

J. PINTO PEIXOTO * F. R. DIAS AGUDO * J. TIAGO DE OLIVEIRA * J. CAMPOS FERREIRA
MARGARITA RAMALHO * A. RIBEIRO GOMES * ARMANDO POLICARPO * F. DUARTE SANTOS
J. GOMES FERREIRA * L. A. MENDES VICTOR * MANUEL LARANJEIRA * M. GOMES GUERREIRO
J. CÂNDIDO DE OLIVEIRA * ROBALO CORDEIRO * J. CELESTINO DA COSTA * A. CASTRO CALDAS
BARAHONA FERNANDES * ARANTES E OLIVEIRA * A. F. CARVALHO QUINTELA * A. BARBOSA
DE ABREU * GOUVÊA PORTELA * L. BRAGA CAMPOS * J. J. DELGADO DOMINGOS * A. F.
OLIVEIRA FALCÃO * DOMINGOS MOURA * H. CAMPOS NETO * A. LARCHER BRINCA * J. F.
QUINTINO ROGADO * M. AMARAL FORTES * M. BAPTISTA BRAZ * M. PEREIRA COUTINHO
FERNANDO ESTÁCIO * P. O. PEREIRA SANTOS * A. A. MONTEIRO ALVES * BRITALDO RODRI-
GUES * L. AIRES DE BARROS * MATOS ALVES * M. PORTUGAL FERREIRA * ANTÓNIO RIBEIRO
FRANCISCO GONÇALVES * TELLES ANTUNES * LUÍS ARCHER * J. MONTEZUMA DE CARVALHO
J. FIRMINO MESQUITA * ABÍLIO FERNANDES * J. MALATO-BELIZ * ARSÉNIO PATO DE
CARVALHO * A. XAVIER DA CUNHA * ALLEN DEBUS * J. SIMÕES REDINHA * SEBASTIÃO
J. FORMOSINHO * A. M. A. ROCHA GONSALVES * L. ALMEIDA ALVES * OLIVEIRA CABRAL
FRAÚSTO DA SILVA * JOSÉ V. PINA MARTINS * AMÉRICO COSTA RAMALHO * FERNANDO
REBELO * C. ALBERTO MEDEIROS * ILÍDIO DO AMARAL * MANUEL GARRIDO ARAÚJO
MANUEL VIEGAS GUERREIRO * A. SIMÕES LOPES * A. SOUSA FRANCO * ONÉSIMO T. ALMEIDA
JUSTINO MENDES DE ALMEIDA * FRANCISCO GAMA CAEIRO * RÓMULO DE CARVALHO

HISTÓRIA E DESENVOLVIMENTO DA CIÊNCIA EM PORTUGAL NO SÉC. XX

II VOLUME



PUBLICAÇÕES DO II CENTENÁRIO DA ACADEMIA DAS CIÊNCIAS DE LISBOA
LISBOA • 1992

ESTUDOS SOBRE OS CROMOSSOMAS EM PORTUGAL DURANTE O SÉCULO XX

JOÃO MARIA MONTEZUMA DINIZ DE CARVALHO *

Para a realização do presente trabalho adoptou-se o critério de serem só considerados, com raras excepções, os estudos publicados — desde 1930 até hoje —, em revistas da especialidade e as dissertações de doutoramento. Assim, foram excluídos *abstracts* apresentados em reuniões científicas; conferências; relatórios, etc. Dos numerosos estudos publicados — cujo número ultrapassa 400 — só são citados aqueles que julgamos serem mais significativos, evitando assim, sempre que possível, trabalhos de carácter repetitivo. Mesmo assim, com este tipo de selecção, foram citados a maioria dos trabalhos publicados.

CARIOLOGIA

CROMOSSOMAS NAS PLANTAS

O estudo dos cromossomas foi iniciado em Portugal em 1930 por Abílio Fernandes, no Instituto Botânico da Universidade de Coimbra. É nesta data que publica o seu primeiro trabalho «Observations Anatomiques et Cytologiques sur *Narcissus bulbocodium* L.» no *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*. Pouco depois apresenta como tese de doutoramento, em 1931, o trabalho intitulado «Estudos nos Cromossomas das Liliáceas e Amarilidáceas». Na introdução a este trabalho faz ele próprio a história que pretendemos delinear, e escreve: «Após a nossa iniciação nos estudos de citologia vegetal, feita debaixo

* Universidade de Coimbra.

da direcção do eminente Prof. Aurélio Quintanilha, a nossa atenção foi desviada para o núcleo, o estudo do qual nos seduziu sempre muito mais que o do citoplasma. Ainda dentro do núcleo olhámos com particular interesse os cromossomas — esses corpos tão interessantes debaixo de tantos pontos de vista — o estudo dos quais não tinha sido ainda abordado por nenhum citologista português. ... Presumindo-se que as espécies derivam umas das outras, será natural pensar que o estudo comparativo do número e da forma dos cromossomas de espécies relacionadas nos poderá, talvez, elucidar dos processos pelos quais os complexos cromossómicos de umas espécies poderiam ter sido originados a partir dos de outras. Compreende-se, assim, o interesse que o estudo cariológico comparativo das espécies do mesmo género tem despertado. O que os estudos realizados até hoje já puseram em evidência levam-nos a crer que eles muito contribuirão para a elucidação do velho problema da evolução, e que constituirão um dos campos mais férteis da citologia.

