

# Efeitos dos Raios-X nos cromosomas do *Triticum monococcum*. Sua análise na apreciação da filogenia do Trigo

POR

A. DE SOUSA DA CAMARA

Professor do Instituto Superior de Agronomia

	PÁG.
1. Introdução . . . . .	29
2. Material e métodos . . . . .	31
3. Resultados da observação e discussão geral. . . . .	32
4. Análise dos efeitos dos raios-X na discussão filoge- nética .. . . .	47
5. Sumário ... ..	57
English Summary... ..	59
Bibliografia . . . . .	60

## 1. Introdução

Os raios-X, pelos efeitos profundos que são capazes de exercer na produção de genovariedades e anomalias cromosômicas, constituem hoje, para os genetistas, no aclaramento de alguns dos seus mais intrincados problemas, uma poderosa e utilíssima ferramenta de investigação.

Desde o primeiro momento em que se observou a extrema intensidade daquela acção—o que se deve a Muller (1927)—e se notou a constância dos seus efeitos, caracterizadamente destruidores ou reorganizantes da matéria de cromatina, se reconheceu a enorme utilidade deste agente no estudo de variações cromosômicas.

Os cromosomas, sujeitos a doses apropriadas de raios-X, mostram sempre uma tendência pronunciada a fragmentarem-se em um ou mais pontos. Estes fragmentos ou se mantêm destacados ou se li-

gam, soldando-se possivelmente pelos pontos de rutura, ou se eliminam através de divisões sucessivas (Painter e Muller, 1929).

Ainda se não conhece, com inteira segurança, a ordem porque se dão estes diferentes fenómenos, isto é, se primeiramente ocorre a fragmentação, logo seguida das combinações ou rearranjos aludidos—como parece mais lógico—ou se pelo contrário se efectua antes a ligação e só depois dela operada se verifica a fragmentação.

As contribuições trazidas a êste problema por Muller e Painter (1929), Dobzhansky (1929), Delaunay (1930), Goodspeed e Avery (1930), Navashin (1931), Lewitsky e Araratian (1931), Stone (1933) e Mather e Stone (1933), demonstraram já que os raios-X não constituem um mero agente destruidor ou desorganizador; e que as novas condições físico-químicas do meio celular, criadas em consequência da irradiação, originam metamorfoses cromosómicas essencialmente estáveis.

Mas os elementos de informação colhidos, embora dignos do maior interesse, não são ainda bastantes para poderem esclarecer, desde já, os numerosos pontos obscuros que êste problema encerra e não são suficientes para permilirem a generalização dos primeiros resultados obtidos.

Esta nossa contribuição, utilizando como material de trabalho o *Triticum monococcum*, L., pretende: por um lado confirmar resultados, trazer com novas demonstrações um conhecimento mais exacto dos fenómenos já apontados ou descritos e constituir por isso mais um subsídio à generalização necessária; por outro, olhar as modificações que não têm sido devidamente postas em relêvo, e considerar, por fim, o alcance que estas investigações podem ter no estudo da evolução do género *Triticum*.

Supõe-se que, em resultado de irradiações adequadas, os ideogramas se modificam, por vezes, dum modo idêntico ao verificado na «evolução». Ora, para se aprofundar êste estudo, para o género de pesquisas que semelhante averiguação exige, parece que conviria utilizar como material uma planta que pertencesse a uma série poliploide e em que o seu poliploidismo fôsse provavelmente acompanhado de variações cromosómicas, dum planta, enfim, como é o trigo.

A filogenia do trigo, conquanto tenha interessado numerosos observadores e suscitado trabalhos do maior interesse, apresenta-se ainda envolta em grande obscuridade. Não obstante a sua investigação ter sido empreendida através do estudo conjunto botânico-geográfico, citológico e genético, está-se ainda muito longe de se conhecer precisamente a forma como no trigo se deu a evolução. Natural é,

portanto, que se procure utilizar na sua análise todos os recursos de que pode dispor o biólogo de hoje. Por isso se impõe o estudo intenso dos efeitos dos raios-X na aceleração dos fenómenos evolutivos, pois é possível que este agente possa ainda desvendar um pouco o problema.

## 2. Material e métodos

As plantas escolhidas para este trabalho pertenciam à espécie *T. monococcum L.*, e à variedade *vulgare*, Körn ( $2n = 14$ ).

Os tratamentos dos raios-X fizeram-se sobre plantulas de idades variáveis entre um e dez dias. Para isso, promovia-se primeiramente a germinação à temperatura conveniente de 25° C., dispondo as sementes em placas Petri, munidas de papel de filtro devidamente humedecido. Só depois do aparecimento das primeiras raízes se iam efectuando os tratamentos, em obediência aos períodos de tempo previamente determinados.

As doses estabelecidas de raios-X foram de 5mA, 60 a 67 Kw., em períodos variáveis de 3, 4, 5, 6, 10 e 15 minutos de exposição sem filtro, a uma distância do anticátodo de 25 cm.

As raízes eram depois fixadas, decorridos períodos precisamente marcados de 1, 2, 3, 7 e 30 dias após a irradiação.

Como fixador usámos quasi sempre o Benda. E como constritor, para tornar possível a identificação dos cromosomas do trigo, usámos o hidrato de cloral, segundo a técnica apurada por Kagawa (1929) e utilizada por nós em trabalho anterior (Câmara, 1934). Ainda empregámos algumas vezes o fixador 2BE, de La Cour (1931), e a combinação «formol-ácido crómico» preconizada por Lewitsky (1931) na proporção de 6:4. De todos os fixadores, porém, o que melhores resultados nos deu foi o *Benda* (sem ácido acético).

As preparações foram obtidas com cortes a 18-20  $\mu$  e foram todas coradas com violeta de genciana, segundo a técnica de Newton, correntemente usada neste nosso Laboratório.

As placas de metafase estudadas foram sempre atentamente escolhidas de modo a ficarem nitidamente mergulhadas no plasma, com larga folga para um e outro lado da focagem. Para garantir a exactidão de algumas interpretações, em certos casos mais interessantes, e para evitar quaisquer erros de observação, mediram-se tão rigorosamente quanto possível—segundo os métodos que relatámos no traba-

lho atrás citado—alguns ideogramas. Julgou-se dêste modo que se poderia asseverar com rigorosa certeza quais os tipos de variações cromosômicas que foram induzidas pelos raios-X.

O material utilizado requereu um estudo incomparavelmente mais difícil do que aquele que pode exigir o já empregado em pesquisas dêste género, como o *Crépis capillaris* ou o *Crocus Olivieri*, *Crocus Balansae* e *Crocus biflorus*, por ter um número mais elevado de cromosomas e, sobretudo, por estes se assemelharem muito. Cremos, no entanto, que as nossas medições, executadas com o maior cuidado, puderam vencer, em parte, a dificuldade própria do material, acabando por definir exactamente, não só as extensões da fragmentação como até os novos tipos de cromosomas, sintetizados através dum processo complexo de fragmentação e translocação.

### 3. Observações e Discussão Geral

O *T. monococcum*, L., var. *vulgare*, Körn, tem sete pares de cromosomas, sensivelmente isobraquiais de dimensões muito semelhantes. Alguns dêstes cromosomas são dotados de constrictões secundárias (Câmara, 1934).

Uma célula somática normal dum das plantas tomadas para testemunha, no nosso trabalho, apresenta os seus cromosomas conforme a disposição dada pela fig. 1.

A primeira consequência da irradiação, que imediatamente nos

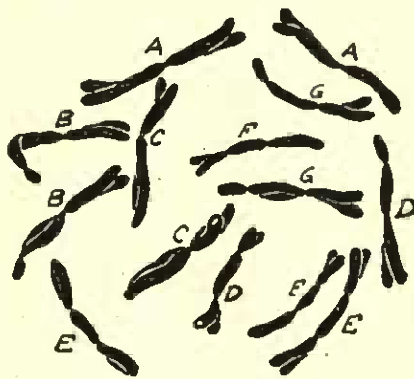


FIG. 1

Cromosomas somáticos do *Triticum monococcum*, L. var. *vulgare*, Körn.

impressionou, foi a supressão de mitoses, logo após o tratamento. A actividade mitótica é, por assim dizer, sufocada, na ocasião em que as células suportam os raios-X. Essa mesma supressão de divisões persiste durante as primeiras horas que se sucedem à irradiação. Ainda depois de decorridas umas 24 horas o número de células em divisão é extremamente baixo e os cromosomas apresentam-se enormemente encurtados e deformados.

Ao cabo deste período, porém, verifica-se o regresso à normalidade mitótica e observam-se então numerosas anomalias, de carácter particular, muito semelhantes às de certas variações que ocorrem, por vezes, em condições naturais.

