# Um estudo citológico do "Triticum monococcum", L.

POR

### A. DE SOUSA DA CAMARA

Professor de Institute Superior de Agronomia

			PAG
I—Introdução	 	 	32
II-Material e métodos.	 		34
III-Observações	 •••	 	43
IV—Discussão	 	 	50
Sumário	 	 7	54

## I-Introdução

Os estudos genéticos do trigo que temos efectuado neste Instituto, ao considerarem as variações cromosómicas, artificialmente provocadas no decorrer das nossas investigações sôbre «mutações induzidas», levaram-nos a procurar conhecer precisamente a cariologia dos trigos diplóides.

A investigação citológica do *Triticum monococcum, L.* mereceu já por várias ocasiões a atenção de alguns citologistas, como Sakamura (1920) e Kagawa (1927, 1928, 1929). Entre os trabalhos efectuados, os dêste último investigador mostram-se dignos de referência especial, pois a extensão das suas pesquizas e a orientação que lhes imprimiu deram indiscutivelmente, à questão da cariosistemática em geral e à do trigo em particular, elementos valiosos de estudo e análise.

Infelizmente estas investigações consideraram apenas uma forma de *T. monococcum*. Ora como há possibilidade de existirem na espécie diversas raças cariotípicas, facto tantas vezes verificado em numerosas plantas, parece que estes trabalhos devam ser seguidos de outros que apreciem particularmente êste aspecto.

Nada nos permite supor que os trigos diplóides não eviden-

ciem certa variabilidade cromosómica, embora se saiba que são reduzidas as diferenças notadas nos seus diversos fenotipos. Não podemos esquecer que Flaksberger (1925) descreveu nove variedades de *T. monococcum* e que esta espécie é nitidamente distinta da outra espécie diplóide, *Triticum aegilopóides*, tanto na forma da espiga como na conformação das glumas, nas dimensões dos grãos e até no comprimento das aristas (Percival, 1921).

Como é compreensível, esta diversidade deixa-nos na dúvida de que haja um único cariotipo representativo dêste grupo de trigos. E nesta incerteza não julgamos conveniente interpretar variações cromosómicas, ocorridas após determinados tratamentos, nem esclarecer a filogenia do trigo, como fez Kagawa (1929), pelo simples estudo comparativo dos genómios dos tetraplóides e hexaplóides com o duma única forma de *T. monococcum*. A possibilidade de existirem diferenças cromosómicas, entre as diversas variedades, não passou aliás desapercebida dêste citologista, que chegou mesmo a declarar que:
... «it may not be unreasonable in general, to expect that the chromosome contents of the different varieties may possibly be not the same even in a single species».

A averiguação destas diferenças é, porém, extremamente dificil, em virtude do trigo ser material muito desfavorável a estes estudos, com cromosomas demasiado longos, finos e flexuosos. As dificuldades da investigação aumentam ainda pela circunstância dos cromosomas se assemelharem muito quer sob o ponto de vista do comprimento quer sob o ponto de vista da posição das constrições.

Sabe-se, pelos estudos já realizados, que os cromosomas do trigo têm uma ou duas constrições, sendo uma mediana e outra sub-mediana ou sub-terminal. Algumas vezes, contudo, a tornar a investigação ainda mais delicada, em elementos que deveriam apresentar duas constrições só é visível a constrição principal.

Além da confusão a que esta circunstância pode conduzir é-se levado a suspeitar da configuração dos cromosomas pelas dificuldades de fixação que êles evidenciam. Efectivamente é natural explicar o desaparecimento de certas constrições secundárias por uma má fixação de material. E entretanto é de acreditar que êsse desaparecimento das constrições, representando elas mudanças ou variações permanentes da estrutura dos cromosomas, governadas pela própria constituíção genotípica, vem revelar exactamente a existência de diferenças de cromosomas homólogos.

Na análise dos problemas filogenéticos importa averiguar, como questão do maior interêsse, quais as diferenças fundamentais que existem nos genómios de espécies afins, e qual a diferenciação cariotípica que se verifica entre as diversas variedades da mesma espécie.

Esta diferenciação foi posta em relêvo pelo trabalho de Navashin (1926), sôbre «Crepis tectorum», que conseguiu demonstrar a ocorrência de profundas modificações dum dos cromosomas, modificações essas que tanto podem originar dois cromosomas pequenos como um único cromosoma de tipo particular, não característico da espécie. Mostrou mais Navashin que, numa outra espécie do mesmo género *Crepis*, existiam três raças, as quais diferiam apenas pelas dimensões dos satélites dum dos cromosomas.

Da mesma maneira Sveshnikova (1928) encontrou em espécies do género Vicia, pequenas diferenças em forma e até algumas vezes em número de cromosomas. Senjaninova-Korczagina (1932), ao analizar cariotipos de Vicia narbonensis, L. e Vicia serratifolia, Jacq., espécies tão afins que até muitos botânicos têm suposto a última sub-espécie e mesmo variedade da primeira (Pereira Coutinho, 1913), encontrou diferenças tão profundas que parece não manterem entre si quaisquer relações. Ainda êste autor revelou a existência de diversas raças cariotípicas dentro da Vicia narbonensis, L.

Sabe-se mais que existem raças de Secale cereale, L. diferentes sob o ponto de vista cariológico (Lewitsky, 1929), que há raças de Vicia sativa, L. igualmente distintas (Sveshnikova, 1932), que se observa enfim certa variabilidade cromosómica para determinados espécies-

Ao relatarem-se estes factos, colhe-se a impressão de que êste assunto, ainda não considerado no género *Triticum*, deve merecer dos citologistas as pesquizas necessárias pois é possível que se encontre nas suas espécies uma confirmação dos casos acima referidos.

### II-Material e métodos

### 1. Material e técnica adoptada de fixação e coloração

As variedades usadas nas nossas medições foram as seguintes:

- 1—Triticum monococcum, L., var. vulgare, Körn (da Estação Agrária Central).
- 2—Trilicum monococcum, L., var. Hornemanni, Körn (do Horto do Instituto Superior de Agronomia).

A técnica inicialmente adoptada foi a referida por Kagawa sem qualquer modificação. Promovia-se a germinação das sementes e logo que apareciam as radículas, mergulhavam-se em hidrato de cloral a 0,5 % durante uma hora. Seguidamente as sementes eram lavadas em água corrente, por igual lápso de tempo, e eram depois dispostas sôbre papel de filtro humedecido em placas Petri, que se mantinham a uma temperatura vizinha de 23° C. durante três horas. Findo êste período procedia-se à fixação das radículas no fixador de Benda (sem ácido acético). Passadas 24 horas de fixação seguia-se o método usual de deshidratação, inclusão e coloração.