Por outro lado, a constância do número e das características morfológicas dos cromossomas em todos os indivíduos da mesma espécie não deixa de ser importante, levando-nos a pensar que caracteres, possuindo uma tal fixidez poderão muito bem ser empregados na elucidação de questões taxonómicas».

Fizemos esta longa citação porque, ela contém sem dúvida as traves mestras daquilo que iria ser ao longo dos anos uma das constantes nas suas preocupações científicas e onde fez vários discípulos.

Abílio Fernandes elabora esta tese sem quaisquer apoios, completamente só. Se de facto, nesta altura em Portugal já tínhamos uma Escola de eminentes citologistas, todos eles porém se debruçavam sobre os problemas do citoplasma: Celestino da Costa, na Faculdade de Medicina de Lisboa, estudava sobretudo a histofisiologia das glândulas de secreção interna; Marck Athias também em Lisboa, interessava-se pela morfologia e estrutura da célula nervosa e da célula cancerosa; Abel Salazar, no Porto, estuda a citologia e citoquímica das células ováricas; em Coimbra, Quintanilha, interessa-se pelo ciclo de vida do fungo *Synchytrium* e pela citofisiologia da digestão em *Drosophyllum lusitanicum*. Mas, apesar desta falta de apoios Abílio Fernandes consegue realizar um trabalho pioneiro e nele apresentar já conclusões importantes: estuda os cromossomas somáticos de 27 espécies de Liliáceas e Amarilidáceas entre as quais 12 espécies do género *Narcissus*; aperfeiçoa a simbologia para a nomenclatura dos cromossomas proposta por Heitz, e, muito importante, aponta claramente o valor taxonómico do número e morfologia dos

cromossomas, para solucionar problemas de agrupamentos das espécies no género *Narcissus*. Que este trabalho teve logo repercussão além fronteiras prova-o o facto de, na primeira edição em 1932, do livro de Darlington, «Recent Advances in Cytology» ser nele mencionado. E quem era Darlington? O líder mundial da Citologia de que Haldane, o grande geneticista inglês, escreveu ao prefaciá-la aquela obra: «It is perfectly possible that (*Recent Advances in Cytology*) marks a turning point in the history of biology».

Em 1933 apresenta-se Abílio Fernandes a concurso para professor auxiliar com o trabalho «Novos Estudos Cariológicos no Género *Narcissus*», género este que analisa agora com maior detalhe.

Mas o seu interesse pela elucidação da filogenia do género *Narcissus* continuará, e entre 1933 e 1951, publica um importante conjunto de trabalhos (Fernandes 1937a, c; 1939a, c; 1940; 1943a; 1944; 1946a; 1949b; 1950a, b; Fernandes & Fernandes 1946; Fernandes & Neves 1940) que lhe permitirão em 1951 apresentar uma notável síntese sob o título «Sur la phylogénie des espèces du genre *Narcissus* L.». Nele analisa com extremo rigor os processos evolutivos que teriam levado à diferenciação das diferentes espécies, desde mutações de genes passando pela hibridação, poliploidia, polissomia, modificações estruturais de cromossomas, até à inactivação génica por heterocromatização. Mas neste trabalho fica ainda algo nebuloso, se o número básico do género será unicamente 7. Em 1968 Abílio Fernandes descobre em *Narcissus serotinus* populações com $2n=10$ o que o leva logo a concluir que um outro número básico 5 existe. Este facto combinado com o estudo de outras taxa (Fernandes 1952a, b; 1957, 1959a, b; 1960, 1963; 1966a, b; 1967, 1973; Fernandes & Almeida 1971), leva-o, em 1975, a apresentar uma nova reformulação «L'évolution chez le genre *Narcissus* L.», trabalho que marca a cúpula das suas investigações sobre a citotaxonomia e filogenia do género *Narcissus*.

Penso que o sistema filogenético elaborado por Abílio Fernandes ao cabo de tão pacientes e laboriosas investigações oferece pela quantidade de informação que contém e pela lógica das suas deduções, aos jovens investigadores, ávidos de testar hipóteses, um amplo campo para experimentação utilizando as modernas técnicas citológicas nomeadamente o banding e a hibridação molecular *in situ*. Uma primeira abordagem deste sistema filogenético foi já realizada por Maria Teresa F. Almeida num estudo intitulado «Computer methods in Cytotaxonomy» apresentado como tese de doutoramento em 1980 na Universidade de

Southampton, Inglaterra. É de notar que neste estudo, onde o cariótipo dos diferentes taxa de *Narcissus* foi analisado utilizando métodos informáticos, se verificou uma ampla confirmação do sistema evolucionário apresentado por Abílio Fernandes.