Stone (1933) ao referir-se a estas conseqüências da irradiação, ais como tivera ensejo de observar no *Crocus Olivieri*, acentuou que elas se desenvolviam em 3 fases distintas: (1) as células, com mitoses em curso, durante o tratamento, acabam as suas divisões, sem sofrerem quaisquer anomalias cromosómicas; (2) essas células entram, em seguida, num período dormente, o qual poderá durar até dois dias, para doses elevadas, sem mostrarem qualquer indício de actividade mitótica; (3) finalmente as células recomeçam a dividir-se, mas evidenciando já freqüentes variações.

Foi efectivamente neste último período que, no nosso material de trabalho, mais atentamente podemos estudar as variações cromosómicas induzidas. Dedicámos, evidentemente, a nossa atenção aos restantes períodos, mesmo áqueles em que domina a dormência dos núcleos; mas a investigação das transformações sofridas pelos genómos só é eficiente depois de decorrido esse período forçado de repouso, dessa fase de reacção nuclear ao desequilíbrio funcional, provocado pelo tratamento dos raios-X.

Antes de descrevermos os resultados das nossas observações queremos referir as conclusões mais importantes dos investigadores que nos antecederam. Entre éstas merecem mais a nossa atenção, pelo alcance que podem ter na interpretação do processo evolutivo do complexo cromosómico, as seguintes (Mather e Stone, 1933):

1. A constrição de ligação ao fuso é um corpo constante que não é afectado pela irradiação.

2. A ocorrência de anomalias envolve usualmente dois processos — fragmentação e fusão tópo a tópo, muito raramente fusão lateral.

Tem-se verificado, sempre, nos diversos trabalhos de irradiação (Dohbzanaky, 1931, Navashin, 1931, Lewitsky e Araratian, 1931) que os fragmentos não sobrevivem desde que não tenham um corpo quinético.

Há, assim, uma notável concordância de pontos de vista dos vários observadores, a respeito desta primeira consequência da irradiação. Mesmo a respeito de outras anomalias cromosômicas, deparadas nos diversos trabalhos, há, ainda, uma certa unidade de vistas.

As fragmentações originam, como é evidente, fragmentos proximais e distais. Os primeiros, por arrastarem o ponto de ligação ao fuso, comportam-se normalmente através de toda a mitose, como se fossem verdadeiros cromosomas. Os segundos, destituídos de corpo quinético, deixarão de ter orientação nas anafases e, apesar de serem muito freqüentes nas primeiras gerações celulares, vão-se tornando cada vez mais raros, até desaparecerem por completo.

As fusões de fragmentos distais com cromosomas ou segmentos proximais — «*translocações*» — dão origem a verdadeiros cromosomas de comportamento normal, capazes de subsistirem através de sucessivas mitoses.

Por vezes, conforme tem sido enunciado por alguns citologistas, surgem, como consequência de fusões particulares — de segmentos proximais — cromosomas com dupla ligação ao fuso. Claramente o comportamento destes cromosomas, os quais logicamente podemos chamar *diquinéticos*, terá de ser distinto dos cromosomas vulgares — que à semelhança do termo proposto para aqueles, poderemos designar como *monokinéticos*.

Dentre as variações estudadas por nós, as que indubitavelmente se observaram com mais freqüência foram *fragmentações*. As nossas figuras 2, 3, 4, 5, 6, e 7, mostram claramente o aspecto repetido dos cromosomas, das células somáticas, de plantas fixadas 48 horas depois do tratamento dos raios-X. Os fragmentos observados, de grandeza muito variável, parecem dispor-se na maioria dos casos sem qualquer orientação. Repetiram-se as observações no sentido de se poder verificar se a desorientação dos fragmentos é sempre explicada pela ausência do corpo quinético. A êste respeito importa referir que, em certas placas bem estudadas, apareceram fragmentos sem constrições visíveis, nitidamente orientados, como se fôssem verdadeiros cromosomas. Evidentemente, êstes casos tem de ser interpretados como de fragmentos dispendo de constrições quinéticas terminais, as quais são, é como sabido, de observação difficilima.

Ainda em outras células notámos a disposição dos fragmentos na periferia (fig. 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11). Esta tendência centrífuga de certos fragmentos, revela, em alguns casos, um afastamento rápido de porções do mesmo cromosoma, logo a seguir ao momento de rutura.

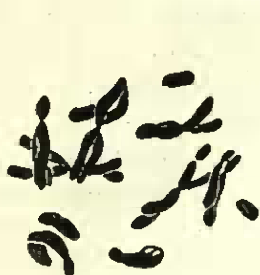


FIG. 2



FIG. 3



FIG. 4



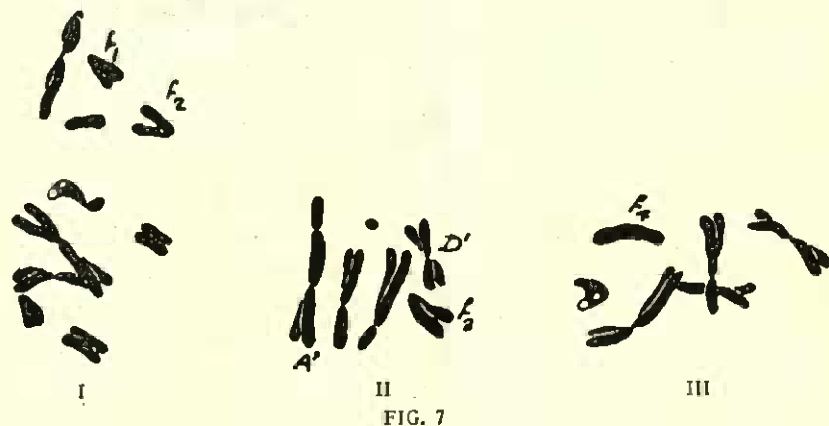
FIG. 5



FIG. 6

Metáfases duma planta irradiada durante 3 minutos, a 65 Kv, 5 mA. (fixação feita 48 horas depois do tratamento) X3200. Na Fig. 2 observam-se cinco cromosomas centroméricos, quatro fragmentos dispersos ao acaso e uma deleção bastante acentuada num cromosoma. Na Fig. 3 distingue-se, além de variações semelhantes, um fragmento aparentemente demonstrativo da ruptura se ter operado pela constrição. Na Fig. 4 nota-se um cromosoma com uma deficiência num único cromatídeo. Na Fig. 5 pode observar-se o cromosoma B e, entre vários fragmentos, um com indícios de translocação recente (I). Na Fig. 6 observa-se um cromosoma C e quatro fragmentos, dos quais dois mostram ter-se dado a fractura pelos pontos de constrição.

Não é fácil, evidentemente, prever as razões porque dos fragmentos distais uns são distribuídos pelo interior da placa e outros são atirados para a periferia. À primeira vista poder-se-ia supor que a sua dispersão se efectuará sempre ao acaso, umas vezes entre a massa dos cromosomas outras perifericamente. Todavia, medições de alguns destes fragmentos periféricos, demonstrando pertencerem a certos tipos



Cromosomas observados em três células irradiadas. X3200. Notam-se, além de várias anomalias, fragmentos  $f_1$ ,  $f_2$ ,  $f_3$  e  $f_4$  que parecem significativos da rutura se ter verificado pelas constrições. Observam-se ainda mais os tipos novos de cromosomas  $A'$  e  $D'$ .

de cromosomas, sempre aos mesmos, fazem crer na possibilidade da existência duma força de repulsão em determinados elementos. Claramente, êste facto não pode ser referido aqui senão com reservas, visto que é muito difícil garantir se os fragmentos distribuídos por entre o conjunto dos cromosomas estão igualmente desprovidos de corpo quinético.

O ponto por onde se opera o rompimento é ainda muito discutível. Lewitsky e Araratian (1951) afirmaram que se dava logo atrás da constrição quinética e não era assim função do diâmetro. Parecia, portanto, lógico que, se a rutura se podia efectuar indiferentemente do diâmetro dos cromosomas, ela tanto se havia de dar pelo ponto de ligação ao fuso como por qualquer ponto da sua extensão.

As nossas observações fazem acreditar que a fragmentação ocorre, de preferência, em determinados *pontos críticos*, ou como nós dizemos, na nossa linguagem de laboratório, em certos *pontos fracos*.

Medições repetidas de numerosos fragmentos provaram que



alguns deles, bem orientados — possuidores, portanto, de elemento quinético — eram de comprimento sensivelmente igual em diversas células.

