

Elementos para o estudo da Indução de poliploides no Trigo

POR

A. CAMARA

Professor do Instituto Superior de Agronomia

1. Introdução

Em trabalho anterior (Câmara, 1935, a), ao referir-mo-nos às técnicas do futuro no «*melhoramento das plantas*», citámos a «indução de poliploides» como uma das mais interessantes e mais prometedoras.

Consiste esta nova técnica em produzir artificialmente tetraploides, partindo de diploides normais, ou em criar indivíduos cuja constituição cromosómica seja dupla da constituição normal, própria da espécie que se considera.

É um facto conhecido que existem, por vezes, diferenças bem marcadas entre indivíduos diploides e tetraploides. O que se passa com o trigo, por exemplo, parece ser bastante significativo. Emquanto os diploides são de porte diminuto e de baixa produção, quasi sem valor cultural, os tetraploides representam um dos grupos de maior interesse económico. E se este exemplo pode ser discutido, pois tudo leva a acreditar que no género *Triticum* os tetraploides não derivaram dos diploides, por simples duplicação da série básica de cromosomas, outros exemplos mais expressivos se poderiam invocar. Há numerosas plantas gigantes, bem conhecidas, que não devem o caracter—«*gigantismo*»—senão à sua condição tetraploide. A variedade *gigas* da *Oenothera lamarckiana*, que surgiu entre as culturas de De Vries e de outros investigadores de *Oenothera*, tem 28 cromosomas, em vez de 14 que é o número próprio da espécie. Da mesma maneira muitas das plantas ornamentais, dotadas de grande desenvolvimento, devem a sua

superioridade, em relação às espécies bravas, a possuírem quatro séries de cromosomas em lugar de duas. Assim, as mais famosas roseiras são deste tipo—tetraploides. A variedade *Korolkowii*, por exemplo, deriva da Roseira de Himalaia, a «*Rosa macrophylla*»; assemelha-se extremamente à planta original, apenas difere dela no desenvolvimento que é incomparavelmente superior. Da mesma forma a bem conhecida Campânula «*Telham Beauty*» não é senão um tetraploide que proveio da *Campânula persicifolia*.

Os tetraploides são por assim dizer uma *ampliação* dos diploides. Duma maneira geral, podemos mesmo afirmar que os tetraploides, desde que resultem da simples duplicação da série básica de cromosomas, isto é, desde que sejam AUTOTETRAPLOIDES, segundo a expressão de Kihara e Ono, só acusam diferenças morfológicas ou fisiológicas «quantitativas». Os exemplos bem conhecidos de autotetraploides, como os do *Solanum lycopersicum* e *nigrum* (Winkler, 1916, Jorgensen, 1928, Lindstrom e Koos, 1931, Kostoff e Kendall, 1934), *Datura stramonium* (Belling e Blakeslee, 1924) e *Primula sinensis* (Keeble, 1912) traduzem claramente essa «ampliação» ou representação agigantada dos caracteres.

As características usuais dos tetraploides—maior robustez das plantas, fôlhas mais largas e mais espessas, flores e frutos maiores—poderiam citar-se para muitos outros indivíduos. Mas os exemplos referidos já bastam para se compreender o alcance prático que pode ter esta variação, o *poliploidismo*, quando ela puder ser provocada artificialmente.

O poliploidismo nas células somáticas das plantas, especialmente nos vértices vegetativos das raízes, tem-se obtido à custa de tratamentos vários, como pela elevação de temperatura, por feridas e até pela acção do hidrato de cloral e sulfato de quinino (Nemec, 1904, 1910).

Está averiguado ainda que determinadas plantas têm uma certa instabilidade em manter o *diploidismo* das suas células. Encontram-se, por vezes, manchas de células tetraploides, as quais podem naturalmente originar rebentos que serão inteiramente desta condição cromossômica. O caso do tomateiro é especialmente interessante como exemplo desta possibilidade de criar tetraploides, por simples mutações somáticas. Verificou-se (Sansome, 1930) que no tecido cicatricial, obtido depois de enxertia, de tomateiros diploides, se formam por vezes rebentos tetraploides, por simples mutações somáticas. Determinou-se

mesmo mais (Sansome e Zilva, 1933) que as plantas tetraploides obtidas desta maneira, além de apresentarem as características vulgares dos indivíduos tetraploides—maiores dimensões, maior robustez, maior produção—tinham os frutos mais ricos em vitaminas.

Como é evidente a constituição tetraploide pode aparecer espontaneamente. Conhecem-se plantas de milho, por exemplo, que são naturalmente tetraploides. Mas parece que nem tôdas as plantas se sujeitam da mesma maneira a esta variação. Enquanto umas são susceptíveis ao tetraploidismo, há outras que são extremamente renitentes à duplicação natural da série básica dos cromosomas. O género *Crepis* constitui uma boa demonstração do primeiro caso. Efectivamente vários investigadores mostraram que êste género tem uma tendência acentuada para que as espécies diploides mostrem, nas suas descendências, uma certa percentagem de poliploides. Navashin (1931) determinou, por exemplo, que numa população normal de *Crepis tectorum* havia nada mais nada menos que 0.5 % de indivíduos triploides e tetraploides.