Nesta linha de investigação de cariologia e cário-sistemática sobressaem a partir de 1939 dois discípulos de Abílio Fernandes: Barros Neves e Mesquita Rodrigues. O primeiro, publica o seu primeiro trabalho neste ano com o estudo «Contribution à l'étude caryologique du genre *Leucojum*» e posteriormente interessou-se pelo género *Ranunculus* e *Ornithogalum*. Em 1944 apresentou a sua tese de doutoramento intitulada «Contribuição para o estudo cário-sistemático das espécies portuguesas do género *Ranunculus* L.» onde conclui que cada secção de género se caracteriza perfeitamente pelo seu cariótipo. Em 1952, na sua dissertação para professor extraordinário tendo por título «Estudos cariológicos do género *Ornithogalum*», estudou populações de diversas localidades de Portugal e de outros países. Discute a questão do número básico do género e das suas secções, e procurou resolver alguns problemas de taxonomia com os dados cariológicos de que dispunha.

Mesquita Rodrigues que em 1950 iniciara as suas investigações em cariologia da flora de Portugal (Rodrigues, 1950, 1954, 1956) apresentou em 1953 a sua tese de doutoramento «Contribuição para o conhecimento cariológico das halófitas e psamófitas litorais», tema novo em que vai abordar com sucesso o significado geobotânico da poliploidia, no seguimento das teorias de Hagerup e de Tischler formuladas 20 anos antes, de que as espécies diplóides e poliplóides pertencentes a um mesmo género podem apresentar diferenças na sua ecologia e distribuição geográfica.

Em 1969 Abílio Fernandes tendo-se rodeado de um equipa de seus antigos alunos, Celeste Alves, Fátima Santos, Filomena França, Margarida Queirós e Teresa Leitão, a quem também soube comunicar não apenas a sua experiência e conhecimentos mas também o seu entusiasmo, inicia a série «Contribuição para o estudo citotaxonómico das *Spermatophyta* de Portugal». Esta série conta já com 24 trabalhos (Alves & Leitão, 1976; Fernandes & Fernandes, 1972; Fernandes & França, 1972; Fernandes & Leitão, 1971, 1972; Fernandes & Queirós, 1969, 1971, 1977, 1978; Fernandes, Queirós & Santos, 1977; Fernandes & Santos, 1971, 1975; Leitão & Alves, 1976; Neves, 1973; Queirós, 1972, 1973a,b, c, 1974a, b, 1976, 1977,

1980) tendo sido estudadas 18 famílias, 556 géneros e 1.405 espécies e entidades infraespecíficas e determinados, pela primeira vez, 151 números cromossómicos (Queirós, 1981, 1984, 1985, 1988).

Dentro do contexto desta série é ainda de salientar o recente trabalho de Abílio Fernandes em colaboração com Maria Teresa Leitão: «Mecanismos evolutivos na família das *Lamiaceae*» (1981).

Mas nem só a flora portuguesa tem sido objecto de interesse da Escola de Coimbra. A flora da África Tropical é, ainda hoje, muito mal conhecida cariologicamente e o número de taxa estudados não ultrapassa 10%. Abílio Fernandes de colaboração com Barros Neves publica em 1961 «Sur la caryologie de quelques Monocotyledones Africaines» e em 1975 de colaboração com Filomena França publica um extenso trabalho «Sur les nombres chromosomiques de quelques plantes du Mozambique» onde determina o número cromossómico de 155 taxa pertencentes a 29 famílias de Angiospérmicas, sendo 60 taxa determinados pela primeira vez. Mais recentemente Jorge Paiva e Teresa Leitão estudam em 1987, 20 novas taxa das floras de Moçambique e Malawi.

Passemos agora, dentro desta mesma área da Cariologia e Cário-sistemática a uma outra Escola que teve como iniciador António de Sousa da Câmara e como Instituição a Estação Agronómica Nacional, por ele fundada em 1936.

Sousa da Câmara professor no Instituto Superior de Agronomia até 1937 altura em que passou a dirigir a Instituição que havia criado teve oportunidade de, anteriormente, efectuar alguns estágios no estrangeiro: primeiro, em 1932, na Universidade de Edimburgo no laboratório do Prof. Koller onde trabalhou em genética e citogenética de *Drosophila*; depois em 1933 na Universidade de Cambridge, e mais tarde em 1936 no Kaiser Wilhelm Institut de Berlin-Dahlen onde contactou com grandes geneticistas como Baur e Timoféef-Ressovsky. Estas permanências no estrangeiro, sem dúvida que despertaram no seu espírito a ideia de que para a Agricultura portuguesa poder acompanhar o progresso havia necessidade urgente duma Instituição especializada nas investigações agronómicas. Felizmente que pôde concretizar o seu sonho.