Parece crível, uma vez que há constância de dimensões, em todos esses fragmentos e que todos eles dispõem de ligação ao fuso, que eles resultam dos *mesmos tipos de cromosomas*, por ruptura ope-

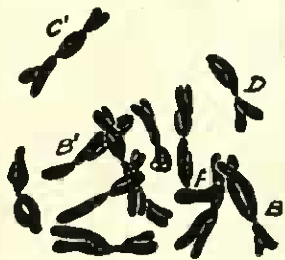


FIG. 8



FIG. 9

Metáfases duma planta irradiada durante 5 minutos, a 60 Kv, 5mA. A 1.<sup>a</sup> metafase provém duma raiz fixada sete dias após o tratamento; A 2.<sup>a</sup> duma raiz fixada decorridas 48 horas. X3200. Na Fig. 8 observam-se os cromosomas B, B', C e D, que são diferentes dos característicos do *T. monococcum*. Na Fig. 9 nota-se além duma fragmentação considerável uma ligação lateral (L1), um cromosoma novo C e um fragmento f<sub>1</sub> que parece ser ainda justificativo da fractura ter ocorrido pelo ponto de constrição ou por qualquer ponto muito vizinho dela.

rada nos *mesmos pontos*. A confirmar esta suposição há a circunstância, que nós observamos, dos comprimentos desses fragmentos corresponderem sensivelmente aos comprimentos de certos braços de cromosomas. Se assim suceder, como as múltiplas medições feitas autorizam a supor, a vizinhança do ponto de ligação ao fuso constitui, de facto, como julgavam Lewitsky e Araratian, um dos tais *pontos fracos*. É crível, contudo, que existam outros e que entre esses haja uns que sejam correspondentes a determinados arranjos de estrutura cromosômica, como poderão ser porventura as constrições secundárias.

Por estes factos; e não obstante ter sido posta em dúvida a questão do diâmetro do cromosoma, parece que êle é, pelo menos, em parte, responsável pela fragilidade que o mesmo cromosoma evidencia. Claro está que a acção dos raios-X não se pode traduzir apenas numa simples acção mecânica de rompimento. Mas, o aparecimento repetido de pequenos segmentos, muito semelhantes, em extensão, às cabeças de certos cromosomas característicos do *T. mono-*

*coccum*, faz supor que as rupturas se efectuem com facilidade, pelos pontos dessas constrictões secundárias.

A concepção da existência dos pontos críticos, parece, contudo,

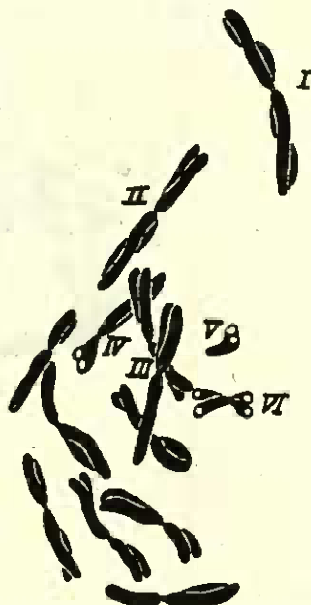


FIG. 10

Na metafase representada nesta figura, de material fixado sete dias depois do tratamento (65 Kv, 5mA, durante 5 minutos), vêm-se os cromosomas alongados I, II, III e IV resultantes evidentemente de translocações em que foram possivelmente envolvidos os cromosomas V e VI  $\times 4200$ .

ficar abalada pela circunstância de se não dar a fragmentação simultânea nos cromosomas homólogos. Efectivamente, nunca observámos que a fragmentação dum destes elementos fôsse fielmente acompanhada por fenómeno idêntico no seu par.

Mas é natural que a rutura dos cromosomas derive não só da existência de *pontos críticos*, como nós supômos, sendo êstes, possivelmente, correspondentes a regiões de menor diâmetro, mas também a condições especiais favoráveis à rutura, criadas pela própria irradiação, tanto nos cromosomas como no meio vizinho. A invulnerabilidade de certos homologos parece-nos, até, extremamente curiosa, e de certo alcance, para a discussão filogenética que adiante referiremos.

Lewitsky e Araratian referiram que encontraram, algumas ve-

zes, fragmentação restringida a um único cromatideo em lugar dela atingir todo o cromosoma. Mather e Stone, contestando este facto, dizem que os investigadores russos, apontados, só encontraram um

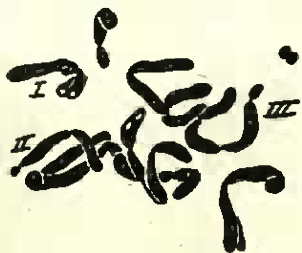


FIG. 11

Metafase duma planta fixada 3 dias após a irradiação (fixador Lewitsky, 6.4). Observa-se um trabante lateral no cromosoma I. Nota-se mais que as cabeças dos cromosomas II e III são mais pequenas que as características dos cromosomas do tipo 2 (vidé fig. 46).

único caso de cromatideos desiguais, em todo o seu estudo de irradiação de *Crepis capillaris*. Daqui, eles supõem impossível que os cromosomas sofram a sua clivagem durante a metafase-anafase. Deveremos salientar, contudo, que encontrámos no nosso material dois desses casos (fig. 4,13). Não nos parece demais que possam subsistir dúvidas na sua interpretação.

Os cromosomas do *T. monococcum* fragmentaram-se, indiscutivelmente, num único cromatideo. Ora, para suceder isto é necessário



FIG. 12

Parte duma metafase mostrando a inserção duma cabeça a um único cromatideo.  
× 3200

que a anomalia ocorresse — como dizem Mather e Stone — depois do fendilhamento dos cromosomas. A circunstância de termos encontrado estas transformações, confirmando, assim, o resultado de Lewitsky, embora elle fôsse contestado, posteriormente, por Mather e Stone, mostra

a necessidade de encarar, com muito mais cuidado, a fase da clivagem cromosómica.

A par destes casos de fragmentação, encontram-se com notável frequência casos de dissociação de cromosomas. Uma vez os fra-

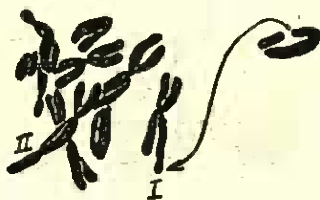


FIG. 13

Parte duma metaphase mostrando um fragmento com deficiência num único cromatídeo. Compare-se a extensão desta deficiência com as dimensões do pequeno segmento que se foi soldar ao cromosoma I. Dir-se-ia, por esta comparação, que este pequeno segmento saiu exactamente daquela delecção. Nesta metaphase pode observar-se ainda um longo cromosoma II com indícios de ter sofrido uma translocação recente.

mentos obtidos por um simples rompimento conservam a configuração de nucléolos, de dimensões muito variáveis.

Outras vezes, a dissociação é provocada, por assim dizer, nas anafases. Efectivamente, quando os cromosomas ganham por translo-

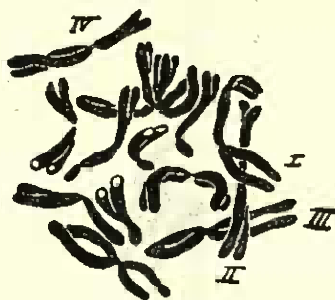


FIG. 14

Metaphase duma planta irradiada durante 10 minutos (65 Kv, 5mA) e fixada três dias depois, mostrando um cromosoma com um único apêndice, três longos cromosomas (I, II e III) e três cromosomas cefalobraquiais.  $\times 3200$

cações duas constrições quinéticas, muito próximas, sofrem, com a tracção exercida entre os dois polos opostos, uma tal deformação que poderá ultrapassar o limite de resistência e verificar-se então a rutura.

Além da fragmentação originada por êste processo, há, ainda,

que contar com uma degradação pronunciada do material que se revela não só por numerosas soluções de continuidade, pontos eviden-



FIG. 15

Parte duma metafase: Cromosomas (I e II) com possíveis indícios de translocação.

tes de dissociação, deleções ou deficiências, mas também pela maior dificuldade que os cromosomas oferecem a receber o corante.

Ao relatarem-se estes fenómenos de fragmentação, com seus variados efeitos, importava, agora, referir o que as nossas observações



FIG. 16

Metafase mostrando 3 cromosomas celalobraquiais e uma fusão tópo a tópo de dois cromosomas.  $\times 3200$  (duma planta irradiada durante 15 minutos a 60 Kv, 5mA).

mostraram sobre a possibilidade ou impossibilidade de criação de constrições quinéticas.

Vimos que estes corpos quinéticos tem tal importância que os fragmentos que os possuem tem possibilidades de subsistência, ao passo que os outros acabam por ser eliminados mais tarde ou mais cedo. Claro, que se os corpos quinéticos pudessem ser adquiridos por este ou outro processo qualquer, abrir-se-ia imediatamente um novo horizonte para a análise da evolução do complexo cromosómico.