De harmonia com o preconizado por Kagawa colorimos primeiramente las nossas preparações com hematoxilina. Reconhecemos contudo a breve trecho que a hematoxilina não satisfazia os nossos quesitos, pela extrema opacidade que dava à coloração. Preferimos adoptar então a técnica da coloração pela violeta de genciana, segundo o método de Newton, relatado por Lacour (1932). Efectivamente com esta coloração, em virtude da transparência que se imprime, não só lográmos melhor desenho dos contornos como até interpretámos mais fàcilmente os cromosomas enrolados ou sobrepostos. Não vemos vantagem, antes pelo contrário só vemos inconveniente, em usar para trabalhos dêste género, corantes que dêem dureza ou opacidade. As colorações opacas poderão talvez permitir de princípio um desenho mais fácil, para os cromosomas isolados e pouco enrolados. Mas nos casos correntes, de cromosomas dobrados e sobrepostos, as vantagens dêsse contôrno bem vincado, obtido à custa da coloração opaça transformam-se em inconvenientes de certa gravidade.

O tratamento prévio das radículas pelo hidrato de cloral facilita enormemente o trabalho. Estamos mesmo em crer que em muitos casos não se pode executar de outro modo o estudo dos cromosomas somáticos do trigo. Poderá contudo supor-se que a contracção violenta experimentada pelos cromosomas (vidé fig. 1 e 2), como consequência do tratamento, atraíçoe de qualquer maneira os resultados.

Realmente a acção do hidrato de cloral é por vezes tão enérgica que os cromosomas parecem cortados, tal é a maneira como ficam marcadas as constrições. Dêste modo afigura-se-nos indispensável em cariometria, confirmar os resultados obtidos em cromosomas tratados com os de outros fixados por qualquer processo corrente.

Nesta conformidade tentámos fixações variadas, nomeadamente os fixadores de Lacour, 2BE, 2BD e 2B, o Flemming e o fixador de

formol e ácido crómico proposto por Lewitsky. Êste último, o conhecido fixador de condriosomas (Lewitsky, 1931) foi ensaiado nas proporções de 5:5—isto é, em iguais proporções dos dois componentes

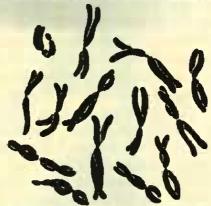


FIG. 1

T. monococcum, L. var vulgare, Körn
(célula n.º 1 — vidé tabela II)

(ácido crómico a 1 % e formol a 10 %) — de 4:6 e 6:4. Os resultados mais satisfatórios foram obtidos com esta última proporção. Pois comparando determinados tipos de cromosomas, mais fàcilmente reconhecíveis chegámos à conclusão de que o tratamento pelo hidrato de

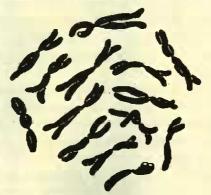


FIG. 2

T. monococcum, L var vulgare Körn
(célula n.º 2 — vidé tabela II)

cloral, embora origine vincamento profundo das constrições e um simultâneo engrossamento e encurtamento de cromatideos, não afecta de modo algum as proporções relativas dos braços de cromosomas. Procurámos levar êste estudo a outro material em que não pudesse haver dúvidas na comparação de um determinado tipo de cromosomas. Escolhemos por essa razão a Vicia Faba, L. que é manifestamente vantajosa, visto apresentar como se sabe, entre os seus cromosomas, um claramente diferenciado com duas constrições. Sendo extremamente fácil identificar êsse tipo de cromosoma a comparação que pretendíamos estabelecer entre cromosomas tratados e não tratados não poderia ser atraiçoada por uma identificação duvidosa.

Verificámos assim, na Vicia Faba que o tratamento pelo hidrato de cloral não prejudica de maneira alguma as observações. Dá-se de facto um encurtamento. Mas mantêm-se as proporções relativas dos braços dos cromosomas.

### 2. Método de medição

Com a manifestação da morfologia cromosómica, posta em evidência pela escola russa, desde Navashin até Lewitsky, e pela escola nipónica representada por Sakamura e Kagawa, procurou-se uma determinação tão exacta quanto possível dos caracteres quantitativos dos cromosomas. Assim nasceu uma técnica apropriada de medição de cromosomas, que foi sofrendo sucessivos aperfeiçoamentos, e que hoje, a-pesar-de certos grosseirismos, difíceis de evitar, representa já um auxiliar importantissimo, tanto para fins sistemáticos como para análises genéticas.

Sem dúvida esta técnica necessita ainda certas modificações. Algumas mesmo só poderão ser introduzidas quando os microscópios sofrerem alguns aperfeiçoamentos. Entretanto, emquanto tardam êsses melhoramentos, o investigador cuidadoso socorrendo-se da técnica estabelecida, ou introduzindo-lhe pequenas modificações que mais se compadeçam com a sua maneira pessoal de observação e crítica, pode realizar já trabalhos de notável precisão. Esta técnica, que nós chamamos «cariometria», irá merecer-nos seguidamente algumas referências.

Em numerosos casos basta uma classificação de cromosomas como a preconizada por Heitz (1926) e modificada por Fernandes (1931), para se obter uma notação aproximada do genómio considerado. Também as designações correntemente adoptadas de cromosomas isósceles ou fieterósceles (Darlington, 1926) ou mesmo de isobraquiais ou fieterobraquiais (Lewitsky, 1931) podem ser suficientes para

estabelecer determinados tipos de cromosomas mais salientes, de diferenças morfológicas mais profundas.

Para um trabalho, porém, da índole do nosso, de apreciação de cromosomas muito afins, não se pode limitar a sua descrição às designações apontadas. É necessário ir mais longe, introduzir na descrição caracteres quantitativos dos cariotipos estudados, a-fim-de lograr tão exacta quanto possível, a sua descrição morfológica. Para isso é indispensável «medir cromosomas».

Êste trabalho oferece, como é compreensível, grandes dificuldades. A maior parte dos cromosomas não está disposta num plano paralelo à platina do microscópico, pelo que se torna necessário corrigir os desenhos que se obtenham. Se a platina estiver horizontal, estes desenhos serão evidentemente projecções horizontais dos cromosomas inclinados, formando com o plano horizontal ângulos muito diversos.

Embora haja quem suponha inútil esta correcção (De Mole, 1921, Delaunay, 1926), e quem preconize restringir a medição aos cromosomas que assentam em planos horizontais, somos forçados, pela nossa prática, a concluir que é indispensável corrigir sempre os resultados obtidos, visto que os comprimentos de cromosomas idênticos, aparentemente assentes num plano horizontal, variam sempre dentro de certos limites. Por esta razão temos como certo que é indispensável determinar um método que dê, com o maior rigor possível, as dimensões dos diversos cromosomas de uma célula e defina as posições relativas das suas constrições.

O método adequado de estudo consiste claramente em medir as projecções verticais dos cromosomas, guiando-nos pelas indicações do parafuso micrométrico. Os métodos de Gelei (1921) e o de Kagawa (1927) inspiraram-se exactamente nêste princípio.

