biomédicas «Abel
 Salazar», 4000 Porto. Ensino Universitário. Linhas de Investigação; Cro- C.G.
 mossomopatias. Estudo da inactivação do cromossoma X e sua relação G.H.
 com o fenótipo.
- VASCONCELOS, Maria Elisa Vasconcelos Alves de Sousa de*
 Escola Secundária António Nobre, 4200 Porto. Ensino Secundário.
- VAZ, António Manuel Rebelo*
 Escola Secundária de Vila Nova de Ourém, 2490 Vila Nova de Ourém.
 Ensino Secundário.
- VELOSO, Maria das Mercês Silva e Sousa de Matos*
 Escola Secundária Raúl Proença, 2500 Caldas da Rainha. Ensino Se-
 cundário.
- VICENTE, Joaquim Adelino Ferreira*
 Instituto Botânico, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 3049 Coimbra
 Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação; Citogenética (Ban-
 ding)—em fase de iniciação de investigação nessa linha.
- VIEIRA, Dina Manuela da Trindade Morais Masseneiro*
 Rua Nery Delgado, 6, r/c.Dto. 2775 Parede, Ensino Liceal.
- VIEIRA, Maria da Graça Calisto Laureano Santos Alves*
 Grupo de Botânica, Faculdade de Ciências, 1200 Lisboa. Ensino Uni- G.M.
 versitário. Linhas de Investigação: Mecanismos moleculares da trans-
 dução de *Bacillus subtilis* pelo bacteriófago PBS1.
- VIEIRA, Maria Helena Simões Alves*
 Escola Secundária José Falcão, 3000 Coimbra. Ensino Secundário.

- 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. En-
 sino Universitário. Linhas de Investigação: Citogenética Humana. Ester-
 rilidade masculina, do ponto de vista genético. Cardiopatias congénitas. C.G.
 G.H.
- ZILHÃO, Rita Maria Pulido Garcia*
 Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 1699 Lisboa Codex. Linhas
 de Investigação: Antibióticos. G.M.
- WARDEN, Juana*
 Departamento de Biologia Vegetal, Faculdade de Ciências, 1294 Lisboa
 Codex. Ensino Universitário. Linhas de Investigação: Endopoliploidia
 em *Bryophyllum*. Citodensitometria e problemas da embriogénese em
 Alfarrobeira (*Ceratonia siliqua*).