É certo que Lewitsky e Araratian (1931) consideraram possível a

criação de constrições quinéticas. No seu material, a avaliar pelos seus desenhos, não só se mostram sugestões de constrições adquiridas sub-terminais, em cromosomas recentemente criados, do tipo cefalo-

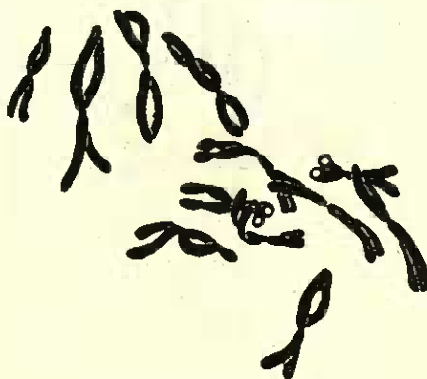


FIG. 17

Metáfase com 12 cromosomas apenas. Examinada em material fixado sete dias depois do tratamento (65 Kv, 5mA, durante 6 minutos).  $\times 3200$

-braquial, como até se encontram possibilidades de justificação para o aparecimento de constrições medianas. Num caso, até, estes investiga-

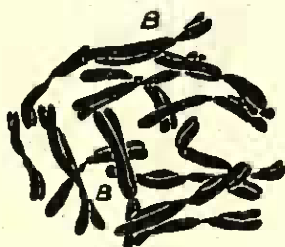


FIG. 18

Metáfase mostrando dois cromosomas do tipo B (vidé Fig. 26). (fixado 30 dias depois do tratamento—60 Kv, 5mA, durante 5 minutos)  $\times 3350$

dores encontraram um pequeno cromosoma com constrição e com satélite.

Há, pelas suas referências, evidência do aparecimento de constrições. O que se fica sem saber, porém, é se essas constrições são ou não quinéticas.

Em alguns cromosomas do *T. monococcum* irradiado notam-se diferenças de diâmetro que podem ser tomadas, pela apreciação dos

comprimentos desses mesmos cromosomas, como reminiscências das inserções das peças translocadas (fig. 5, 13 e 15).

É curioso referir, contudo, que essas diferenças de diâmetro,



FIG. 19

Metafase mostrando os cromosomas muito encurtados (Material fixado 24 horas depois do tratamento—60 Kv, 5mA, durante 3 minutos)  $\times 3200$

embora algumas vezes pareçam estrangulamentos, nunca se apresentam tão profundamente vincadas que possam ser olhadas como constrictões. Importa, ainda, salientar que em muitos outros casos, cromosomas



FIG. 20

Parte duma metafase duma planta irradiada. Observa-se o cromosoma B (vidé Fig. 26)  $\times 3200$

nitidamente resultantes de translocações não apresentam quaisquer indícios da fusão realizada. (fig. 7, 8, 10, 17, 18 e 21).

Estes factos apoiam a negação de Lewitsky e Araratian (1931) à hipótese de Darlington (1929) sobre as constrictões secundárias, provenientes de translocações. Entretanto, apesar dos resultados obtidos, olhamos com certa reserva a afirmação daqueles autores. Na verdade, limitando os nossos estudos a poucos dias depois do tratamento, não

sabemos o que sucede a esses estrangulamentos através de gerações sucessivas, se desaparecem ou se pelo contrário poderão ganhar maior intensidade num vínculo mais profundo.

Outra consequência da irradiação é, como já referimos, a fusão



FIG. 21

Metáfase duma célula vizinha da desenhada na Fig. 16. Note-se o cromosoma B e o cromosoma cefalobraquial.

tôpo a tôpo de fragmentos de cromosomas, constituindo as chamadas translocações.

Foram variados os tipos de translocações que obtivemos. As nossas fig. 5, 6, 7, 8, 9, 18, 19, 20 e 21, mostram alguns dos mais interes-



FIG. 22

Célula haploide mostrando seis cromosomas alterados, Só o cromosoma I parece ter ficado intacto.  $\times 3200$

santes a que adiante faremos referência quando tratarmos da discussão filogenética.

Outro efeito de tratamento pelos raios-X que tem de ser considerado é o do encurtamento dos cromosomas. É sabido que o processo de encurtamento tem o maior interêsse na filogenia. Delaunay



(1931) chamou-lhe, mesmo, *encurtamento filogenético*, e Senjaninova-Korczagina (1932) considerou-o como um *processo lento de evolução*.

No nosso material deparámos com alguns casos de redução intensa. As nossas fig. 4 e 19 mostram exactamente o grau de encurta-

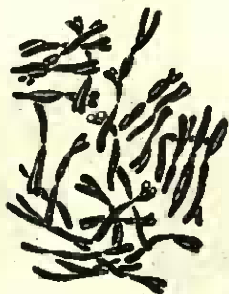


FIG. 23

Célula tetraploide. A célula tem dimensões idênticas às das células diploides. Os cromosomas porém são muito mais delgados. Comparem-se os cromosomas desta figura com os da Fig. 24 que foi obtida numa célula vizinha.

mento atingido. Dá a impressão de que o encurtamento é generalizado a todos os cromosomas e de que não há uns mais susceptíveis do que outros. Lewitsky supõe (1931. a) que há possibilidades de ser transmi-

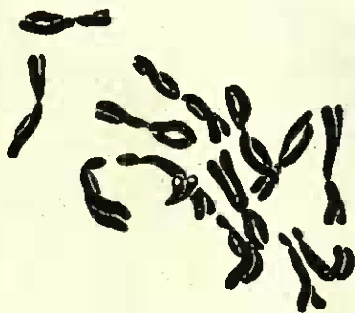


FIG. 24

Metáfase mostrando oito cromosomas aparentemente intactos, cinco cefalobrais e um fragmento proximal.  $\times 3200$

tida a condição favorável a esse encurtamento. Entretanto os elementos que colhemos provaram que a irradiação não tem esse efeito. Pelos numerosos casos observados verificámos que a irradiação provoca, por vezes, o encurtamento. Mas, a apreciação de gerações celulares sucessivas, demonstrou, que essa condição não é estável, antes é

simples variação fortuita, que prontamente desaparecerá desde que decorra algum tempo.

Finalmente, resta-nos tratar dum efeito dos raios-X que até



FIG. 25

Célula quasi normal. Apenas se podem observar dois cromosomas novos cefalobraquiais (Radícula fixada 30 dias depois do tratamento—60 Kv, 5mA, durante 5 minutos).

agora não foi posto devidamente em relêvo. Queremo-nos referir ao aparecimento de células haploides ou mesmo à formação de verdadeiros sectores haploides nas raízes irradiadas.

Nalgumas células os cromosomas apresentam-se como se não tivessem sofrido quaisquer transformações. Noutras, porém, observam-se variações profundas (fig. 22).

Em qualquer dos casos, afigura-se-nos que êste aspecto é digno do maior interêsse. Foi já possível criar trigos haploides, graças à acção dos raios-X sôbre células germinais. Kihara e Katayama (1932) relataram o aparecimento de indivíduos haploides do *T. monococcum*, depois da exposição aos raios-X, durante o período da meiose. Chizaki (1933) referiu igualmente a ocorrência de plantas haploides. E por fim, Katayama (1934) pôde estabelecer as proporções em que aparecem essas plantas. É curioso salientar que a percentagem maior verificada na obtenção de haploides atingiu a cifra considerável de 17,58 %—e foi obtida apenas à custa da irradiação do polen (1).

(1) Katayama utilizou um tubo de Coolidge com anticalodo de tungsténio e applicou doses de 40 Kw, 2mA, à distância de 30 cm., com filtro de 1 m/m. de alumínio, durante 30 minutos de exposição.

O aparecimento de células haploides, no nosso material, pode mostrar mais uma possibilidade de obtenção dessas plantas. Efectivamente se se obtêm células e até verdadeiros sectores haploides, é crível que surja um rebento — um colmo — que seja haploide também.

Com o ser possível transmitir esta condição, parece dever chamar igualmente as atenções a possibilidade de obtenção de células tetraploides. Encontrámos, por vezes, algumas destas células (fig. 23) e isso fez-nos supor que os raios-X pudessem constituir um agente útil para a indução de poliploides.

É certo que Mather e Stone (1933) afirmaram que as únicas anomalias que tinham possibilidades de sobreviver eram as translocações e os fragmentos pròximais; e que a ocorrência de quimeras nas raízes, para estas diferentes anomalias, demonstra a impraticabilidade de irradiar estruturas somáticas de maneira a produzir simples rearranjos genéticos de utilidade.

Não compreendemos o caso da mesma maneira. Vemos, pelo contrário, a possibilidade de tirar partido dos raios-X. É crível que, do mesmo modo que se obtêm células se poderão obter mais tarde ou mais cedo plantas.

Os raios-X são, ainda, manejados com grande desconhecimento da sua acção e da receptividade particular dos indivíduos. O empirismo tem andado estreitamente ligado a estas investigações e é difícil, portanto, assegurar desde já qual o futuro que cabe a tal agente. Conquanto êste campo de estudo tenha sido assediado por uma vaga de investigadores, está ainda, muito longe de se poder considerar desbravado.

Por agora limitamo-nos a afirmar que se obtêm células haploides e tetraploides, a par de outras variações já referidas; e lembramos que estas variações somáticas poderão talvez originar condições genéticas úteis.

#### **4. Análise dos efeitos dos raios-X na discussão filogenética**

A evolução, que sob o ponto de vista cariológico, se pode decompor, por vezes, em períodos nitidamente marcados, a que correspondem constituições cromosómicas distintas, cada vez mais complexas, pode, talvez, analisar-se hoje, graças à acção dos raios-X, duma maneira mais compreensível e, por isso mesmo, mais exacta.