Vários investigadores seguiram depois estas directrizes. Hasegawa por exemplo aplicou a técnica de Kagawa ao estudo do «Diosporum» e apresentou dela uma breve descrição (1932).

Lewitsky (1931), passando em revista os métodos de cariometria, propôs um sistema de medição, que sendo bastante semelhante ao método de Kagawa, é no entanto mais simples e possívelmente mais rigoroso.

Em todos os casos, desde que o objectivo é medir cromosomas, e portanto corrigir os comprimentos dados pelo desenho rigoroso, obtido à câmara clara, torna-se necessário registar primeiro as indicações fornecidas pelo parafuso micrométrico nos sucessivos pontos de focagem. É indispensável então que, à medida que se vai procedendo

à focagem dum cromosoma, observando através da câmara clara, se dê a coincidência perfeita entre o contôrno do desenho e o da respectiva imagem vista ao microscópio. Ao rodar-se o parafuso micrométrico, a extensão nitidamente visível do cromosoma irá sofrendo uma deslocação gradual. Deverá parar-se êsse movimento de rotação quando um determinado ponto do cromosoma se observa com a maior nitidez. Nessa ocasião é que se registará, sôbre o desenho, para a posição correspondente, a cifra dada pelo referido parafuso micrométrico. Seguidamente repetir-se-á o mesmo processo para todos os pontos necessários, ou sejam todos os pontos que tenham interêsse na caracterização dum cromosoma ou na determinação das suas curvaturas.

E evidente que o número de pontos de observação é variável consoante o cromosoma que se considera e as inclinações que o mesmo apresenta. Como é intuitivo quanto mais encurvado ou inclinado for tanto maior deve ser êsse número de leituras.

Resta agora averiguar porque ponto se deve iniciar a «Cotagem»—ou seja todo êste trabalho de observação e registo que ora deixámos esboçado duma maneira preliminar.

Lewitsky é de opinião que o sistema de Kagawa ao iniciar a focagem pelo ponto extremo do cromosoma em observação, só lendo as divisões do parafuso micrométrico quando se observa o desaparecimento da imagem, não pode satisfazer mesmo com as correcções propostas pelo seu autor. Efectivamente, quando se atinge, na focagem dêsse extremo, a «cota de esbatimento»—designação que propomos para o «vanished point»—êle já está para além do limite do cromosoma. O cálculo das correcções, então, necessárias é bastante demorado e, pior do que isso, de exactidão muito discutível. Lewitsky, em lugar de iniciar a cotagem pelo ponto de «esbatimento» referido, começa-a pelo ponto de aparição superior do cromosoma, quando êste se revela bem visível de contornos nitidamente marcados.

Este mesmo investigador refere-se a outro facto que Kagawa não notou e que tem necessàriamente importância. É que dada a espessura dos cromosomas, por vezes considerável, é necessário notar cuidadosamente a definição do ponto extremo dos cromosomas inclinados. Ainda o mesmo autor chama a atenção para a maneira como devem ser medidos os cromosomas, de modo a compensar-se o êrro resultante da sua torsão. Segundo êle deverá proceder-se à medição isolada de um cromatideo e nunca à medição segundo o eixo longitudinal, como preconizou Kagawa, a qual há-de fatalmente originar erros de certa magnitude.

A nossa experiência aconselha igualmente a medir um único cromatídeo. Só em certos casos, quando o material é tratado com hidrato de cloral, se pode seguir sem risco o eixo longitudinal do cromosoma. É o que acontece, por exemplo, com o *Triticum monococcum* tratado, no qual se encontram algumas vezes, cromosomas perfeitamente rectilíneos, assentes sensivelmente num mesmo plano. Nestes casos (vidé fig. cromosoma H, da Est. II) é evidente que se poderá adoptar a medição segundo o referido eixo, sem que isso conduza a qualquer êrro.

No nosso trabalho, reconhecemos a vantagem de proceder à determinação das alturas dos diversos pontos do cromosoma ao plano de projecção, seguindo focagens nos dois sentidos.

Os números de leituras do parafuso micrométrico, correspondentes aos pontos de observação podem ser bastante variáveis. Casos há em que umas cinco leituras são perfeitamente suficientes: os desvios verificados são tão diminutos que se podem dedicar às médias assim obtidas tôda a confiança. Há outros casos porém mais intrincados de cromosomas encurvados e torcidos, em que são necessárias muitas mais leituras, por vezes, em número superior a dez. De tôda a maneira sempre que se repete uma cotagem é indispensável levantar o tubo do microscópio e dar uma ligeira rotação ao parafuso micrométrico.

O microscópio com que trabalhámos, um «Zeiss» do modêlo recente, com parafuso micrométrico comandando a platina, presta-se perfeitamente a êste género de trabalhos. A nossa tarefa simplificou-se assim muito e talvez o uso dêsse microscópio nos permitisse dar às medições um maior rigor. Podemos, felizmente, estabelecer confronto entre estes resultados e os obtidos com um microscópio «Zeiss» do modêlo anterior, visto que inicialmente trabalhámos com um microscópio dêste tipo. As diferenças notadas parecem demonstrar que a questão do microscópio utilizado é da maior importância em cariometria.

Lewitsky a êste propósilo referindo-se ao modêlo anterior do «Zeiss» utilizado por Kagawa, idêntico àquele com que iniciámos o nosso estudo, põe alguma dúvida sôbre as medições que dêle se podem obter; e a êste respeito cita o que a própria casa «Zeiss» diz no seu catálogo de 1924, mikro 400. Ainda na edição de 1927 do mesmo catálogo, 30, mikro 400, a pág. 12, a mesma firma confessa que as in-

dicações do parafuso micrométrico não constituem indicações exactas de medida. As próprias palavras de que ela se serve são as seguintes: «Étant transmis par levier, le mouvement n'est cependant pas un veritable dispositif de mesure, car le déplacement du tube n'est pas le même dans tous les points du mouvement».

O moderno microscópio «Zeiss», com que fizemos tôdas as medições referidas no presente trabalho, com divisões do parafuso micrométrico correspondentes a 1  $\mu$  vem satisfazer algumas das exigências dos investigadores. A sensibilidade é maior, as medidas mais exactas e o trabalho do observador mais fácil, por se poderem tomar maior número de pontos de leitura. Pena é que ainda não venha equipado dum nónio, o que daria indiscutivelmente muito mais rigor às leituras.

Uma das condições essenciais a respeitar, para se obter a maior exactidão possível no desenho dos cromosomas, é escolher uma boa placa de metafase em que todos os elementos apareçam nitidamente diferenciados e em que o maior número se apresente num plano sensivelmente horizontal, ou em posições de fácil projecção.