Dada a importância que o melhoramento dos trigos tinha para a nossa agricultura foi este cereal um dos materiais preferidos para as suas investigações. Assim, o seu primeiro trabalho publicado em 1934 tem por título «Um estudo citológico do *Triticum monococcum*» onde estabelece com precisão o seu cariótipo mercê de medições rigorosas dos braços dos cromossomas. Este método de medição rigorosa do com-

primento dos cromossomas, vai utilizá-lo posteriormente para estabelecer os idiogramas dos trigos tetraplóides (Câmara & Azevedo Coutinho, 1939); dos trigos diplóides (Câmara, 1943); dos trigos hexaplóides (Câmara, 1944a) e de muitas variedades de *Triticum durum* (Câmara 1944b). Em 1948 publica uma excelente síntese dos seus estudos sob o título «Relance da citologia do trigo na apreciação da sua filogenia» onde explana a sua teoria da provável origem dos trigos diplóides a partir de um antepassado remoto com $2n=10$.

Alguns dos seus colaboradores particularmente Duarte de Castro e Azevedo Coutinho, dedicam vários trabalhos ao estudo cariológico de várias taxa com relevância para os géneros *Ulex* (Castro, 1941, 1943, 1945), *Vicia* (Coutinho, 1940a, b, 1945), *Trigonella* (Coutinho & Lorena, 1942; Coutinho & Santos, 1943) e também para as numerosas variedades de oliveira existentes no país (Coutinho, 1956). Também o género *Lupinus* foi objecto de estudo por Nydia Malheiros (1942).

Sousa da Câmara soube criar discípulos entre os quais se destacaram, além de Duarte de Castro e Azevedo Coutinho, os nomes de Noronha-Wagner, Mello-Sampayo e Miguel Mota e de cujos trabalhos nos ocuparemos mais adiante. Mas não podemos falar da Estação Agronómica Nacional sem mencionar aquele que foi eminente agrónomo-silvicultor e a quem o progresso da Fruticultura e Silvicultura portuguesas muito ficaram devendo: Joaquim Vieira Natividade. O seu monumental tratado «Subercultura» publicado em 1950 e traduzido em várias línguas, bastaria para o fazer lembrado. Mas Natividade foi também dos primeiros portugueses a estudar os cromossomas na década de 30. Estudou a constituição cromossómica de diversas variedades de pereiras, com importantes implicações de interesse prático para a sua polinização (Natividade, 1935). Foi também o primeiro a iniciar estudos cariológicos no género *Quercus* (Natividade, 1937).

Outra Escola que dedicou grande parte do seu labor a estudos sobre o cromossoma foi aquela que Flávio Resende iniciou no Instituto Botânico da Universidade de Lisboa em 1943. Flávio Resende após a conclusão do seu curso no Porto, frequentou o laboratório do Instituto Botânico de Coimbra, onde junto de A. Quintanilha e Abílio Fernandes toma contacto com os novos problemas da citogenética durante o ano lectivo de 1932/1933. Em Novembro de 1933, graças ao apoio de Quintanilha, parte como bolseiro para a Alemanha onde foi trabalhar com o Prof. Heitz. Doutorou-se em Hamburgo em 1937 e só voltou definitivamente a Portugal em 1941. A colaboração com o Prof. Heitz determinou a linha

fundamental de trabalho de investigação de Resende, que se dedicou, tal como o seu Mestre, ao problema das relações nucléolo-cromossoma e ao problema da heterocromatina.

Embora Resende só esporadicamente se tenha dedicado à cariólogia pura (Resende, 1940; Resende & Viveiros, 1948), dois dos seus discípulos Pinto Lopes e Viveiros desenvolveram trabalho nesta área. O primeiro apresenta em 1944 como tese de doutoramento o trabalho «Sobre a Cariologia da Secção *Coarctatae* Berger do género *Haworthia* Durval» onde estuda 31 formas e encontra uma série poliplóide natural formada pelos termos 2X e 6X, concluindo que o estudo cariológico não poderá contribuir para o estudo da Sistemática desta Secção. O segundo estuda em 1949 várias espécies de *Aloinae* (Viveiros, 1949), e em 1952 apresenta a sua tese de doutoramento intitulada «Aglutinação, Olisterocromatina, heterocromatina e determinação do sexo nas Cycadales» onde estuda cariologicamente onze espécies de Gimnospérmicas (*Cycadales-Ginkgoales*). Mais tarde, em 1959 (Viveiros, 1959), interessa-se pelo estudo de várias espécies do género *Haworthia*. Em 1973 (Viveiros, 1973), estuda a cariólogia de algumas espermatófitas de Moçambique.

Todos estes estudos que temos relatado até agora dizem respeito a Espermatófitas. No que se refere a outros grupos vegetais temos de confessar que, ou são raros ou inexistentes. De facto só muito recentemente, a partir de 1984, se iniciaram estudos cariológicos nas Pteridófitas com os trabalhos de Margarida Queirós e Ormonde, no Instituto Botânico de Coimbra. Até ao presente já foram estudados cariologicamente 20 taxa quer da Flora de Portugal Continental quer dos Açores (Queirós, 1985b; Queirós & Ormonde, 1984, 1987a, b; Queirós, Ormonde & Nogueira, 1988).

Nas Algas só conhecemos os trabalhos referentes a *Chara vulgaris*, publicados em 1936 por Gonçalves da Cunha, em 1945 por Mesquita Rodrigues e em 1946 por Mendes. Estes trabalhos visaram, essencialmente, determinar o momento em que se opera a divisão de redução mas nenhum deles foi concludente.