É natural que o tetraploidismo não seja outra coisa senão uma forma de reacção da planta a certos factores externos. Sabe-se, com efeito, que uma geada é capaz de suspender temporariamente as divisões nas células mãis de pólen, e originar assim algumas gametas em que o número de cromosomas é duplo do das células normais.

De Mol (1929) descobriu que muitos dos tipos aberrantes cromosómicos, das plantas bulbosas, resultavam do costume mais ou menos generalizado de secar os bolbos depois da floração. Êste sistema traduzia-se em sujeitar êsses indivíduos a temperaturas muito diversas, quando se formavam células germinais, o que originava várias anomalias nas divisões meióticas.

As plantas de trigo, quando se sujeitam a temperaturas altas ou baixas no momento da floração, conforme relatou Bleier (1930), apresentam muitos grãos de pólen com 2 e 4 vezes o número de cromosomas.

Finalmente os raios X parecem ser um agente poderoso para duplicar as séries de cromosomas. Embora se tenha pôsto em dúvida a sua utilização (Mather e Stone, 1933), assiste-se, por vezes, e com relativa freqüência, à produção de células tetraploides (Câmara, 1935, b).

Conhecendo-se estes casos, era natural que se procurasse tirar partido, dos vários agentes estudados, para induzir as condições poliploides, nas plantas de maior interêsse agrícola.

Em 1932, Randolph apresentou alguns efeitos que as temperatu-

ras elevadas exercem sobre o poliploidismo no milho. Desde então vários investigadores se têm preocupado com este facto, a-fim-de se obterem resultados práticos no melhoramento das plantas de maior valor económico.

Assim, numa revisão, dos novos métodos de melhoramento, Hudson (1933) referia-se à importância desta questão, afirmando que ela deveria ter no futuro um largo alcance prático.

Sabemos, contudo, que nem todas as plantas se comportam da mesma maneira, perante os diversos tratamentos. Assim, enquanto o milho e as cevadas parecem ser plantas relativamente fáceis de alcançar a duplicação cromosómica, o trigo apresenta-se como extremamente resistente a essa duplicação, desanimando os diversos investigadores que a têm tentado.

Não se conhecendo ainda nada sobre as razões desta diversidade, poderia parecer curioso analisar efeitos de determinados tratamentos em plantas reconhecidamente autopoliploides e confrontá-los depois com os verificados em plantas nitidamente aloploides. Poderia ser efectivamente que a existência de séries diversas de cromosomas ou a ocorrência remota de variações profundas, na constituição dos diversos elementos, fossem responsáveis pela relutância manifestada, por certas plantas, em duplicarem a sua constituição cromosómica.

Foi esta concepção que nos levou primeiro a tentar a obtenção de poliploides no género *Triticum*, partindo quer dos diploides quer dos alotetraploides. Depois reconhecendo que a obtenção de octoploides a partir de tetraploides, trigos rijos e túrgidos, conduziria necessariamente à produção de formas de inestimável valor cultural, cuidámos de desenvolver estes trabalhos. Já não era pois, exclusivamente, um objectivo de ciência pura que nos movia, mas um objectivo utilitário.

Ajuízam-se antecipadamente as vantagens dos trigos de constituição $8n$, visto que se conhece perfeitamente o valor que os trigos $4n$ têm nas regiões meridionais, sujeitas a condições climáticas severas.

A duplicação da série completa dos cromosomas não conduz a efeitos excepcionais num único ou em poucos caracteres. Todo o indivíduo é forçosamente afectado, visto que cada célula tem o número duplo de cromosomas e portanto cada gene há-de ser representado quatro vezes. Se os trigos rijos têm genes de acentuada resistência à secura, por exemplo, é intuitivo que a condição tetraploide deve exaltar essa boa faculdade. E do mesmo modo se devem sentir efeitos em todos os caracteres, quer eles sejam apreciados ou prejudiciais.

Não se cuidava evidentemente de obter plantas gigantes, visto que o gigantismo, para o caso especial do trigo, não pode representar um carácter útil. Demais nem tôdas as duplicações cromosómicas se traduzem nessas características. Nos milhos, por exemplo, o grande desenvolvimento só aparece em certos órgãos vegetativos. Em geral, conforme relata Randolph (1935), os milhos tetraploides não diferem marcadamente dos diploides no aspecto geral das plantas. Têm aproximadamente a mesma altura e um desenvolvimento similar. Sòmente os colmos são mais grossos, as fôlhas mais largas e mais espessas e as panículas e espigas maiores. Um caracter importante nestes tetraploides e que entusiasma os «melhoradores» é que o grão é maior e consideravelmente mais pesado. Segundo calcula Randolph o acréscimo do pêso do grão, correspondente à duplicação cromosómica, é de 50 % aproximadamente.