Realmente a série de trabalhos realizados, sôbre efeitos dos

raios-X nos cromosomas, mostra duma maneira indiscutível que o todo cromosómico, sendo extremamente susceptível à sua accção, sofre determinadas variações, que se aproximam duma maneira notável das variações ocorridas nas condições naturais. Êste agente pode assim criar têrmos de transição, ignorados no momento actual, possivelmente existentes em outras eras, os quais aumentando e precisando agora os elementos de informação, poderão esclarecer problemas aparentemente obscuros, ou poderão, mesmo, encaminhar as investigações em outra direcção mais lógica e mais produtiva.

Os casos de interpretação filogenética fundamentados sôbre elementos cariológicos são já muito numerosos. Sax (1921-23), Heilborn (1924), Hurst (1925), Clausen (1931), entre muitos outros, mostraram a grande importância da citologia como auxiliar das investigações taxonómicas. Navashin apresentou mesmo (1926) uma série de casos notáveis de evolução no género *Crepis*, estabelecendo o paralelo entre as constituições cromosómicas das diversas formas. Sveshnikova (1927 e 1928) estudando a carilogia do género *Vicia* deu indicações interessantes sôbre a sua filogenia. Hollingshead e Babcock (1930) conseguiram estabelecer todo um sistema filogenético para o género *Crepis*.

Compreende-se, assim, que perante o interêsse crescente das investigações dêste género, os citologistas e genetistas viessem a considerar como bom material de trabalho o trigo. É natural era, portanto, que ao interpretar a filogenia dêste género, com recurso à carilogia, se analisassem as contribuições fornecidas pelo estudo dos raios-X.

Vejamos, primeiramente, qual é a posição actual dos nossos conhecimentos sôbre a filogenia do trigo. As teorias que foram sugeridas sôbre êste problema por Percival (1921), Winge (1917) e Vavilov (1926) dão elementos de estudo e análise de indiscutível valia. Contudo, estão longe de esclarecer completamente o problema e necessitam novos elementos de informação, novas demonstrações e sobretudo um estudo pormenorizado das espécies mais rudimentares, das diploides.

A doutrina de Percival apoia-se exclusivamente sôbre dados sistemáticos; mas mesmo assim, a-pesar-do âmbito relativamente acanhado que êsses dados permitem explorar, a sua sugestão merece ser olhada com a maior das atenções, visto que oferece soluções de grande interêsse.

Percival considera os três grupos de trigo independentemente.

Acêrca do primeiro afirma que a espécie selvagem *T. aegilopoides* está intimamente relacionada com a espécie cultivada *T. monococcum*. Sobre o segundo grupo entende que o *T. dicoccum* e *orientale* derivam do *T. dicoccoides*, o *T. durum* do *T. dicoccoides* ou *T. dicoccum*, e o *T. polonicum* directamente do *T. durum*. Julga, por fim, que o *T. turgidum* deve resultar dum cruzamento entre uma forma de *T. dicoccum* e de *T. compactum* ou *vulgare*. Quanto ao terceiro e último grupo de trigos a opinião de Percival é que a extrema complexidade e o elevadíssimo número de variedades dêste grupo só podem ser satisfatoriamente explicados pela concepção da origem híbrida, com intervenção de *Aegilops ovata*, L., ou *A. cylindrica*, Host.

A teoria de Winge — a já famosa teoria da origem das séries poliploides — concorda em princípio com êste modo de ver de Percival acêrca da origem híbrida do *T. vulgare*. Estabeleceu aquele autor que a hibridação entre duas espécies pode ser seguida de duplicação do número de cromosomas. O exemplo da obtenção da *Primula Kewensis* ( $2n=36$ ) pelo cruzamento da *Primula floribunda* ( $2n=18$ ) com *P. verticillata* ( $2n=18$ ) (Newton e Pellew, 1926) é claramente demonstrativo da verdade da teoria de Winge. Demais têm-se apresentado tantos casos de duplicação após determinados cruzamentos que já se não pode pôr em dúvida a doutrina daquele investigador.

Finalmente, Vavilov mostrou que os trigos têm *centros distintos de diversidade* e que êstes correspondem aos *centros de origem*. Significa isto que os trigos tiveram, segundo êste modo de ver, três centros distintos de origem, os quais foram, segundo as investigações de Vavilov, o Afeganistão para os trigos hexaploides, as regiões montanhosas da Abissínia para os trigos tetraploides e provavelmente as regiões da Ásia menor para os trigos diploides. Vavilov afirmava, contudo, que os elementos de informação sôbre trigos diploides eram demasiadamente escassos, para que se pudesse precisar o seu centro de origem.

Compreende-se que se os trigos diploides participassem da mesma região dos tetraploides poderíamos facilmente conceber a formação dêstes por simples duplicação cromosômica daqueles. É certo que segundo Percival (1921) se encontra o *T. aegilopoides* na Grécia como herva brava largamente difundida, do mesmo modo que se encontra na Bulgária meridional, na Sérvia meridional, na Crimeia, no Cáucaso ocidental e na Ásia Menor. É também provável que o *T. monococcum*, nas suas formas primitivas, vegetasse na Europa meridional. Parece confirmar tal suposição o facto do *T. monococcum* ser

cultivado, desde os tempos mais remotos, em diversas regiões da Península Ibérica e de se cultivar ainda na Suíça, França, Itália, Grécia.

É compreensível que se não possa aceitar inteiramente que os centros de diversidade correspondam com exactidão aos centros reais de origem. Watkins lembrou a este propósito, e com razão, (1930), que há que contar com a intervenção dos homens através dos séculos a qual naturalmente tendeu a dispersar as formas pelas regiões as mais diversas.

Parece, assim, evidente que a interpretação dos elementos fornecidos pela botânica geográfica, sempre difícil, é em alguns casos muito problemática. Demais, no que diz respeito aos trigos diploides era o próprio Vavilov que declarava que o conhecimento que se tinha deles, na ocasião em que apresentou o seu trabalho, era extremamente insuficiente.

Embora, hoje, já se tenha, dos diploides e tetraploides bravos, uma ideia mais exacta, mercê dos elementos de informação apresentados por Flaksberger (1926-1928) e Tumanyan (1930-1934), o problema ainda se apresenta extraordinariamente complexo, de impossível decifração no estado actual dos nossos conhecimentos.

Flaksberger mostrou pela primeira vez (1926) a extrema semelhança morfológica entre espiguetas do *T. dicoccooides*, um tetraploide, e *T. Thaoudat* e *T. aegilopooides*, dois diploides. A semelhança é sobretudo muito grande, pelo menos à primeira vista, entre o *dicoccooides* e o *Thaoudar*.

A este propósito é curioso referir que para Flaksberger o *T. Thaoudar* parece ser uma miniatura do *T. dicoccooides*. Parece isto significar, pela semelhança e pelas diferenças de dimensões, que este último pode ser considerado como resultante da duplicação da série básica de cromosomas. Quere dizer, que um será o diploide donde derivou o tetraploide. Claro que isto é uma méra suposição. Todavia, o facto dos híbridos *T. Thaoudar* × *T. dicoccooides* serem perfeitamente férteis, conforme foi referido por Schultz (1912), apoia esta concepção. Poderá suspeitar-se da natureza híbrida dos espécimens estudados por Schultz, como fez Flaksberger, mas não se poderá deixar de salientar a extrêma semelhança das duas espécies.

Segundo Flaksberger, em obediência ao conceito sistemático, o *T. dicoccooides*, Körn., ocupa uma posição intermédia entre o *T. Thaoudar* e o *dicoccum* cultivado.

Torna-se curioso, ainda acêrca dêste assunto, passar em revista os resultados obtidos pelos investigadores da Escola russa,

sem dúvida aquela que mais tem contribuído para o esclarecimento do problema.

Tumanyan (1930) encontrou na Arménia, um dos centros agrícolas mais antigos do mundo, numerosas formas bravas de trigos diploides. A espécie *T. aegilopoides* é, representada por exemplo nesta região, por um número considerável de formas. A própria espécie *T. Thaoudar* é representada por três formas. Torna-se, ainda interessante notar que foi encontrada em 1925 na mesma zona o *T. monococcum*, var. *Hornemanii*. A mesma espécie de *monococcum* apareceu em 1926 como planta brava em culturas de *T. dicoccum*.

O trabalho posterior de Tumanyan (1934) sobre escanhas bravos, mostrando a existência de 30 variedades do *T. aegilopoides* e 22 do *T. Thaoudar*, revela uma riqueza considerável dos trigos diploides, facto êste que ainda não havia sido suspeitado.

Finalmente, Flaksberger (1926-1928) referiu que os dados modernos não permitem considerar o *T. dicoccooides* como forma progenitora dos trigos tetraploides, como pretendia Percival para os *T. dicoccum* e *orientale*.