CROMOSSOMAS NOS ANIMAIS

Em Portugal são raríssimos os estudos sobre cariólogia animal. Os primeiros trabalhos surgiram no Instituto de Zoologia da Universidade do Porto em 1942 e devem-se a Magalhães Mateus, o qual em 1944 apresentou como tese de doutoramento o tema «O Problema dos

Cromossomas Sexuais dos Batráquios e o tipo de digametia ♂ de *Chioglossa lusitanica*» onde conclui que neste Urodelo funciona o tipo de determinação do sexo X Y. Em 1952 e 1953 estuda respectivamente os cromossomas de *Triturus boscai* e *Triturus helveticus*, concluindo que neste Urodelo já não é possível distinguir os cromossomas sexuais dos autossomas.

Recentemente, em 1983, surgiu uma tese de doutoramento da autoria de Maria João Collares-Pereira, do Instituto de Zoologia e Antropologia da Universidade de Lisboa onde é feita uma extensa análise da cariólogia de Peixes da família *Cyprinidae* com excelentes microfotografias dos cariótipos (Collares-Pereira, 1983). Considera a autora que o padrão de evolução cariológica é bastante conservativo e contrasta fortemente com a diversificação taxonómica apresentada nos *Cyprinidae*, embora permita avançar com algumas hipóteses acerca do processo evolutivo das suas espécies. Mais recentemente, em 1989, Collares-Pereira em colaboração com Serrano apresenta um outro trabalho de análise cariológica de dois insectos coleopteros, determinando as suas afinidades (Serrano & Collares-Pereira, 1989).

Fazemos votos para que o grupo de investigação de Collares-Pereira se possa expandir e venha a constituir uma verdadeira Escola de citotaxonomia da Fauna de Portugal.

CROMOSSOMAS NO HOMEM

Deve acentuar-se, desde já, que muitos dos estudos sobre cromossomas humanos passam duma cariólogia clássica para penetrar numa verdadeira citogenética, dado que a introdução do métodos de bandas, sobretudo bandas de alta resolução em cromossomas prometáfásicos, e a utilização de células com alterações cromossómicas específicas como translocações e deleções envolvendo genes seleccionados, permite estabelecer correlações seguras entre doenças genéticas humanas e as suas cromossomopatias.

Como é sabido, o número correcto de cromossomas no Homem é 46 e não 48 como durante muito tempo se supôs. Esta conclusão só foi obtido em 1956 por Tjio & Levan, na Suécia, em culturas de tecidos do pulmão de embriões humanos (ver revisão histórica em Mota, 1964). Em 1960 um grupo de investigadores de Filadélfia, nos Estados Unidos, descobriu a forma de obter facilmente mitoses em culturas de linfócitos

do sangue periférico (Moorhead *et al.*, 1960). Esta técnica veio possibilitar um incremento extraordinário aos estudos do cromossoma humano. Mas, como refere Boavida (1983): «O reconhecimento da incidência elevada de anomalias cromossómicas no homem foi possível após a descoberta, em 1970, do padrão de bandas dos cromossomas, que determinou alterações profundas no campo da citogenética humana. Novos síndromas cromossómicos foram descritos de seguida e, bem assim, inúmeros casos isolados, atribuíveis a trisomias ou monosomias parciais, de praticamente todos os cromossomas».

Pode afirmar-se de facto, que hoje o cromossoma humano é o mais bem conhecido de todos os organismos eucarióticos ultrapassando, em certa medida, em finura de análise citogenética os materiais clássicos que, durante longas décadas, foram a *Drosophila* e o milho.

Os primeiros estudos sobre cromossomas humanos iniciaram-se no nosso país em 1959 com Armando Sampaio Tavares, na Faculdade de Medicina do Porto. O seu Serviço de Genética Médica foi alargando a sua área de investigação e, assim, sucessivamente foi introduzido: o estudo cromossómico no cancro em 1961; o estudo citogenético de leucémias em 1986; o diagnóstico pré-natal com cariótipo por amniocentese em 1972; o estudo de cromossomas em gâmetos em 1981.

Posteriormente, vieram a surgir outros Centros de investigação do cariótipo humano: na Faculdade de Medicina de Coimbra em 1964 sob a direcção de Rogério Cardoso Teixeira; em Lisboa, já nesta década, no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, liderado por Maria Guida Boavida; no Serviço de Genética Médica do Hospital de Egas Moniz liderado por Maria de Jesus Feijóo; na Faculdade de Ciências Médicas, sob a direcção de José Rueff, e na Unidade de Genética Pediátrica, Hospital de Santa Maria, orientada por Heloísa Santos.

Dos numerosos trabalhos de cariólogia/citogenética humana descritos por autores portugueses só iremos referir alguns que julgamos mais representativos das diversas cromossomopatias que têm sido estudadas.