Na nossa prática, costumámos desenhar com o tubo do microscópio elevado à altura de 160 mm. com ocular de 30 e com objectiva de imersão apocromática de 90. Ainda algumas vezes utilizámos objectivas de 100 e 120. Em qualquer dos casos, porém, procurou-se sempre obter uma ampliação que facilitasse não só a interpretação dos cromosomas como até a medição ulterior do desenho.

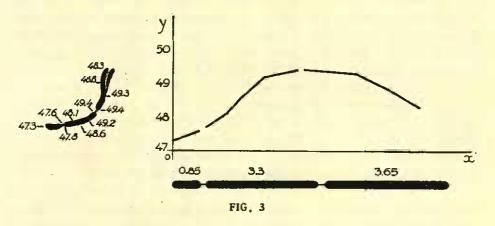
Logo que obtinhamos o desenho completo, de todos os cromosomas duma placa, procediamos à sua cotagem. Preferimos quási sempre operar dêste modo, porque, na nossa experiência, ficámos com a impressão de que seria assim possível evitar alguns erros resultantes de diferenças de iluminação. Cremos que há tôda a vantagem em executar sem interrupções êste trabalho de projecção, visto que êle é muito delicado e extremamente susceptível a erros de observação. Parece-nos assim natural que, quanto mais tempo decorrer entre cotagens sucessivas, tanto maiores devem ser os desvios verificados.

Não deixamos de reconhecer, contudo, que o preconizado por Lewitsky, de cotar cromosomas por grupos de quatro ou cinco, logo a seguir ao seu desenho, ofereça algumas facilidades. E por essa razão seguimos algumas vezes êsse método, sobretudo quando tínhamos especial interêsse em interpretar determinados cromosomas. Com êste

sistema verificámos porém alguns desvios excessivos, resultantes dos numerosos factores que influem na observação. Por esta circunstância julgamos mais aconselhável observar tôda uma placa, sem quaisquer interrupções.

Obtidos êsses pontos de leitura, registadas as indicações do parafuso micrométrico, procedia-se depois às medições dos sucessivos troços do cromosoma que teriam de ser projectados. Fazíamos as medições utilizando quási sempre um compasso de multiplicação. Quando o seu uso se tornava pouco rigoroso, dadas as curvaturas do cromosoma ou mesmo a ampliação utilizada, preferiamos utilizar uma escala milimétrica corrente.

Em seguida traçavam-se em papel milimétrico (fig. 3) dois eixos coordenados. Inscreviam-se em abcissas as medidas ampliadas, retiradas do desenho do cromosoma, as quais como se compreende não são mais do que as projecções horizontais na escala adoptada;



e marcavam-se depois em ordenadas as cotas respectivas, deduzidas das leituras do parafuso micrométrico, as quais traduzem claramente as alturas a que ficavam os diversos pontos de observação do plano horizontal.

Evidentemente, unindo-se os extremos dessas ordenadas obtinha-se uma linha representativa do comprimento real do cromosoma considerado.

Para dar maior facilidade à interpretação das medidas do cromosa, Kagawa (1927, 1929) preconizava a ampliação dos desenhos efectuados, à custa dum pantógrafo. Nas nossas tentativas, para a obtenção duma boa técnica de projecção, seguimos à letra as indicações dêste investigador, e por isso a comêço fazíamos conscienciosamente a ampliação de todos os cromosomas por meio dum bom pantógrafo. É certo que em alguns casos de desenho claro, dum cromosoma direito, quási assente num plano, sem torsões nem curvaturas, a projecção dos desenhos ampliados é realmente favorável. Em outros casos, pelo contrário, quando os cromosomas se mostram enrolados, com curvaturas pronunciadas, a ampliação do desenho conduz fàcilmente a erros freqüentes. Nestas circunstâncias preferimos adoptar algumas vezes a fotografia, com a ampliação que se julgava mais conveniente. Dêste modo o êrro de interpretação só poderia derivar da maneira como inicialmente havia sido executado o desenho.

Na figura 3 do texto pode compreender-se perfeitamente o sistema que nós adoptámos na projecção de cromosomas. À esquerda vê-se o cromosoma depois de ser devidamente cotado, e à direita sôbre o papel milimétrico o traçado do comprimento real do mesmo cromosoma. As cotas que se vêem no cromosoma derivam de médias deduzidas de 5 visadas segundo a técnica atrás descrita.

### III-Observações

Passamos agora a apresentar os resultados obtidos nas nossas medições. E vamos primeiro considerar os cromosomas do *T. mono-coccum, L.,* var. *vulgare,* Körn.

Antes, porém, a título de curiosidade queremos indicar as cifras alcançadas por Kagawa (1929) para uma variedade de T. monococcum. Pena é que não saibamos qual fôsse essa variedade, visto que êste autor a mencionou apenas pelo seu nome cultural U. A. C. (Utsunomiya Agricultural College) n.º 1. Mesmo assim, estes números têm para nós grande interêsse, pois permitem estabelecer possível confronto com os fornecidos pela nossa investigação. E exactamente, para tornar comparáveis, com os nossos, os resultados daquele citologista, apresentaremos os seus dados na escala em que trabalhámos (1 cm. = 1  $\mu$ ) e que consideramos mais apropriada (3), permitindo uma mais fácil compreensão das dimensões reais dos cromosomas.

<sup>(1)</sup> Kagawa utilizou a escala de 1:2.4 4.

TABELA I

# Medições dos cromosomas somáticos do Triticum monococcum

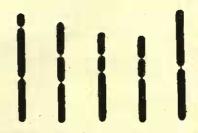
(Determinações de Kagawa)

9				2		11		IV	>	Λ		Λ	VI	Λ	VII
		<b>V</b> :11	m	٥	, A	ы.	iz,	, Đ	H	_	1	×	-1	E	z
	٦	7.99	7.879	7.8	7.704	7.68	7.440	6.864	6.672	6.024	5.928	5.832	5.808	5.808	5.784
-	_	3.264	9.240	3.24	3.940	3.312	3.240	3,116	9.664	2.352	2,328	1.200	1.176	96.0	1.159
	Σ.,	7.008	1	6.888	1	1	ı	4.416	4.198	ı	_1	9.736	2.520	2,168	2.136
o		7,759	7.68	7.488	7.344	7.39	7.296	6.79	6.552	6.048	00.9	5.808	5.568	5.448	5.448
N	٥	3.048	3.528	3.024	3.576	3.072	3.60	2,568	2.712	2.280	1.248	2.592	1.056	1.296	1.224
		T	1	6.744	1	6.60	1	4.279	4.392	1	2.280	1	1,992	64	2.64
Į.	ب	7.032	96.9	6.840	6.744	6.456	6.192	6.048	5.952	5,304	5.280	5.230	5.232	5.064	4.944
,	Q	2.880	2.88	3.12	3.12	2.76	2.808	2.568	2,424	2.692	1,039	1.20	0.912	2.28	0.96
		1	6.360	ı	1	1	1	4.056	3.936	1	2,040	2.328	1.80	ı	2.04
_	_	6.240	00.9	5.952	5.952	5.64	5.448	5.932	5.184	4.992	4.944	4.92	4.848	4.66	3.4
r	0	2.544	2.359	2.5	5.64	2,592	2.232	2.04	2.088	9.580	2,484	1.896	0.912	1.92	1,032
	٠,	1	5.400	5.352	1	1	ı	3.439	3,336	ı	1	1	1.752	1	2.16
4	د	6.648	6,408	6.240	6.192	6.144	00.9	5.54	5,139	4.896	4.854	4.800	4.68	4.639	4.612
,	0	3.0	2.64	9.40	2.88	3,496	1.944	9.398	1.992	2.280	0.912	1.008	2.088	90.3	2.16
	ia	1	ľ	1	5.76	1	I	3.6	3,432	1	1.776	1.968	1	2.16	1
y	د	6.456	6.336	6,168	6.19	2.048	6.00	5.76	5.590	5.980	5.232	5.232	4.992	4.896	4 68
>	0	Q.	2.880	2.880	2.52	4.2	2.64	9.256	2.112	1.872	2.112	1.896	1.990	1.08	1.032
		1	1	1	5.479	5,448	1	3.79	ĺ	ı	I	1	1	2.16	2.184
		-										4			