Sabe-se, então, por um lado, que o *T. dicoccooides* não pode ser considerado genitor das espécies básicas dos tetraploides. Sabe-se, por outro lado, que os trigos diploides compõem uma colecção rica ainda mal estudada, mas apresentando tipos, como o da espécie *T. Thaoudar*, intimamente relacionados com o *T. dicoccooides*.

Poderia, assim, supor-se que os tetraploides derivassem da duplicação da série básica de cromosomas duma dessas numerosas formas de diploides. E que depois se atingisse a variedade dos tetraploides por variações cromosómicas como translocações, intercâmbios segmentários, etc.

Demais, entre os trigos tetraploides há ainda espécies que necessitam ser devidamente investigadas. A espécie *Triticum Timopheevii*, por exemplo, encontrada por Zhukowsky, em 1923, ainda não foi estudada em relação às suas afinidades com as restantes espécies tetraploides. Ora é perfeitamente possível que o estudo detido das associações de cromosomas na  $F_1$ , de híbridos entre êste trigo e as diversas formas de trigos diploides e tetraploides, venha a provar que o seu genómio faz a transição dos daqueles grupos.

Terá alguns visos de verdade aquela hipótese? Sax (1922), Kihara (1924-30-32), Thompson (1926), Melburn e Thompson (1927), conceberam, pelo menos, um processo semelhante. A contribuição de Kagawa (1929) veio, porém, abalar de certo modo esta concepção, por

precisar que nos trigos tetraploides e hexaploides aparecem tipos de cromosomas que não aparecem nos diploides — melhor que não aparecem na variedade que êle estudou de *T. monococcum*.

Numerosas razões se apresentam a definir o trigo como alopoliploide. São demais conhecidas para que nos demorem a frizá-las. A existência, no trigo, de factores duplicados ou triplicados faz supor que sendo esta planta nitidamente alopoliploide, as espécies mais complexas devem derivar de hibridações entre espécies com genes similares para os caracteres considerados. E, entretanto, à primeira vista poderia parecer que a existência de factores duplicados era justificativa dum autopoliploidismo. As experiências de Stadler (1929) sôbre a indução de mutações no trigo, pelos raios-X, poderiam confirmar êste juízo, visto que vieram mostrar que as mutações factoriais eram muito mais freqüentes nos trigos diploides que nos tetraploides ou hexaploides. Mas importa lembrar que êste facto só se verifica no caso de certos genes e não de todos. É evidente que, se os trigos são alopoliploides, a ocorrência de mutações em certos genes, não duplicados, deve ser tão freqüente como nos trigos diploides.

Os resultados de Delaunay (1931-1932) obtidos em trigos hexaploides parecem singularmente significativos. Êste investigador, ao tratar *T. vulgare*, com raios-X, encontrou mutantes numa elevada percentagem. E é até curioso notar que entre êsses mutantes obteve o tipo *mítico*.

Êstes dados estabelecem, portanto, primeiro a existência de factores duplicados e triplicados, depois a existência de factores singelos. Significará isto que tivemos duplicação ou triplicação da série básica de cromosomas, ou que houve hibridação entre espécies muito afins diferindo em pequenos caracteres? A êste respeito torna-se interessante lembrar que o mufante *mítico* provocado por Delaunay, nos seus trabalhos de irradiação do trigo, é caracter do *A. ovata*, L. ou do *A. cilíndrica*, Host., plantas a que Percival attribue o papel de genitores nos hexaploides.

Não desejamos encarar aqui a filogenia dos hexaploides. Apenas nos preocupa agora discutir se os tetraploides do trigo podem ou não resultar da duplicação da série básica de cromosomas dos diploides, seguida de transformações cromosômicas idênticas às induzidas pelos raios-X. E para isso, não pretendemos afirmar que o antepassado fôsse o *T. monococcum vulgare*, a forma que trabalhámos, sob o ponto de vista da irradiação. Claramente, o genitor original



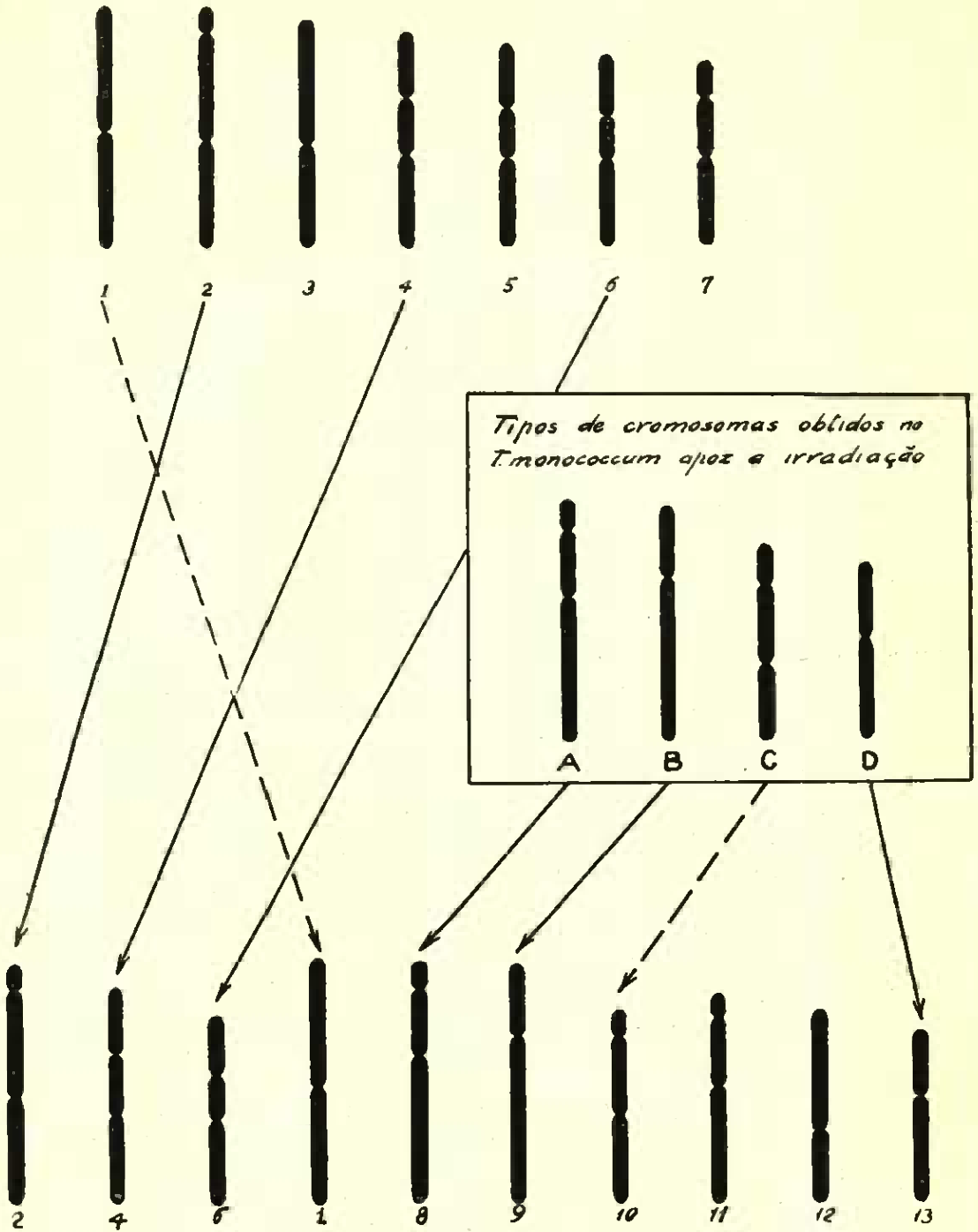
tanto podia ter sido um dos diploides já estudados como algum outro ainda ignorado ou até mesmo já desaparecido. De tôda a maneira o que aqui importa ressaltar é que o poliploidismo foi acompanhado de variações cromosômicas, o que foi sugerido mas nunca demonstrado duma maneira clara.

Pelo que se disse, da existência nos tetraploides de factores duplicados e de factores singelos, e ainda da existência de certos tipos de cromosomas diferentes dos que aparecem nos diploides, parece dever concluir-se que neste grupo de trigos há um grupo de cromosomas que se manteve constante após a duplicação, e outro que sofreu grandes transformações. O grupo constante justificaria a existência de factores duplicados, mesmo sem recurso a hibridações de espécies afins. A parte alterada justificaria, por sua vez, que os trigos tetraploides formassem bivalentes durante a meiose, comportando-se sobre o ponto de vista genético como diploides, dando na  $F_2$  relações fenotípicas de 3:1 ou 1:2:1, e nos cruzamentos retró-grados de 1:1.