Para revisões sobre o assunto pode ver-se: Teixeira, 1973: «Estudo Citogenético do Síndrome de Down, revisão da literatura e contribuição pessoal»; Boavida, 1980: «Mapa Génico dos Cromossomas Humanos»; Castedo *et al.*, 1985: «Interesse e limitações de cariótipo na prática clínica»; Castro *et al.*, 1985: «Valorização clínica do cariótipo em algumas doenças hematológicas»; Barros & Tavares, 1986: «Citogenética e Infertilidade»; Castedo *et al.*, 1988a: «Estudos cromossómicos no cancro. Quando, como e porquê»; Amândio Sampaio Tavares, 1970: «Conceito de

Intersexo»; 1971: «Alterações iatrogénicas no Homem»; 1979: «Perspectives of Genetic for Man»; 1980: «Localização genética nos cromossomas humanos» (em colaboração com M. Carmo Tavares); Silva, 1989: «Infertilidade Masculina, Análise Cromossómica e do Esperma»; Tavares-Cummings, 1990: «O Aborto Espontâneo de Repetição em Genética Clínica».

Para um estudo completo pode consultar-se «Genética Médica», Egozcue *et al.*, Editorial Espax, Barcelona, 1978, com especial relevo dos capítulos 2, 4 e 19 da autoria de Amândio Sampaio Tavares.

De todas as trissomias a trissomia 21 é a mais frequente e tem sido objecto de muitos estudos. Numa análise citogenética de 289 recém-nascidos Boavida *et al.* (1983) verificaram uma alta incidência de anomalias cromossómicas (42%) sendo a mais frequente a trissomia 21 (76%), coincidindo estes valores com os geralmente encontrados em estudos de populações semelhantes, noutros países. A trissomia 18, é considerada no que se refere à frequência, a segunda cromossomopatia dos autossomas a seguir à trissomia 21. Porém a incidência é variável, nos vários estudos em recém-nascidos, devido à curta sobrevivência das crianças afectadas. Heloísa Santos e colaboradores, em 1986, descreveram 12 casos dando especial relevo a 2 casos de sobrevivência longa. Trissomias parciais têm sido também descritas. Assim, uma trissomia parcial 13 resultante dum translocação da porção distal do braço longo do cromossoma 13 para o cromossoma 11 foi observada por Santos *et al.*, 1981. Fialho & Boavida em 1982, descrevem uma trissomia parcial 10p por segregação meiótica de uma translocação equilibrada paterna entre o braço curto do cromossoma 10 e o braço longo do cromossoma 2. Da revisão de toda a literatura concluem os autores ser esta a primeira descrição de trissomia 10p por translocação 2/10. Um caso interessante relatado por Fialho *et al.*, 1988, refere-se a uma dupla trissomia parcial 11q e 22q em gémeos. Dado que se sabe que na região distal do cromossoma 11 se localiza o gene para a sintetase do uroporfirinogénico foi possível aos autores confirmar este facto, ao constatarem que a actividade desta enzima estava aumentada de um factor próximo de 1,5 em relação à média da população padrão. Também Rocha *et al.* (1988), analisando um caso de trissomia parcial dos cromossomas 8 e 14 observaram um efeito de dosagem que lhe permitiu localizar, com grande probabilidade, o locus para a transaminase glutamato-piruvato no cromossoma 8q24.2 → 8qter.

No que se refere às translocações recíprocas, Tavares (1983) descreve um caso de abortamento de repetição em que foi detectada, utilizando

bandas de alta resolução uma translocação da região distal do ramo curto do cromossoma 10 para a região distal do ramo longo do cromossoma 4. Também Tavares & Tavares (1984), em aborto de repetição, descrevem dois casos de translocação envolvendo o cromossoma 1 (1; 16 e 1; 2). Barros *et al.* (1985) fez o estudo familiar dum translocação robertsoniana tipo t (13q; 14q) e concluiu pela segregação preferencial desta translocação o que leva os autores a supor que tenha algum significado evolutivo. Um caso mais complexo é relatado por Barros *et al.* (1987) pois envolve uma dupla translocação recíproca balanceada entre quatro cromossomas diferentes (1; 16; 14; 19) sendo demonstrada a sua transmissão através dos pais do probando.

Delecções também têm sido descritas embora em menor número. Uma das mais espectaculares refere-se ao chamado síndrome do «cri-du-chat» pois as crianças por ele afectadas têm um choro semelhante ao miar do gato. O estudo cariológico deste síndrome, feito por Lejeune e colaboradores em 1964, revelou a existência dum delecção parcial do braço curto do cromossoma 5. Um dos primeiros casos deste síndrome a ser identificado em Portugal deve-se a Maria de Jesus Feijóo e colaboradores em 1976. Sousa *et al.* (1982) descreve uma outra delecção envolvendo o braço curto do cromossoma 9, tendo a marcação de bandas G, Q e R, revelado que os pontos de quebra se situam em p22 e p13. Os autores apontam para esta situação ser comparativamente rara em nados-vivos. Em 1983 Boavida e colaboradores descrevem um caso de delecção intersticial do braço longo do cromossoma 13, tendo a análise de bandas prometáfásicas revelado os pontos de quebra situarem-se em q12 e q14.3. Esta delecção está associada a um caso de retinoblastoma, tumor maligno intra-ocular, que ocorre na infância. Os autores fizeram no doente a avaliação de actividade da esterase D e verificaram que correspondia sensivelmente a metade dos níveis normais, o que permite supor que o respectivo gene se localiza no segmento delecçãoado.