A Tabela I refere os resultados daquele investigador, referidos a seis células diferentes. Em cada uma das colunas, o primeiro número, respeitante a cada célula, representa o comprimento total do cromosoma considerado, o segundo e terceiro números definem a posição das constrições.

Por estes resultados Kagawa pôde estabelecer cinco tipos distintos de cromosomas (fig. 4).

No nosso estudo do T. monococcum vulgare encontrámos de



Tipos de cromosomas do «T. monococcum» (Segundo a representação esquemática de Kagawa)

facto estes mesmos tipos. No entanto, por haver dificuldades apreciáveis na identificação dos cromosomas 1 e 5, 3 e 4, dada a sua grande semelhança, correndo-se assim risco de tirar más interpretações, entendemos preferível, para as exigências da nossa comparação, determinar apenas as dimensões dos cromosomas e as posições das suas constrições primárias.

Demais, verificando-se pelas cifras de Kagawa, que as constrições secundárias nem sempre puderam ser observadas, a comparação de cromosomas com constrições duplas tornar-se-ia assim um pouco confusa.

Os nossos resultados da medição dos cromosomas do *T. mo-nococcum L., vulgare, Kōrn,* referido a 10 células diferentes, que foram tantas quanto nós estudámos, são apresentadas na Tabela II.

Pela observação destas cifras, verifica-se que estes nossos resultados se aproximaram dos de Kagawa.

TABELA II

Medições dos cromosomas somáticos do Triticum monococcum, var. vulgare

0			=			Ш	ΛI	>		>	la		Α	VII
Column I	V	В	υ	Q	E)	(au	G	x	1	7	×	-1	E	×
	7.5	7.4	7.0	6.7	9.9	6.6	6.5	6.4	6.9	5.8	5.8	5.7	3.6	5,45
•	3.85	5.4	3.4	3.25	2.5	9.6	0.0	3.0	2.75	6.5	2.6	2.75	5.0	80
C	7.8	7.6	7.4	7.3	7.9	7.0	6.8	6.8	6.4	6.25	6.1	6.05	5.8	5.6
12	3.8	3,6	3.5	3.45	3.5	3.5	3.0	9.85	3.0	8.0	8.8	6.6	00	2 7
N	7.0	6.85	6.7	6.5	6.45	6.4	6.9	6.0	5.8	5.65	5.4	5.4	5.9	5.1
,	50	3,15	3.15	3.0	2.95	8.0	2.8	2,65	20.5	2.35	67.63	2.15	5.0	1.0
4	7.4	7.2	7.1	6.9	6.85	9.9	6.45	6.3	6.3	6.0	5.75	5.7	5.4	5.5
•	3.25	3.0	5.1	6.6	2.95	2.7	2.75	2.7	9.6	4.6	2.35	67.63	2.5	2.1
v	7.6	7.4	7.3	7.25	6.9	8.9	6,75	9.9	6.4	6.3	5.95	5.95	5.8	5.7
,	3.4	13 13	3.1	3.15	3.1	0.0	8.8	2.85	2.7	9.6	2.45	10	6.3	2.95
v	7.1	7.05	6.8	6.7	6.65	9.9	6.5	6.3	6.2	6.0	5.9	5.5	5.3	5.0
,	3,15	3.2	3.0	3.15	3.0	2.7	10	2.65	9.6	2,45	4.6	4.6	6.3	2.0
7	7.9	7 7	7.65	7.6	7.6	7.35	6.9	6.8	6.65	6.35	5.9	5.7	5.7	5.5
	4.5	3.45	3.25	3.7	3.15	6.6	2,95	6.6	10.00	2.65	5.6	2.5	6.3	2,85
or;	6.9	6.75	6.5	6.4	6.15	6,0	0.9	5.85	5.8	5.6	5.4	5.25	4.95	4.8
)	3.0	00	2.75	9.0	2.5	2.35	50	2.95	2.35	2.40	2.3	4.2	9.25	9.10
0	7.3	7 15	7.05	6.9	2.2	6.4	6.25	6.2	6.2	5.9	5.65	5.4	5.0	4.9
	5	3.95	3.15	3.0	6.0	9	2.65	4	2.4	9.25	2.35	6,0	2 2	9.6
10	7.7	7.4	7.1	7.0	6.8	6.65	6.4	6.15	6.0	5.95	5.75	in in	5.3	5,15
	3.3	3.2	3.5	3.15	2.7	9.5	2.85	2.9	2.65	4.0	9.6	4.9	00	2.55
	7.49	7.25	7.060	6,995	6.690	6.640	6.475	6.340	6.195	5.980	5.760	5.615	5.415	5.250
Médias	3.815	3.235	3.155	3,085	2.895	2.725	9.750	2.715	2 625	2.480	2.665	2.420	2.615	2.475
	7.335	3.975	6.9925	3.12	6.665	2.91	6.4025:	9,7325	6.0875	2,5525	5.6875:	9.5495	5.3395	2.545

As médias que encontrámos, para os cromosomas do *T. mono-coccum*, var. vulgare, Körn, deduzidas das medições, de cada par de cromosomas, em 10 núcleos diversos, foram os seguintes:

	Comprimento em µ	Posição da constrição principal
rest r	7.335	3.275
II .	6,993	3.19
	6,665	2.91
17	6,403	2.733
V	6.088	2.553
VI	5,688	2.543
VII	5,333	2,545

Pela observação destas cifras, verifica-se que estes nossos resultados, embora se aproximem dos de Kagawa, mostram certos desvios. Nem poderia deixar de ser, visto que utilizámos uma técnica diversa, microscópio de outro tipo, e até possívelmente forma diferente de *T. monococcum*.