Como já vimos, Kagawa afirmou (1929) que a composição das séries dos cromosomas *T. dicoccum*, *T. polonicum* e *T. durum*, *T. vulgare*, *T. compactum*, *T. spelta*, mostram que êles não são autopoliploides, visto que estas espécies não apresentam reduplicação exacta dos tipos de cromosomas do monococcum. É evidente que esta contribuição não poderia ter importância definitiva. Nem se sabia, ao tempo, qual a variabilidade dos trigos diploides—nada autorisando afirmar que uma variedade do *T. monococcum*, que nem conhecemos qual fôsse, constituísse ponto de partida da evolução—nem se pôde determinar exactamente o genómio dum trigo tetraploide. Devemos dizer, contudo, que ainda foi Kagawa quem conseguiu estudar melhor os genómios de trigo. E, entretanto, só lhe foi possível estudar alguns tipos de cromosomas. Ora, é lícito supor conforme refere Kagawa (1929) «... It is not impossible in consideration of the methods of classification and the morphological features of chromosomes described before, that other chromosomes types may be decided to exist or a party of the classification of types made by the writer might be altered perhaps slightly if the further studies were made».

Demais nós mostrámos (Camara, 1934) que o próprio *T. monococcum* apresenta raças cariológicas distintas. Ora, é evidente, que, se isto se passa entre variedades da mesma espécie, muito mais profundas devem ser as diferenças entre os genómios das diversas espé-

TRITICUM MONOCOCCUM



TRITICUM DICOCCUM

FIG. 26

Esquema dos ideogramas do *Triticum monococcum* e do *Triticum dicoccum*. Comparação dos seus diversos tipos de cromosomas e de alguns tipos novos criados no *T. monococcum* em consequência do tratamento pelos raios X.

cies diploides. E natural é que haja variabilidade semelhante nos genómios dos tetraploides e possivelmente até nos dos hexaploides.

Ora, se assim é, poderíamos logo supor que os tetraploides derivassem do cruzamento entre diferentes espécies de diploides, numa repetição do caso bem conhecido, e já citado, da *Prímula Kewensis*.

Mas vejamos ainda os elementos fornecidos por Kagawa. Êste estabeleceu para o *T. monococcum* cinco tipos distintos de cromosomas. Nós mesmo, em trabalho feito anteriormente encontrámos para a variedade *vulgare* de *T. monococcum* tipos muito semelhantes. A fig. 26 dá a representação do ideograma encontrado numa planta testemunha, não sujeita à irradiação.

Kagawa determinou depois os tipos de cromosomas de alguns tetraploides. E para a discussão, que ora nos interessa, bastará citar as suas referências para o trigo *polonicum* e sobretudo para o *dicoccum*. Para o trigo *polonicum* aquele autor determinou além dos tipos 1, 2, 3, 4 e 5, consoante a sua terminologia para o *T. monococcum*, cinco tipos novos de cromosomas 2<sup>a</sup>, 6, 7, 8 e 9. Supoz Kagawa que os cromosomas do *T. polonicum*, são ligeiramente mais pequenos que os do *T. monococcum*. E supoz mais que isso deve resultar do facto de, no *T. polonicum*, o acréscimo de dimensões e do material nutritivo das células e núcleos não ser proporcional ao número de cromosomas.

Para o outro tetraploide, o *T. dicoccum* o mesmo autor citou além de quatro cromosomas que aparecem no *T. monococcum*, seis tipos novos (vidé fig. 26). Do mesmo modo Kagawa encontrou uma leve diminuição dos comprimentos no *T. dicoccum* em comparação com o que se passa no *T. monococcum*. E ainda determinou que só excepcionalmente para o tipo n.º 1 (fig. 26) o qual aliás nem sempre pôde ser bem identificado, só havia dois homólogos para cada tipo de cromosoma.

Apontemos apenas êstes dois casos de tetraploides, para não alongarmos muito as nossas referências, e vejamos como êles poderão ser vistos à luz desta contribuição dos efeitos dos raios-X.

Antes, de mais nada, devemos referir que nas plantas irradiadas do *T. monococcum*, entre diversos tipos de cromosomas que foram obtidos por translocações, encontrámos quatro que designaremos por A, B, C e D, e que nos interessam na presente discussão (fig. 26).

Se compararmos, agora, o ideograma que nós desenhámos, para a espécie diploide considerada, com os tipos de cromosomas encontrados por Kagawa para um tetraploide, *T. dicoccum*, e se intro-

duzirmos ainda nessa comparação os tipos novos induzidos, pelo tratamento dos raios-X, verificamos que as diferenças são tão pequenas que deixam de ser significativas.

Ora vejamos: os cromosomas 2, 4 e 6 encontram-se na constituição cromosômica do *T. dicoccum*. O cromosoma 1 pode ainda dizer-se que se encontra na mesma constituição tetraploide, visto que se há alguma diferença ela é apenas de dimensões, e essa diferença pode não ter significado algum. Mas vejamos mais. Segundo o trabalho de Kagawa ficavam por encontrar semelhanças para mais seis elementos. Ora o nosso estudo consegue agora mostrar a formação de quatro tipos novos de cromosomas. E não leva muito tempo a observar que estes quatro tipos de cromosomas, que para o caso citamos, não são mais do que os tipos 8, 9, 10 e 13.

Poder-se-há dizer que há diferenças significativas entre o cromosoma C dos tipos provenientes da irradiação e o n.º 10. Realmente, há uma diferença de dimensões no último membro. Mas, a nossa experimentação tem mostrado existirem, por vezes, diferenças similares no mesmo indivíduo. Os próprios resultados de Kagawa deram diferenças importantes para a posição das constrições secundárias. Enfim, parece que mesmo este último tipo de cromosoma deve ser tomado como a repetição do cromosoma n.º 10, como havíamos sugerido.

Não podemos, assim, pôr em dúvida de que pelos raios-X obtivemos os tipos de cromosomas que haviam sido já definidos anteriormente, por Kagawa, como característicos dos trigos tetraploides.

Claro está que a par destes cromosomas observámos muitos outros tipos que não ofereciam qualquer interesse à nossa comparação. Seleccionámos, evidentemente, entre todos esses elementos novos, aqueles que, mais de perto, se aproximavam dos cromosomas próprios dos tetraploides. Mas, como é compreensível, não é pelo facto de previamente termos procedido a essa escolha que as nossas conclusões têm menos interesse.

Pretendíamos, aqui, provar que os cromosomas dum trigo diploide poderiam originar toda a série de cromosomas dos trigos tetraploides, através dum simples processo evolutivo com base de fragmentações, translocações, e intercâmbios segmentários. Ora, a comparação dos diferentes tipos de cromosomas, em que nos empenhámos, estabelecendo confronto entre os tipos conhecidos dos tetraploides e os que foram produzidos pelos raios-X, prova, uma vez que as variações induzidas não representam mais que uma simples

repetição das variações naturais, que êsses tipos característicos dos tetraploides poderiam ter sido criados sem que intervesse qualquer cruzamento.

Por último, como que a reforçar esta concepção, há o facto verificado nos nossos ensaios, de só certos cromosomas sofrerem os efeitos dos raios-X, quando os seus homólogos permanecem intactos. Com efeito, esta circunstância parece ser altamente significativa, por vir explicar o aparecimento nos trigos tetraploides dum simples par de cada tipo de cromosomas.

### SUMÁRIO

1. Foram estudadas as diferentes variações cromosómicas obtidas no *Triticum monococcum*. L. var. *vulgare* Körn, em consequência do tratamento pelos raios-X.
2. As fragmentações numerosas que se observaram foram detidamente analisadas, de modo a poder determinar o ponto por onde se operava a rutura cromosómica.
3. A observação minuciosa, de casos repetidos dos mesmos tipos de fragmentação, levou a concluir que cada cromosoma apresenta determinados  *pontos críticos* de rutura.
4. Verificou-se, ainda, que os «loci» vizinhos das constricções primárias constituem os  *pontos críticos* mais frequentes. Admitiu-se assim, que o diâmetro é, de certo modo, responsável pela fragmentação.
5. O facto, sempre observado, das fragmentações dum cromosoma não serem acompanhadas de fragmentação similar do seu homólogo, reforçou a hipótese de que a irradiação produz condições especiais, não só nos cromosomas como no meio vizinho.
6. Observaram-se dois casos interessantes de fragmentação e delecção num único cromatídeo. Êste facto foi naturalmente interpretado como demonstração de que essas variações ocorrem após a clivagem própria dos cromosomas.
7. Apresentaram-se e discutiram-se novos elementos de confirmação à hipótese estabelecida sobre a impossibilidade de criação de novos corpos quinéticos.
8. Foram observadas, em número relativamente elevado, células tetraploides. Apareceram, ainda, mas muito raramente, células haploides.

9. Analisando-se os diversos casos de translocações operadas, mostrou-se que, entre os novos cromosomas produzidos neste trigo diploide, em resultado da irradiação, há alguns que anteriormente se haviam apontado como pertencendo exclusivamente aos tetraploides. Discutiu-se, finalmente, esta circunstância em relação ao significado que pode ter na apreciação da filogenia do género.