Outras cromossomopatias de interesse e pouco frequentes são as inversões. Em 1986 Barros e colaboradores relatam o primeiro caso conhecido na literatura dum inversão pericêntrica envolvendo todo o braço curto do cromossoma 1. Esta inversão está associada à esterilidade do probando e foi demonstrada a sua transmissão pelo lado materno. Em 1987 Boavida e colaboradores estudaram dois casos de tumor de Wilms, e detectaram num deles uma inversão pericêntrica do cromossoma 11 com pontos de quebra em p15.3 e q23.3. Segundo os autores

não se exclui uma relação etiológica da inversão com o aparecimento do tumor.

Um caso de fragmento supranumerário (não identificado) ligado ao braço curto do cromossoma 11, numa deficiente psicomotora grave foi apresentado por Cardoso *et al.* (1983) como uma nova cromossomopatia.

Uma técnica importante é a que permite a detecção de doenças genéticas e cromossomopatias no feto, através de colheita de líquido amniótico por amniocentese transabdominal, na 16.^a semana de gestação. Utilizando esta técnica Boavida e colaboradores (1984) analisaram os resultados de um estudo de anomalias cromossómicas em células de 400 líquidos amnióticos. A elevada incidência de anomalias desequilibradas encontradas (2,8%) é reveladora do contributo significativo do diagnóstico prénatal na prevenção de cromossomopatias.

Finalmente referiremos alguns trabalhos das análises cromossómicas em tumores, sobretudo testiculares. Sérgio Castedo do Departamento de Genética Médica da Faculdade de Medicina do Porto tem publicados uma série de artigos em colaboração com investigadores do Departamento de Genética Humana da Universidade de Groningen (Holanda). Assim, Castedo *et al.* (1988c, 1989) verificaram que a maioria dos tumores, além do elevado número cromossómico, 53 a 113, estão quase sempre associados a uma inversão i (12p). Todavia verificou (Castedo *et al.*, 1988b) que existem tumores sem inversão. Tumores vesicais também têm sido estudados (Pinto-de-Carvalho *et al.*, 1976) a nível de ploidia celular, avaliando o seu teor em DNA por citospectrofotometria. Os autores concluem que a malignidade potencial dos tumores vesicais pode ser prevista, sob o ponto de vista invasivo, pelo estudo da ploidia celular.

Num outro contexto, o da toxicologia genética são também interessantes os estudos sobre indução das mutações pelos flavonoides contidos nos alimentos (Rueff, 1988). Num estudo desta natureza, verificou-se que podem ser induzidas no Homem trocas cromatídicas fraternas, detectadas nos linfócitos (Rueff *et al.*, 1986).

CITOGENÉTICA DOS CEREAIS

TRITICUM AESTIVUM

Outra linha de investigação, nos cereais, liderada por Tristão de Mello-Sampayo no Departamento de Citogenética do Instituto Gulbenkian

de Ciência, diz respeito à regulação do emparelhamento meiótico em *Triticum aestivum* e seus híbridos, pela acção dos genes Ph que suprimem o emparelhamento homeólogo (revisão em Mello-Sampayo, 1978). O primeiro supressor deste tipo foi descoberto por Riley & Chapman em 1958 na Inglaterra e localiza-se no cromossoma 5B. Mais tarde, em 1966, Feldman localizou outros supressores nos cromossomos 5D e 5A. Estabeleceu-se então uma colaboração entre Feldman e Mello-Sampayo (1966, 1967, 1972) e em 1971, Mello-Sampayo demonstra que no braço curto do cromossoma 3D está também localizado um supressor. Em 1972 com Noronha-Wagner confirma plenamente, utilizando uma série de haplóides nuli 5B de *Triticum aestivum*, os resultados de Riley & Chapman. De notar que, além de supressores, também tem sido demonstrado por vários autores a existência de promotores. Resulta assim que o emparelhamento meiótico em *Triticum aestivum* e seus híbridos é processo complexo dependente de um estado de equilíbrio genético entre genes supressores e promotores.

Esta linha de investigação revela-se de bastante interesse prático pois permitirá, por adequada manipulação cromossómica, a transferência, por crossing-over, para o *Triticum aestivum* de genes localizados noutras espécies afins, úteis para o melhoramento do trigo. Nela têm colaborado, além de outros, Guedes-Pinto, Wanda Viegas e Pinto-Carnide.