O objectivo essencial que visávamos era obter plantas que tivessem, a par duma maior resistência fisiológica às condições adversas, uma maior produtividade. E parecia que os resultados obtidos no milho nos davam algumas esperanças. Pretendíamos ainda, caso falhassem as nossas tentativas, inteirarmo-nos do motivo porque os trigos oferecem dificuldades à criação de poliploides e averiguar se porventura a sua origem alopoliploide pode intervir de qualquer maneira nesse procedimento particular.

2. Material e Técnicas

Não se trataram só trigos tetraploides. Julgou-se vantajoso, para analisar as diversidades de comportamento, tratar também trigos diploides.

O material utilizado foi:

- Trigo Escanha (*Triticum monococcum*, L. var. *vulgare*, Korn.)
- » Lobeiro (*T. durum*, Desf. var. *leucurum*, Korn.)
 - » Rubião (*T. turgidum*, L. var. *speciosum*, Korn.)
 - » Bagudo (*T. turgidum*, L. var. *pseudo-mirabile*, Perc.)

Como tratamentos utilizaram-se temperaturas elevadas, tanto após a germinação como durante a divisão reductora.

Os primeiros tratamentos executaram-se com temperaturas variáveis, segundo as diversas modalidades que se julgaram convenientes.

tes. Depois adoptou-se apenas uma única modalidade, visto ter-se conhecido que seria mais vantajoso acumular vasto material duma única experimentação, do que juntar pouco material de numerosos tratamentos.

Procedeu-se da seguinte maneira. Primeiramente promovia-se a germinação das sementes em placas Petri. Logo que as radículas apareciam, submetiam-se as plantas a elevadas temperaturas. Estas



FIG. 1

eram de 43° C. e os tratamentos executavam-se em quatro dias seguidos, durante períodos de duas horas.

As sementes enterravam-se depois e vigiava-se a vegetação das plantas a que davam origem. Mais tarde procedia-se à transplantação, colhendo-se então as radículas necessárias ao estudo. Como fixadores, usámos vários com base de formol, ácido crómico e ácido acético. Estes fixadores, embora não dêem contornos precisos, como os que vulgarmente obtemos neste Laboratório, segundo a técnica que apli-

camos para analisar os cromosomas somáticos do trigo, são perfeitamente satisfatórios para simples contagens.

As radículas, depois de fixadas, eram sujeitas ao método usual de desidratação, inclusão, corte e coloração.

A técnica adoptada para o aquecimento, feito durante a divisão redutora, é um pouco mais delicada. Geralmente, os vários investigadores costumam levar as plantas a estufas adequadas, onde se submetem ao calor desejado. No entanto, havendo conveniência em aquecer apenas a região onde se encontra a espiga, que na fase da divisão redutora está ainda dentro do colmo, a distância variável da última fôlha, conforme a planta que se considera e a maneira como correu o tempo, torna-se bastante difícil executar o tratamento. Costuma-se abrir orifícios nas paredes das estufas, orifícios por onde depois se fazem passar os colmos até à altura desejada. Mas parece-nos que este sistema não é muito aconselhável. Supomos que seria mais vantajoso aquecer as plantas em pleno campo e apenas na região restrita da espiga.

Para isso desenhámos uma pequena estufa eléctrica, que foi depois construída no nosso Instituto e que nos deu satisfação completa (fig. 1). A estufa era cilíndrica e apresentava uma pequena câmara de aquecimento. Esta câmara tinha duas tampas móveis furadas, de modo que a colocação da planta se tornava extremamente simples. Para facilitar o alinhamento da planta e a disposição da estufa ao nível desejado, ela era munida dum tripé. Finalmente era completada por um termo-regulador do tipo construído na oficina do Instituto.

O colmo da planta era introduzido na câmara de aquecimento à altura da turgescência da espiga. Esta era portanto a única região da planta, exclusão feita duns dez centímetros aproximadamente para cima e para baixo da zona tratada, que recebia o calor. Aconchegava-se depois o colmo às tampas móveis daquela câmara por meio de simples tampões de algodão.

As temperaturas adoptadas foram variáveis, entre 48° C. e 58° C. Os elementos de que dispomos não são ainda de molde a orientar-nos sobre as temperaturas mais convenientes. Pareceu-nos, contudo, que não havia proporcionalidade entre os efeitos e a energia do tratamento. Mas ainda nada podemos afirmar com segurança.

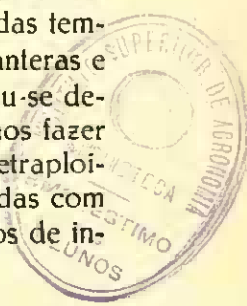
A indecisão em que estamos é grande sobre o efeito das temperaturas elevadas na divisão meiótica. Fôsse por qualquer êrro experimental que passou despercebido, ou fôsse porque por qualquer factor interno da própria planta que permita aos indivíduos reagirem de

maneiras distintas, aos mesmos tratamentos, não conseguimos precisar quais eram as temperaturas mais convenientes nem quais eram os melhores tempos do tratamento.

Temos de salientar aqui que este trabalho é um simples relato preliminar de algumas das nossas experiências nos últimos dois anos. Apenas queremos dar conta do que fizemos e do que observámos, para registar as nossas investigações e para servir de ponto de partida a trabalhos mais detidos do nosso Laboratório.