### AGRADECIMENTO

O autor agradece ao Instituto Português de Oncologia as facilidades que lhe concedeu para ser irradiado algum do material observado. E manifesta muito especialmente ao Dr. Côrte Real a sua gratidão pela grande gentileza com que sempre o atendeu, tanto naquele Instituto, como no serviço de Raios-X do Hospital de S. José, efectuando todos os tratamentos que foram necessários à execução dêste trabalho.

*Laboratório de Genética  
do Instituto Superior de Agronomia.  
Dezembro, 1934.*

## ENGLISH SUMMARY

1. Several chromosome variations induced by X-rays were studied by the writer in *Triticum monococcum*, L. var. *vulgare*, Körn.
2. Fragmentations were studied in a large number of cells in order to seek evidence as to the point on the chromosomes where the rupture occurs.
3. Some evidence was found that each chromosome has some *critical regions of rupture*.
4. As a result of careful measurements of numerous fragments it was concluded that the region next to the spindle fiber attachment constriction is one of those *critical regions of rupture*.
5. The fact always observed that fragmentation in one chromosome is not followed by a similar fragmentation in its homologous strengthens the assumption that irradiation produces special conditions in the chromosomes and in their environment.
6. Two different cases of abnormal unequal chromatids were found.
7. More evidence was adduced to support the conception that the number of kinetic bodies in a chromosome complement is constant.
8. A certain number of tetraploid and haploid cells were observed.
9. An analysis of the end-to-end fusions showed that amongst the new types of chromosomes produced after irradiation in this diploid wheat there are some chromosomes that in the past were pointed out as belonging only to tetraploid wheats. This matter was dealt with and its possible bearing on the phylogeny of the wheat was shown.

## BIBLIOGRAFIA

- CAMARA, (A. S.)—1954 — Um estudo citológico do *Triticum monococcum*, L. "Anais do Inst. Sup. de Agron.", VI; fasc. 2.º : 4-56.
- CHIZAKI—1933—On the occurrence of haploid plants in *Monococcum* wheat. Proc. Crop. Sci. Soc. Jap. 5 : 267-270.
- CLAUSEN, (J.) — 1931 — Cytogenetic and taxonomic investigations on *Melanium* violets. Hereditas 15 : 219-308.
- DOBZHANSKY (TH.)—1929—Genetical and cytological proof of translocations involving the third and the fourth chromosomes of *Drosophila melanogaster*. Biol. Zbl. Bd. 49 : H. 7.
- DELAUNAY, (LN.) — 1930—Röntgenexperimente mit Weizen. Wissenschaftl. Selektions. Institut. Kiew. 6 : 1-52.  
1931 — Die Chromosomenaberranten in der Nachkommenschaft von röntgenisierten Ähren einer reinen Linie von *Triticum vulgare albidum*. All. Zeits. f. ind. Abst. u. Vererb. Bd. LV.
- FLAKSBERGER, (K.)—1926—A contribution to the study of wild *Monococcum* and *Dicocum* and their phylogenetic connection with one another and with cultivated varieties. Bull. Appl. Bot. XVI, n.º 3.  
1928 — The Emmers (*Triticum dicocum*, Schr.) of Ancient Egypt and of modern times. Bull. Appl. Bot. Genet. Plant Breed. vol. XIX, n.º 1:497-518.
- GOODSPEED, (T. H.) and AVERY, (P.)— 1930 — Nature and significance of structural chromosome alterations induced by X-rays and Radium. Cytologia 1 : 308-327.
- HEILBORN, (O.)—1924— Chromosome numbers and dimensions, species formation and phylogeny in the genus *Carex*. Hereditas, 5 : 199-216.
- HOLLINGSHEAD, (L.) and BABCOCK, (E. B.)—1930—Chromosomes and phylogeny in *Crepis*. Univ. Calif. Pub. Agri. Sci. 6 : 1-53.
- HURST, (C. C.)—1925 — Chromosomes and characters in *Rosa* and their significance in the origin of species. Experiments in genetics. (Cambridge Univ. Press) 38 : 534-50.
- KAGAWA, (F.) — 1929 — A study on the phylogeny of some species in *Triticum* and *Aegilops* based upon the comparison of chromosomes. Journ. Coll. Agric. Imper. Univ. Tokyo X; 172-228.
- KATAYAMA, (Y.)—1934—Haploid formation by X-rays in *Triticum monococcum*. Cytologia 5 : 235-237.
- KIHARA, (H.)—1924— Cytologische und genetische Studien bei wichtigen Getreidearten mit besonderer Rücksicht auf das Verhalten der Chromosomen und der Sterilität in den Bastarden. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. Ser. B., 1 : 1-200.  
1930—Genomanalyse bei *Triticum* und *Aegilops*. Cytologia 1 : 263-283.  
1932—Über das Vorkommen von haploiden Pflanzen bei *Triticum monococcum*. Kwagaku, Tokyo, 2.
- KIHARA und LILIENFELD—1932—Untersuchungen an *Aegilops* × *Triticum* und *Aegilops* × *Aegilops* Bastarden. Cytologia 3 : 384-456.



- LA COUR, (L.) — 1931 — Improvements in everyday technique in plant cytology. Jour. Roy. Microsc. Soc. vol. LI: 119-126.
- LEWITSKY, (G. A.) and ARARATIAN, (A. G.)—1931—Transformations of chromosomes under the influence of X-rays. Bull. App. Bot. 27 (1): 265-303.
- MATHER, (K.) and STONE, (L. H. A.)—1933 — The effect of X-radiation upon somatic chromosomes. Jour. Genet. 28: 11-24.
- MELBURN, (M. C.) and THOMPSON, (W. P.) — 1927 — The cytology of a tetraploid wheat hybrid (*Triticum Spelta* × *T. monococcum*). Amer. Jour. Bot. vol. 14.
- MULLER, (H. J.)—1927—Artificial transmutation of the gene. *Science* 66: 84-87.  
1928—The problem of genic modification. *Zeit. ind. Abs. u. Vereb. Sup. Bd. 1*: 234-260.
- NAVASHIN, (M.) — 1926 — Variabilität des Zellkerns bei *Crepis* — arten in Bezug auf die Artbildung. *Zeit. f. Zellforsch. u. mikrosk. Anat.*, 2: 98-111.  
1931—A preliminary report on some chromosome alterations by X-rays in *Crepis*. *Amer. Nat.* 45: 244-52.
- NEWTON, (W. C. F.) and PELLEW (C.)—1929—*Primula Kewensis* and its derivatives. *Jour. Genet.* 20: 405-467.
- PAINTER, (T. S.) and MULLER, (H. J.) — 1929 — The parallel cytology and genetics of induced translocations and deletions in *Drosophila*. *Jour. of Hered.* 20: 287-298.
- PERCIVAL, (I.)—1921—The wheat plant. London.
- SAX, (K.)—1921—Sterility in wheat hybrids. I. Sterility relationships and endosperm development. *Genetics*, 6: 399-416.  
1922—Sterility in wheat hybrids. II. Chromosome behaviour in partially sterile hybrids. *Genetics*, 7: 513-552.  
1923—The relation between chromosome numbers morphological characters and rust resistance in segregates of partially sterile wheat hybrids. *Genetics*, 8: 301-21.
- SCHULTZ, (A.)—1918 — Der Emmer des Alter Aegyptens-Berichte. *Der Deutsch. Bot. Gessel.* 34: 697-709.
- STADLER, (L. J.) — 1929 — Chromosome number and the mutation rate in *Avena* and *Triticum*. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 15: 876-881.
- STONE, (L. H. A.)—1933—The effect of X-radiation on the meiotic and mitotic divisions of certain plants. *Ann. Bot.* 47: 815-826.
- SVESHNIKOVA, (L.)—1927—Karyological studies on *Vicia*. *Bull. of App. Bot. Genet. and Plant Breeding. XVII*: 37-72.  
1928 — Die genese des Kerns in Genus *Vicia*. *Verb. d. V. inter. Kong. f. Vereb. Berlin. Z. I. A. V. Suppt.* 2: 1415-1421.
- THOMPSON, (W. P.)—1926—Chromosome behaviour in triploid wheat hybrids. *Jour. Genet.* 17: 43-8.
- TUMANYAN, (M.) — 1930 — Wild einkorns and Emmers in Armenia. *Bull. Appl. Bot. Genet. and Plant Breeding, XXIV*: n.º 2.  
1934—The botanical diversity of the wild wheats in Armenia. *Bull. Appl. Bot. Genet. and Plant Breeding. Series V, n.º 2*: 241-68.
- VAVILOV, (N. I.)—1926 — Studies on the origin of cultivated plants. *Bull. Appl. Bot. and. Plant Breed XVI*: 1-245.
- WATKINS, (A. E.)—1930 — The wheat species: a critique. *Jour. Genet.* 23: 173-263.
- WINGE, (O.)—1917—The chromosomes—their numbers and general importance. *Compt. Rend. Trav. Lab. Carlsberg.* 13: 131-275.