Vejamos agora os resultados da medição dos cromosomas do T. monococcum, L. var. Hornemanni, Körn, que estão representados na Tabela III.

TABELA III

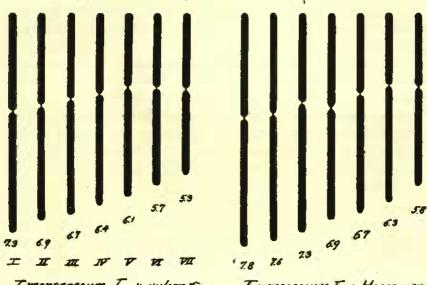
Medições dos cromosomas somáticos do Triticum monococcum, var. Hornemannii

	1	7.7	
10.10	24.8 25.4 4 4 6 2 5 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6	3.6 6.9 6.9 6.85 7.6 7.65 7.45 7.55 7.45 7.55 7.45 7.6 7.6 7.6 7.6 7.6 7.6 7.6 7.6 7.6 7.6	24.8.0.1.8.0.0.0.0.0.0.0.0.0.0.0.0.0.0.0.0

As médias das medições dos cromosomas do T. monococcum Hornemanni foram:

7.858	7.783
$c_1 = 3.591$	3.55
7.658	7.616
$c_1 = 3.475$	$c_1 = 3.408$
$c_2 = 5.716$	$c_1 = 5.683$
7.350	7.250
$c_1 = 3.008$	$c_1 = 2.916$
6.758	6.658
$c_1 = 2.716$	$c_1 = 2.625$
$c_2 = 5.925$	$c_1 = 5.8$
	6.983
	$c_1 = 3.125$
	$c_1 = 5.333$
	6.300
	$c_1 = 2.4$
	$c_2 = 3.95$
	5.742
$c_1 = 2.550$	$c_1 = 2.533$
	$c_1 = 3.591$ $7.658$ $c_1 = 3.475$ $c_2 = 5.716$ $7.350$ $c_1 = 3.008$ $6.758$

Comprimentos médios dos cromosomas



T. monococcum, I. v. vulgore, time

T. monococcum, I. v. Hornemanni , Kirn.

FIG. 5

A medição dos cromosomas da variedade Hornemanni deu-nos alguns resultados curiosos.

Foram observadas seis placas de metafase—favoráveis ao desenho—de células sensivelmente dispostas à mesma distância do vértice radicular. Em tôdas elas se encontraram as características que seguidamente se expõem.

Em primeiro lugar, comparando os cromosomas da var. Hornemanni com os da var. vulgare, verifica-se uma certa analogía na localização da constrição principal (vidé fig. 5 do texto).

Depois observam-se certas diferenças que merecem a atenção. A diversidade mais saliente—considerados em bloco ambos os ideogramas—é a que provém do maior comprimento dos cromosomas do *Hornemanni*. Mas a seguir apresenta-se outra diferença interessante entre determinados tipos de cromosomas—IV e V.

As nossas figuras das Est. II, III e IV indicam perfeitamente, se compararmos esses ideogramas com o da fig. 1 (extr. de Kagawa), os tipos novos de cromosomas que ainda não haviam sido descritos para o *I. monococcum*.

### IV-Discussão

As características atrás referidas mostram claramente que a linha da var. Hornemanni, que tivemos ensejo de observar, é uma raça cariológica distinta da var. vulgare.

O facto mencionado, dos cromosomas daquela variedade apresentarem maior comprimento que os desta, a-pesar-de não constituir a diversidade mais saliente, pode ter significado de interêsse.

Embora encontrássemos na var. vulgare algumas células, em que os cromosomas eram particularmente alongados, cremos que mesmo assim aquela característica deve continuar a ser ponderada. Efectivamente na var. vulgare só por excepção é que se puderam observar placas de metafase com os tais cromosomas anormalmente extensos—de extensão vizinha aos da var. Hornemanni. Ora é de admitir, conforme lembrou Kuwada (1927) que as reacções do meio intra-celular possam ser alteradas. Esta circunstância poderia ser assim razão bastante para modificar por vezes o comprimento dos cromosomas.

Demais, é conveniente notar que as diferenças nas dimensões dos cromosomas, mesmo pequenas, caracterizam freqüentemente não só espécies, como sucede nos géneros *Crepis* (Babcock e Hollingshead,

1930), Escholtzia (Winge, 1925), Tradescantia (Darlington, 1929), mas até variedades como se verifica no Trifolium repens (Wexelsen, 1928) e na Beta vulgaris (Kusmina, 1927).

Importa ainda lembrar que Senjaninova-Korczagina (1932) mostrou que nos Aegilops se verifica um processo de encurtamento de cromosomas e que êste deve ser considerado, em seu critério, como parcialmente responsável pela evolução do género.

Mas como dissemos, àparte essa diferença de dimensões, cujo significado ainda poderá parecer discutível, encontrámos outra respeitante à localização das constrições, nos cromosomas IV e V, a qual atesta, agora indiscutivelmente, a existência duma diversidade cariotípica dentro da espécie *Triticum monococcum*.

Torna-se curioso referir que em nenhuma das placas de metafase que estudámos no *T. monococcum, var. vulgare* encontrámos tipos semelhantes dos cromosomas em discussão. Só no estudo de Kagawa notámos uma referência que à primeira vista poderá ser tomada como respeitante ao primeiro tipo de cromosoma apontado—o IV.

Essa referência só aparece para uma célula, entre as seis que aquele autor estudou, e diz respeito não ao IV mas ao VI cromosoma, com 5,8  $\mu$  de comprimento, e com as constrições localizadas a 1,2 e 2,6  $\mu$ , aproximadamente. No nosso caso, os cromosomas do IV par tinham 7  $\mu$  de comprimento e as suas constrições estavam dispostas a cêrca de 1,5 e 3,9  $\mu$ .

Não cremos possível uma má interpretação dêste tipo de cromosomas, visto que o seu comprimento, não obstante participar do alongamento geral verificado, o coloca por ordem decrescente de extensões em 4.º lugar, e não em 6.º Quer dizer que se tomássemos o IV cromosoma duma raça da var. Hornemanni—sempre observado em tôdas as placas examinadas—correspondente ao VI de outra variedade—só observado uma vez—teríamos de aceitar profundas modificações em todos os elementos do ideograma.

Quanto ao V par de cromosomas não vemos qualquer semelhança com os anteriormente descritos.

Com o ser limitado o âmbito dêste nosso trabalho à investigação cariológica de trigos diploides, não nos preocupa presentemente a discussão da filogenia do gen. *Triticum*. Mesmo em nosso critério, emquanto forem imprecisos os conhecimentos adquiridos sôbre aquele material pouco proveitosas poderão ser as tentativas de resolução de tal problema.