As imperfeições da técnica inicialmente estabelecida, as dificuldades do trabalho executado em pleno campo, para exercer os tratamentos térmicos, a complexidade sentida na observação posterior dos efeitos operados na divisão meiótica, levaram-nos a procurar trabalhar com mais cuidado uma planta favorável sob este ponto de vista. Por estas razões, trabalhámos sobre «*Aloë arborescens*», planta a que freqüentemente temos recorrido neste Laboratório, para estudar vários factos ligados à mecânica da meiose. Encontrámos assim elementos que parecem dar-nos algumas indicações valiosas para as investigações em causa. (Câmara, 1935, c.).

De algumas plantas aquecidas, pelo segundo sistema, estudaram-se células mãis de pólen, a-fim-de determinar os efeitos das temperaturas durante a meiose. Fizeram-se então esfregaços de anteras e fixaram-se no bem conhecido fixador de La Cour 2BD. Seguiu-se depois a técnica ordinária da coloração de Newton. Só pudemos fazer esfregaços definitivos de pouco material de trigos diploides e tetraploides. Entretanto, como se observaram numerosas células coradas com carmim acético, parece que colhemos os suficientes elementos de informação para este primeiro estudo.



3. Observações e Discussão

Em primeiro lugar daremos conta dos resultados observados nas células somáticas após o tratamento térmico.

Realizado o exame, às diversas secções das plantas estudadas, reconheceu-se que, em todos os casos, havia aparecimento de condições cromosómicas duplas das normais. Mas emquanto nas cevadas, que tratámos a título de curiosidade, e como testemunhas, este número era bastante elevado, no *Triticum monococcum* era reduzido, e nos trigos tetraploides êle era extremamente baixo.

Nos trigos diploides encontram-se não só células tetraploides disseminadas entre células normais (fig. 2), como se encontram verdadeiros sectores tetraploides. Não encontramos no nosso material um único caso de tetraploidismo completo para toda uma raiz. Mas chegámos a encontrar sectores de extensão apreciável.

Nas cevadas parece ser relativamente simples a indução do poliploidismo, a avaliar pelo número de células tetraploides, obtidas após o tratamento pelo calor. Neste caso ainda não conseguimos ver, entre as plantas tratadas, uma raiz inteiramente tetraploide. Mas a extensão dos sectores era muito maior que nos trigos diploides.

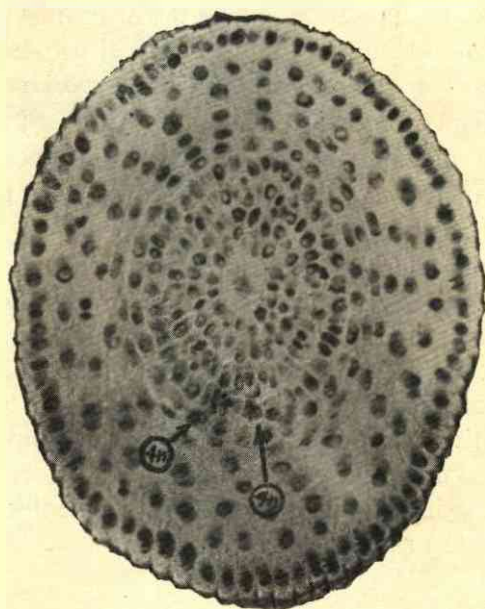


FIG. 2

Finalmente nos trigos de constituição $4n$ o comportamento parece ser muito diverso. Há casos em que se assiste à formação de numerosas células octoploides (fig. 3). Noutros, porém, não se observa uma única, devendo notar-se que se trata dos mesmos indivíduos, da mesma linha pura, e sujeitos aos mesmos tratamentos.

Entre os efeitos manifestados pelas plantas deve notar-se em primeiro lugar a esterilidade. No *Triticum monococcum*, sobretudo, este aspecto é muito para considerar. Cerca de 25 % das plantas eram estéreis. Algumas, raras, não atingiam a maturação.

Nos trigos tetraploides observam-se também efeitos secundários que merecem referência. No trigo Bagudo, por exemplo, verificou-se, como primeira conseqüência, o exagêro da pubescência. Em segundo lugar reconheceu-se que era muito mais acentuado o caracter ramoso. Algumas espigas dêste trigo pareciam mesmo tão ramificadas como as mais características do *T. turgidum*, var. *pseudo-cervinum* ou do *T. turgidum*, var. *mirabile*.

Não são novos estes efeitos secundários fenotípicos das elevadas temperaturas. Há muito que êles foram estudados na *Drosóphila melanogaster*, de modo que já se conhece a influência que o calor

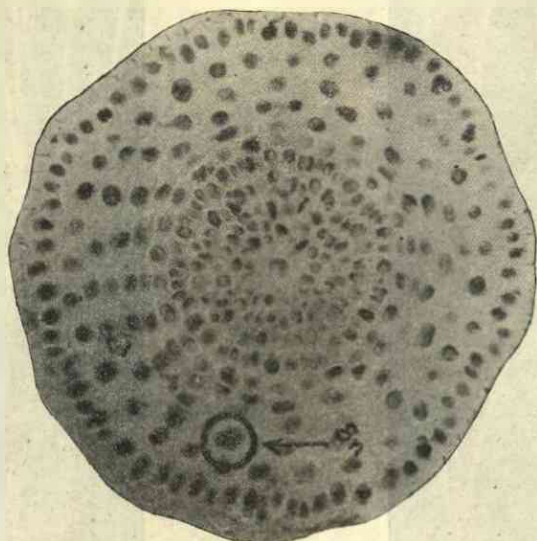


FIG. 3

pode exercer na exaltação de certos caracteres. Nós próprios já havíamos chamado a atenção para certas modificações ocorridas na *Drosóphila pseudo-obscura* depois da acção do calor (Câmara, 1934).

Ainda encontrámos um tetraploide, um trigo Lobeiro, que apresentava um caso interessante de ramificação do colmo, uns vinte centímetros acima da terra (figs. 4 e 5). A espiga desta ramificação era perfeitamente normal; a outra contudo além de ser muito maior, com cêrca de 18 cm. de comprimento, apresentava um certo número de anomalias (fig. 6). O alongamento da espiga, as maiores dimensões das

glumas, o alongamento do dente apical foram características que chamaram a atenção, por poderem sugerir que se tratava duma planta octoploide, isto é da planta que trouxesse a condição procurada. Devemos notar que o colmo da maior espiga era mais alto e mais forte e que as fôlhas desta planta eram também mais largas e



FIG. 4

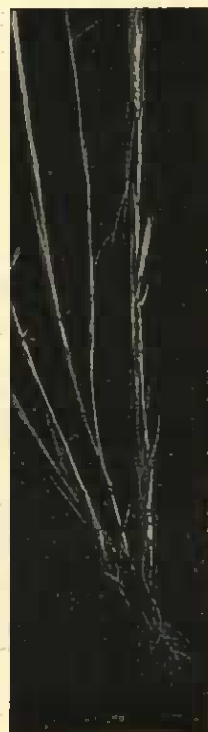


FIG. 5

mais espessas, enfim características que poderiam fazer supor tratar-se da duplicação cromosômica.

Embora a esterilidade dêste indivíduo, na espiga anormal, fôsse muito acentuada, criaram-se alguns grãos, de maneira que se puderam estudar os cromosomas das suas células somáticas. Os resultados destas nossas observações parecem ter algum interêsse. São êsses resultados que seguidamente referimos.

Algumas células eram nitidamente octoploides (fig. 7), outras

tetraploides e algumas apresentavam numerosos fragmentos. É indispensável acentuar que só se observaram metafases nitidamente mergulhadas no plasma, deixando-se larga folga para um e outro lado da focagem, de modo a não se cometerem erros na apreciação de cortes de cromosomas. Notaram-se fragmentos em certas células e ainda se verificou que estes fragmentos se dispunham geralmente na



FIG. 6



FIG. 7

periferia dos núcleos estudados. Parece que este fenómeno da fragmentação é raro. De facto nos trigos diploides só encontramos um único caso e nos tetraploides à parte o relatado, daquela espiga anormal, não conseguimos observar nenhum.

As células octoploides daquela planta não eram bastante numerosas. Em contrapartida as secções evidenciavam uma actividade mitótica perfeitamente excepcional. Enquanto as plantas tetraploides

normais, que tomámos para testemunhas, não mostravam senão raras divisões, e isto em idênticas condições de fixação, às mesmas horas e com os mesmos fixadores, esta planta apresentava um número elevadíssimo de divisões.

Finalmente resta-nos apontar alguns dos resultados colhidos na meiose. Parece que estes devem atrair mais a atenção pois que a maneira mais usual de se criarem poliploides é a partir de anomalias verificadas na meiose.

Como dissemos efectuámos esfregaços para estudar a acção da temperatura e para precisar a ocasião mais conveniente em que deveria ser realizado o tratamento.

Tivemos a preocupação de submeter as plantas ao calor em várias fases: 1) quando as inflorescências ainda estavam longe da divisão redutora; 2) quando atingiam a profase da primeira divisão; e 3) quando se completavam as segundas divisões.

Só colhemos dados citológicos, por razões bem compreensíveis, do primeiro e segundo tratamentos.

No *Triticum monococcum*, as metafases da 1.^a divisão, quando se procedia à preparação de esfregaços decorridas poucas horas depois do tratamento, apresentavam algumas anomalias. A anormalidade consistia, primeiro, em os cromosomas se agregarem em uma massa de contornos imprecisos. Depois quando se demorava a fixação, isto é quando decorriam alguns dias sobre o tratamento, verificava-se um acréscimo no número de quiasmata totais. Estudadas numerosas células, parecia que o acréscimo de frequência do quiasmata era estatisticamente significativo. No entanto, algumas células que tivemos de pôr de parte por parecerem excepcionais apresentavam em lugar dum acréscimo uma diminuição sensível. Em algumas delas o número de quiasmata totais passava por exemplo de 15, que era aproximadamente o normal, para 10. Sendo frequente, em células normais, dois e três quiasmata terminais, por cada bivalente, essa condição já não se verificava em algumas plantas aquecidas.