A idea dominante, entre os triticistas, da origem alopoliploide do trigo exige naturalmente a verificação de que entre os cromosomas dos trigos tetraploides e hoxaploides aparecem tipos de cromosomas que se não observam nos trigos diploides ou melhor, nas diferentes raças cariotípicas do *Triticum monococcum*. Parece portanto indispensável ter um conhecimento seguro da variabilidade cariotípica desta espécie.

Viu-se que os cromosomas do T. monococcum são sensivelmente «isobraquiais», usando da terminologia de Lewitsky. Ora a êste propósito, é interessante referir que os estudos comparativos de morfologia de cromosomas, efectuados em grupos relacionados, mostraram (Lewitsky, 1931) que os tipos mais primitivos, mais vizinhos das formas iniciais, apresentam cromosomas isobraquiais, e que os tipos derivados é que mostram cromosomas feterobraquiais ou mesmo cafalobraquiais.

Sucede, porém, no trigo, que tanto nas espécies tetraploides como nas hexaploides, os cromosomas mantêm o tipo «sensivelmente isobraquial». Por outro lado, o *T. monococcum* apresenta, como vimos, constrições secundárias sub-terminais e sub-medianas. Quer dizer que aceitando o modo de ver de Lewitsky, esta espécie poderia representar já um têrmo avançado da evolução.

O estudo da origem dos Irigos cultivados tem andado quási sempre ligado ao estudo do género Aegilops. São de facto numerosos os triticistas que têm atribuído ao Aegilops um papel importante na filogenia do trigo. E realmente, tanto a distribuição geográfica de trigos e aegilops, como os resultados das investigações citogenéticas, parecem demonstrar a verdade dessa concepção.

Podemos entretanto lembrar que o número de cruzamentos bem sucedidos, entre indivíduos dum e doutro género, é extremamente baixo e que a descendência é por via de regra estéril. Tschermak (1926) obteve um híbrido intergenérico com formas férteis—o «Aegilo-tricum»; mas èste híbrido tem 56 cromosomas, isto é um número duplo do dos genitores. Éste facto parece mostrar, como crê Senjaninova-Korczagina (1932), a profunda heterogeneidade das séries de cromosomas dos indivíduos dos géneros Aegilops e Triticum.

Afigura-se-nos ainda digna de nota a circunstância de ser aparentemente diferente o comportamento dos cromosomas, perante o hidrato de cloral, no aclaramento das constrições, nos dois géneros. Emquanto nas espécies do género *Triticum* se verifica sempre um constrangimento, tornando-se bem visíveis as constrições, no *Aegilops* os efeitos do tratamento são, por via de regra, bastante menores. Neste último género podem estudar-se com relativa facilidade os cromosomas com uma simples fixação; no trigo, pelo contrário, êsse estudo, sem o tratamento prévio referido é extremamente difícil. Cremos que êste facto poderá também testemunhar a diversidade existente entre cromosomas de trigo e de aegilops.

Esta diferença de comportamento, sob acção dum constritor cromosómico, como o hidrato de cloral, deveria proporcionar uma demonstração interessante do processo de alopoliploidismo. Assim, se na formação dos trigos hexaploides tivesse intervido o Aegilops, como julga Percival (1921), entre os cromosomas do vulgare, compactum, spelta figurariam uns fâcilmente fixáveis—os que proviessem do Aegilops—e outros mais dificilmente—os que resultassem do trigo—em que as constrições só seriam observadas com clareza após o tratamento pelo hidrato de cloral.

Ora o que é verdade, é que tanto quanto temos podido observar, nos nossos estudos sôbre a cariología dos hexaploides, os seus cromosomas respondem todos duma maneira similar a êsse constrangimento.

Como já acentuámos não nos interessa de momento a análise da evolução do trigo. Se a ela fizemos estas breves, sumaríssimas referências, foi apenas com o desejo de apontar a indispensabilidade de desenvolver o estudo cariológico profundo, tanto dos trigos diploides, —que constituiu o tema dêste nosso trabalho—como dos tetraploides e hexaploides.

Efectivamente, afigura-se-nos que, emquanto se não dispuser, no género *Triticum*, de elementos de estudo, semelhantes aos que se conhecem no género *Aegilops*, fornecidos pelas investigações de Senjaninova-Korczagina (1932), pelos quais se pode estabelecer já a génese dos diferentes grupos, secções e espécies, a filogenia do trigo há-de ser sempre obscura, envolta em extrema complexidade.

# SUMÁRIO

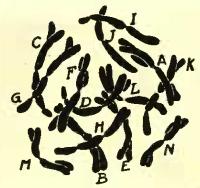
- 1. Foram medidos, segundo uma técnica «cariométrica» apropriada, os cromosomas somáticos das variedades vulgare, Körn e Hornemanni, Körn, do Triticum monococcum, L.
- 2. Na var. vulgare encontrou-se um ideograma bastante semelhante ao descrito por Kagawa no seu estudo sôbre T. monococcum (1929).
- 3. Numa linha pura da var. Hornemanni observaram-se porém diferenças cariológicas sensíveis: um alongamento pronunciado dos cromosomas e uma localização diversa das constrições nos IV e V pares.

### AGRADECIMENTO

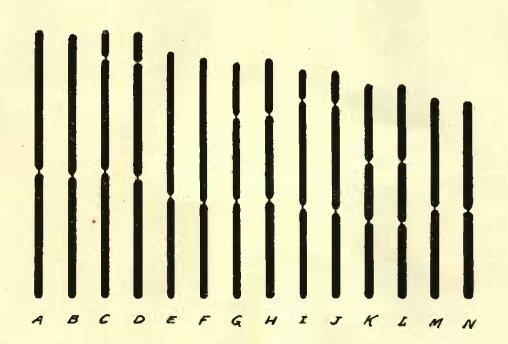
O autor agradece à Divisão de Ensaios de Sementes e Melhoramentos de Plantas, da Estação Agrária Central, as facilidades de tôda a ordem que sempre lhe dispensou.

Agradece ainda penhorado ao Prof. Ruy Mayer as traduções de textos russos, que teve a gentileza de lhe fazer.

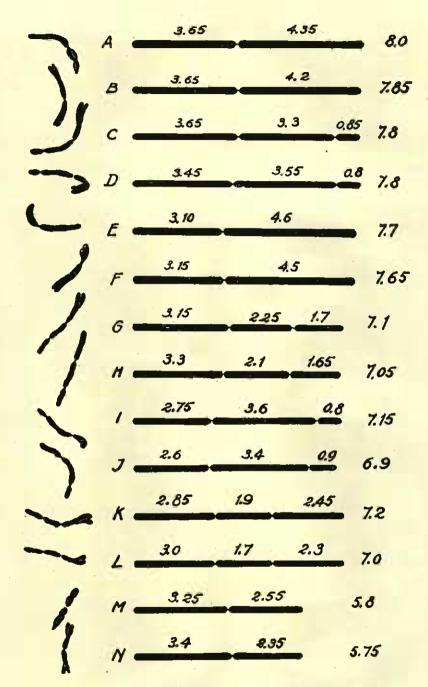
E finalmente manifesta o seu reconhecimento ao Prof. João de Vasconcelos pelo auxílio que lhe prestou em todo o decurso dêste Irabalho.