Quando se demorava ainda mais a fixação parecia que as células voltavam à normalidade.

Nunca encontramos nas meioses dos trigos diploides, nas metafases da 1.^a divisão, casos de tetraploidismo. Algumas vezes observavam-se cromosomas dispersos na placa equatorial ou no fuso sem se emparelharem. Esta circunstância parece explicar-se pela ocorrência de variações cromosómicas que tivessem conduzido à perda da ho-

mologia sem elementos. Encontramos o mesmo facto em alguns trigos tetraploides, depois de sujeitos a tratamentos antecipados, mas muito enérgicos.

No nosso material observámos por vezes células haploides, e isto tanto em trigos tetraploides como em diploides.

Como se sabe têm aparecido ocasionalmente indivíduos haploides nos géneros *Triticum*, *Crepis*, *Oenothera*, *Solanum*, *Nicotiana*, *Oryza*.

Até agora, embora estudássemos numeroso material, só encontramos células haploides e nunca observámos indivíduos desta condição. Entretanto, parece-nos que a existência de *T. monococum* haploide, como o criado por raios X por Kihara e Katayama (1932), autoriza a supor que o aparecimento repetido dessas células no nosso material poderia criar as mesmas constituições.

O nosso interesse foi chamado principalmente para as células haploides dos trigos $4n$. Sabendo nós que estes trigos além duma série de cromosomas *A*, idêntica à dos trigos diploides, possuem uma outra série *B*, diferente daquela, pretendemos estudar os tipos de cromosomas que surgiram nas células haploides a fim de determinar se se tratava da série *A*, se da série *B*, se de elementos de ambas, o que parecia mais natural. Infelizmente com as fixações obtidas, tendentes apenas a obter uma contagem fácil, não conseguimos fazer com o necessário rigor essa determinação. Para esse efeito teríamos de recorrer a um constritor, como o hidrato de cloral, e seguir a técnica usualmente adoptada neste Laboratório, para a identificação dos cromosomas do trigo.

É cedo ainda para se discutirem os motivos que determinam a produção dos poliploides. Os elementos de estudo que acumulámos são insuficientes para emprender tal obra. Demais são muito diversas e muito numerosas as hipóteses alvitadas para explicar o poliploidismo.

É compreensível que este fenómeno tenha de derivar ou da duplicação dos cromosomas ou de anomalias ocorridas na meiose. Darlington (1930), concebeu a origem dessas anomalias segundo quatro modos diversos:

1. Pela diminuição de actividade na 1.^a ou 2.^a divisão.
2. Pelo facto dos cromosomas se dividirem equacionalmente duas vezes.

3. Pelo *sindiploidismo* ou seja pela formação de células germinais femininas binucleadas.
4. Pela supressão completa da 1.^a divisão.

A primeira circunstância apontada dá-se pelo abandono de cromosomas entre os dois polos, de tal modo que se estabelecem traços de união entre os dois núcleos filhos. Isto impede a formação de dois núcleos distintos. Claro que êste abandono de cromosomas pode resultar, na primeira divisão, da quebra de emparelhamento. Ora, esta deriva da falta de homologia dos cromosomas. Parece então que se a temperatura é capaz de realizar estas condições, como verificámos, ela poderá produzir o estado necessário à primeira circunstância referida e portanto induzir a duplicação cromosômica.

O caso dos cromosomas se dividirem equacionalmente duas vezes parece ser muito pouco vulgar. Contudo, observámos esta divisão não só em células germinais como em células somáticas. A nossa experiência, sôbre trigos, tem mostrado mais que o hidrato de cloral — o constritor a que frequentemente recorremos — é bastante eficaz para realizar esta divisão supranumerária. Da mesma maneira em trigos tratados por raios X verificámos a produção de células tetraploides por fendilhamento secundário, criando cromosomas mais delgados que os normais.

Ainda a condição do sindiploidismo surgiu no nosso material. A consequência dêste fenómeno traduz-se em que se produzem gametas diploides. Ora, nos trigos escanhas observados, verificámos alguns casos de sindiploidismo.

Multiplicaram-se as observações nos trigos tetraploides a ver se conseguíamos notar a constituição $4n$ nas células germinais. Mas a-pesar-da massa importante de material que estudámos nunca pudemos observar tal constituição.

Finalmente, a quarta condição, da supressão completa da primeira divisão, não foi observada nos trigos diploides nem nos tetraploides. Devemos, no entanto, referir que vários gametas aneuploides se formaram, em resultado de qualquer condição que não pudemos precisar.

Como se compreende não é fácil apurar as razões dêste mecanismo. E não é fácil, porque o fenómeno é bastante raro e decompõe-se em tantos aspectos que necessariamente hão-de exigir numerosas explicações.