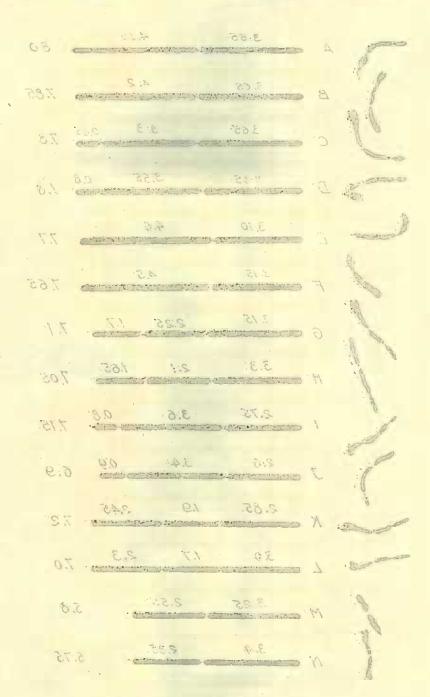
T. monococcum, L. var Hornemanni, Körn (Célula n.º 3 — vidé tabela 11)



Escala 1 cm = 1 ft



T. monococcum, L. var Hornemanni, Körn (Célula n.º 1 — vidé tabela II)



Y process grains, L. par Stormananti, hiera Calula as 1 — via cabela th

(Célula n.º 2 - vidé tabela II)



# Bibliografia

- COUTINHO, D. A. PEREIRA.—1913—Flora de Portugal. Lisboa.
- DARLINGTON. -1926 Chromosome studies in the Scilleae. Journ. of Genetics vol. XVI, N.o. 2.
  - 1929—Chromosome behaviour and Structural Hybridity in the Tradescantiae. Journ. Genetics. v. XXI, N.o 2.
- DE LAUNAY, L.—1926—Phylogenetische Chromosomenverkürzung. Zeitschr. für Zellf. und mikrosk. Anat. Bd. 4. H. 3.
- DE MOL, W. 1921 De l'existence de variétés hetéroploides de l'Hyacinthus orientalis dans les cultures Hollandaises. Arb. aus dem Institut für allg. Bot. der Univer. Zürich, Ser. II, N.º 2.
- FERNANDES, A.—1631—Estudos nos cromosomas das Liliáceas e Amarilidáceas. Bol. Soc. Brot. VII (2.ª série): 1-122.
- FLAKSBERGER, C.-1925-Wheat einkorn, Bull. Appl. Bot. and Plant. Breed. XIV: 207-28.
- Gelei, J. 1921 Weitere Studien über die Oogenese des Dendrocoelleum lacteum. II-Die Längskonjugation der Chromosomen. Archiv. f. Zellforsch, Bd. 16.
- HASEGAWA, N.—1932—Comparison of Chromosome types in Diosporum. Cytologia 3:350-368.
- HOLLINGSHEAD, L. AND E. B. BABCOCK.—1930—Chromosomes and phylogeny in Crepls, Univ. Calif. Publ. Agr. Sci. 6:1-53.
- KAGAWA, F.—1927—The comparison of Chromosomes among different species in Triticum. Proc. Imp. Acad. Ill: 304-6.
  - -----1927—Cytological studies on Triticum and Aegilops. La Celule vol. 37.
  - 1928—Cytological studies on Triticum and Aegilops. II. Jap. Jour. Bot. IV: 1-26.
  - 1929—On the phylogeny of some cereals and related plants, as considered from the size and shape of chromosomes, Ibid. IV: 363-83.
  - 1929—A study on the phylogeny of some species in Triticum and Aegilops, based upon the comparison of chromosomes. Jour. Coll. Agric. Imper. Univ. Tokyo X: 172-228.

- Kusmina.—1927—On the chromosomes of Beta vulgaris L. Bull. Appl. Bot. Genet. and. Plant Breeding, v. 17, N.o 3.
- Kuwada.—1927—On the spiral structure of chromosomes. Bot. Magaz. v. 41, N.º 483.
- LA COUR, L. 1931—Improvements in everyday technique in plant cytology. Jour. Roy. Microsc. Soc. Vol. LI: 119-126.
- LEWITSKY, G. A.—1930—Investigation on the morphology of chromosomes. Proc. of the U. S. S. R. Congress of Genetics, Plant and Animal Breeding, v. 2.
  - -1931—The "Karyotype, in Systematics—on the base of an investigation of the subfam. Helleboreae. Bull. of the Appl. Bot. Genet. and Plant-Breeding. v. 27, N.º 1.
  - 1931—The morphology of the chromosomes, History, Methods, Facts Theory, Bull, of the Appl. Bot. Genet, and Plant-Breeding, XXVII: 19-174
- NAVASHIN, M.—1926—Variabilität der Zellkernes bei Crepis-Arten in Bezug auf die Artbildung, Zeits, f. Zellf. und Mikrosk, Anatom, Bd. 4.
- PERCIVAL, J. 1921 The wheat plant. London.
- SAKAMURA, T.—1915—Über die Einschnürung der Chromosomen bei Vicia Faba, L. Bot. Mag. Tokyo. 41: 59-64.
  - ——1920—Experimentelle Studien über die Zell-und Kernteilung mit besonderer Rücksicht auf Form, Grösse und Zahl der Chromosomen. Jour. Coll. of Sc. Imp. Univ. Tokyo vol. 39.
- SENJANINOVA-KORCZAGINA, M.—1932—Karyo-Systematical investigation of the genus Aegilops L. Bull. of Appl. Bot. Genet. and Plant Breeding II series, N.º 1: 1-90.
  - -----1932—Karyological investigation of the question as to the origin of Vicia Paba. Ibid. Il series. N.º 1: 91-118.
- SVESHNIKOVA, L.—1927—Karyological studies on Vicia. Bull. of Appl. Bot. Genet. and Plant Breeding XVII: 37-72.
  - 1932—Å study of interspecific hybrids of Vicia. Proc. of the Sixth Inter. Cong. Genet. vol. II: 344.
- TAYLOR, W. R.—1925—Chromosome constrictions as distinguishing characteristics in plants. Amer. Jour. of Bot. v. XII, N.o 2.
- TSCHERMAK, E. VON AND BLEIER, H.—1926—Uber fruchlbare Aegilops-Weizenbastarde. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. XLIV: 110-32.
- WEXELSEN, H.—1928—Chromosome numbers and morphology in *Tritolium*. Univ. Calif. Pub. Agri. Sci. 24. N.º 13.
- WINGE, O.—1927.—Chromosome hehaviour in male and female individuals of Wallisneria spiralis and Najas marina. Sour. Genet. 18. N.o 1.