Parece mais simples discutir a duplicação somática. Em muitas

células $4n$ que tivemos ensejo de observar, no T. monococum, parecia que essa condição resultava da fusão de 2 núcleos ou da ausência da parede celular que deveria existir entre êles.

Já Mather em 1933 se inclinava para explicar a origem dos rebentos tetraploides, no tecido cicatricial, obtido depois da enxertia de tomateiros diploides, pelo facto de se não estabelecer a parede celular referida.

No entanto, esta noção da duplicação somática parece complicar-se pelo facto, revelado por Kostoff e Kendall (1932), das plantas de tomateiro infectadas com *Bactéria tumefaciens* originarem tumores, dos quais irrompem alguns rebentos tetraploides.

É evidentemente complexo este facto. Embora seja correntemente interpretado, como derivando de modificações profundas do conteúdo celular, não se compreende bem tal explicação pois que há casos bem conhecidos de plantas aparentemente normais produzirem espontâneamente as mesmas variações no número de cromosomas. Gustafsson (1932) referiu, por exemplo, que em *Taraxacum vulgare* ($2n = 24$) se nota às vezes o aparecimento de células mãis de polen com números variáveis de cromosomas, indo desde 24 até 76.

Parece que os autotetraploides obtidos experimentalmente não são outra coisa que a repetição dos casos naturais de autotetraploidismo. Apenas se julga que os processos da variação experimentam uma aceleração considerável sob a acção dos diversos agentes utilizados.

Desta maneira afigura-se-nos que seria de grande utilidade comparar o comportamento dos autotetraploides experimentais com o dos naturais.

Embora se tenha afirmado que êstes últimos poliploides apresentam algumas diferenças, em relação àqueles, não parece que essas dissemelhanças tenham algum significado. Diz-se, por exemplo, que os autotetraploides experimentais, são, por via de regra, muito menos férteis que os naturais; e realmente parece haver um perfeito contraste entre a fertilidade duns e doutros.

Entretanto, em nosso critério, se analisarmos bem as razões dessa diferença, acabaremos por reconhecer que ela é menos importante do que habitualmente se julga.

Darlington atribui a redução de fertilidade nos autotetraploides artificiais (1933) a irregularidades meióticas causadas pela produção de tetravalentes. Mas há numerosas circunstâncias que nos levam a não poder aceitar esta explicação. Com efeito Lindstron e Koss (1931) re-

ferem-se ao caso dum tomateiro tetraploide que, não obstante sofrer uma esterilidade notável, tinha uma meiose perfeitamente normal. Ainda Honing (1928), ao analisar uma *Canna aureo-vitata* tetraploide, pôde observar um caso de degenerescência da meiose que nada tinha de comum com a produção de tetravalentes. Os próprios resultados de Upcott (1935), embora acusem NÃO-DISJUNÇÕES em tetravalentes, não podem confirmar a explicação de Darlington, visto que o número de grãos de pólen funcionais que se obtinham depois destas anomalias eram ainda suficientes para fecundar todos os óvulos. Assim, parece que não há possibilidades de explicar a diferença de comportamento senão por perturbações fisiológicas da reprodução. Ora, estas têm naturalmente de depender da constituição génica dos indivíduos.

Na duplicação cromosómica obtém-se, como já dissemos, a ampliação dos bons e maus caracteres dos diploides. Evidentemente, se um dado indivíduo tem genes de esterilidade, a condição tetraploide que ela poderá originar, há-de ser de esterilidade mais acentuada. Parece assim que se os tetraploides se sujeitarem a uma selecção intensa, se verificará a eleição das formas mais vantajosas, isto é daquelas que evidenciam maior fertilidade. A selecção natural, como é intuitivo, deve ter exercido uma acção enérgica nos tetraploides naturais, apurando os mais férteis. Não deve portanto admirar que os poliploides artificiais, obtidos em pequeno número, constantemente vigiados e protegidos pelos «melhoradores», escapem à obra da selecção natural, e possam ser assim mais estéreis que os naturais.

Como se compreende esta circunstância não constitui uma característica diferencial dos autotetraploides experimentais e naturais. É apenas um resultado da selecção natural e nada mais.

Dadas as semelhanças existentes entre os autotetraploides artificiais e os naturais, parece que se deveria cuidar de apurar a origem destes para esclarecer a daqueles. Sòmente são tão numerosas as hipóteses aventadas sòbre a origem dos poliploides, que é natural ficar-se indeciso, sem se saber como os artificiais poderão ser explicados. A revisão feita por Heilborn (1934) conduz-nos exactamente a esta indecisão.

No entanto, não se tendo preocupações de definir, nos seus promenores, a origem, e procurando apenas marcar directrizes de trabalho, na indução de poliploides, que de certa maneira se ajustem à origem esponlânea dos autotetraploides, bastará frisar que estes derivam ou da duplicação somática ou da quebra de redução na gametogenese. É evidente que a condição do autotetraploidismo só poderá

realizar-se quando se dêem estas condições e ainda quando houver possibilidades de autofecundação ou condições favoráveis dos cromosomas que permitam a meiose regular dos poliploides. Claramente, se falhar uma destas condições, conforme acentuou Heilborn, o referido poliploidismo será difícil ou mesmo impossível.

Conhecendo-se êstes factos, poder-se-hão atribuir os resultados negativos, obtidos nos tetraploides do género *Triticum*, não a deficiências técnicas, da experimentação, mas a qualquer condição própria do material que impeça a duplicação cromosómica procurada.

BIBLIOGRAFIA

- BEADLE, G. W.—1931—A gene in maize for supernumerary cell divisions following meiosis. Cornell Univ. Agri. Expt. St. Memo. 135 : 1-23.
- BELLING, J. and BLAKESLEE, A. F.—1924—The distribution of chromosomes in tetraploid *Daturas*. Amer. Natur. vol. LVIII : 60-70.
- BLEIER, H.—1930—Experimentell-cytologische Untersuchungen I. Einfluss abnormale Temperatur auf die Reduktionsteilung. Zeits. f. Zellf. a. mikr. Anat. 11 : 218-236.
- CAMARA, A.—1934—Produção de mutações na "*Drosophila pseudo-obscura*", por meio de temperaturas elevadas. An. Inst. Sup. Agronomia, vol. VI (2) : 7-31.
- 1935, a—Novos horizontes no melhoramento das plantas. Agros II série (5) : 196-218.
- 1935, b—Efeitos dos raios X nos cromosomas do *Triticum monococcum*. Sua análise na apreciação da filogenia do Trigo. An. Inst. Sup. Agronomia, vol. VII (1) : 5-38.
- 1935, c—Influência das temperaturas elevadas na meiose do *Aloë arborescens*. Rev. Agronómica, 25 (2) ; 280.
- DARLINGTON, C. D.—1930—Studies in *Prunus*. Jour. of Genet. 22 : 65-93.
- 1932—Recent advances in Cytology. London.
- DE MOL, W. E.—1929—The originating of diploid and tetraploid pollen-grains in Duc van Thol tulips (*Tulipa suaveolens*) dependent on the method of culture applied. Genetica 11 : 119-212.
- GUSTAFSSON, Å.—1932—Spontane Chromosomenzahlerhöhung in Pollenmütterzellen und die damit verbundene Geminibildung. Hereditas 17 : 100-14.
- HEILBORN, O.—1934—On the origin and perservation of polyploidy. Hereditas 19 : 233-242.
- HONING, J. A. - 1928—*Canna* crosses. II. The chromosome numbers of *Canna glauca*, *C. glauca* × *indica* F₁, *C. aureo-vittata* and *C. aureo-vittata* gigas—Mededeelingen van de Landbouwhoogeschool at Wageningen. vol. 32 : 1-14.
- JORGENSEN, C. A. — 1928—The experimental formation of heteroploid plants in the genus *Solanum*. Jour. Genet. vol. XIX : 133-211.
- KEEBLE, F.—1912—Gigantism in *Primula sinensis*. Jour. Genet. vol. 2.
- KIHARA, H.—1932—Über das Vorkommen von haploiden Pflanzen bei *T. monococcum*. Kwagaku. Tokyo. 2.
- KOSTOFF, D. and KENDALL, J. 1932—Origin of a tetraploid shoot from the region of a tumour on tomato. Science 76 : 144.
- LINDSTROM, E. W. and KOOS, K.—1931—Cyto-genetic investigations of a haploid. tomato and its diploid and tetraploid progeny. Am. Jour. Bot. vol. XVIII : 398-410.

- MATHER, K.—1933—The origin of tetraploid shoots from the callus of diploid. Jour. Genet. 27 : 197-32.
- MATHER, K. and STONE, L. H. A.—1933—The effect of X-rays upon somatic chromosomes. Jour. Genet. 28 : 11-24.
- NAVASHIN, M.—1931—Spontaneous chromosome alterations in *Crepis tectorum*, L. Univ. Calif. Publ. Agr. Sci. 6 (7) : 201-206.
- NEMEC, B.—1904—Über die Einwirkung des Chloralhydrats auf die Kern-und Zellteilung Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 39.
1910—Das problem der Befruchtungsvorgänge. Berlin.
- RANDOLPH, L. F.—1932—Some effects of high temperature on polyploidy and other variations in maize. Proc. Nat. Acad. Sci. 18 : 222-229.
1935—Cytogenetics of tetraploid maize. Jour. Agri. Res. 50 (7) : 591-605.
- SANSOME, F. W.—1930—Graft hybrids and induction of polyploids in *Solanum*. Rep. and Proc. 9 th. Int. Hort. Cong. 92-99.
- SANSOME, F. W. and Zilva, S. S.—1933—Polyploidy and Vitamin C. Bio-Chem. J. 27 : 1935-41.
- UPCOTT, M.—1935—The cytology of triploid and tetraploid *Lycopersicum esculentum*. Jour. of Genet. 31 : 1-19.
- WINKLER, H.—1916—Über die experimentelle Erzeugung von Pflanzen mit abweichenden Chromosomenzahlen. Zeits. f. Botanik VIII : 417-531.