Um aspecto interessante dos supressores Ph é o aparecimento neles de mutações, induzidas ou espontâneas, as quais passam a promover o emparelhamento homeólogo. Situações destas foram objecto de estudo por Viegas *et al.* (1980) e Guedes-Pinto *et al.* (1988). Outros dois fenómenos onde parecem estar envolvidos os supressores Ph é o do entrelaçamento de bivalentes (Mello-Sampayo *et al.*, 1980) e do emparelhamento somático (Mello-Sampayo, 1973). Finalmente, em recente trabalho (Mello-Sampayo *et al.*, 1988) foi observado que em híbridos F₁ *Triticum aestivum* × *Secale cereale*, desprovidos do gene Ph1 as células do meristema radicular apresentavam uma elevada frequência de micronúcleos, que os autores atribuem à eliminação anafásica de cromossomas do centeio.

Ainda dentro da citogenética dos cereais mencionaremos também os estudos de distúrbios meióticos e fertilidade em linhas de *Triticum aestivum*, desenvolvidas na Estação de Melhoramento de Plantas de Elvas, por Romano & Barradas (1980) e Romano *et al.* (1981).

TRITICALES

Triticale é uma palavra composta com base nos nomes dos géneros do trigo e do centeio: *Triti* (cum) + (Se) *cale* e designa os anfiploídes derivados da hibridação entre espécies dos géneros *Triticum* L. e *Secale* L.

As primeiras referências a cruzamentos artificiais de trigo \times centeio datam de 1875 e foram realizadas por Wilson (citado por Guedes-Pinto, 1986) mas o híbrido obtido era estéril dada a ausência de duplicação cromossómica. Em 1888 Rimpau obteve de um cruzamento análogo um híbrido fértil, resultante sem dúvida de posterior duplicação cromossómica espontânea ou da fusão de gâmetos não reduzidos (citado por Guedes-Pinto, 1986).

Em Portugal os primeiros Triticales foram obtidos na Estação de Melhoramento de Plantas de Elvas (ENMP) em 1953 e 1954 por Villax, Miguel Mota e Ponce Dentinho. Tratava-se de Triticales octoploídes primários. No decurso destes trabalhos, Villax & Mota (1953) observaram, num caso, um curioso fenómeno ainda não cabalmente explicado, da eliminação completa dos cromossomas do centeio quando o híbrido F_1 *Triticum* \times *Secale* era tratado pela colquicina. Numa tentativa para elucidar este problema foram feitas experiências similares de duplicação cromossómica pela colquicina no híbrido *Avena barbata* \times *A. strigosa*, mas os resultados não foram os esperados, embora surgisse o fenómeno interessante de células-mães do grão de pólen binucleadas, com eliminação por fragmentação, dos cromossomas dos núcleos (Holden & Mota, 1956).

Mais tarde no fim dos anos 60 a ENMP iniciou uma cooperação com o CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, México) a nível do melhoramento do Triticale do qual resultou serem lançadas na agricultura do país vários cultivares (revisão em Bagulho, 1982; Barradas, 1982).

Em 1977/78 Guedes-Pinto inicia na Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro um intenso programa de melhoramento do Triticale que se tem mantido até à actualidade (revisão em Carnide, 1988 e Pinto-Carnide, 1988) e que tem tido vários colaboradores sendo de salientar os nomes de Olinda Pinto-Carnide e Valdemar Carnide. Conforme afirma Guedes-Pinto (1986): «O Triticale apresenta-se hoje como um cereal que ultrapassou a fase de mera curiosidade científica como era encarado há poucas décadas atrás para se reivindicar como um cereal que pode emparceirar com outros quanto à produtividade».

Reportando-nos unicamente à actividade de investigação citogenética nos Triticales pelo grupo de melhoramento liderado por Guedes-Pinto, destacamos em 1984 (Guedes-Pinto *et al.*, 1984) a síntese de novos Triticales octoploídes; a verificação de aneuploidia em linhas de Triticales hexaploídes de alta produtividade (Guedes-Pinto *et al.*, 1984); em 1985 (Guedes-Pinto e Mello-Sampayo, 1985) a síntese de novos aloautooctoploídes, Triticales de constituição AABBRRRR, $2n=56$, os quais se afiguram de muito interesse para novas estratégias de melhoramento.

Em 1986 Guedes-Pinto na sua tese de doutoramento «Novas constituições genómicas em Triticale. Sua obtenção e estudo» apresenta várias conclusões de muito interesse das quais salientamos: *a*) o genoma R do centeio transporta genes que, na presença de doses simples de genómios A e B do trigo, como as que estão presentes em híbridos da F_1 , Triticale $6x \times$ centeio di e tetraploíde ABRR, ABRRR, induzem o emparelhamento homeólogo por inibição do sistema Ph diploidizante do trigo; *b*) jogando com nulissómicos para o cromossoma 5B ou mutantes do sistema Ph é possível induzir um emparelhamento homeólogo cujo objectivo seria a recombinação trigo-centeio; *c*) o comportamento meiótico dos novos Triticales aloautooctoploídes apresenta uma certa diploidização que não se esperava a partir de uma estrutura com 4 doses de genómios R; *d*) o estudo da actividade nucleolar em material de constituição genómica muito diversificada permitiu confirmar que estamos perante um sistema de regulação complexo e geneticamente controlado que actua ao nível da activação-inibição dos NORs pelo complemento cromossómico e pela interacção entre genómios.

Em trabalho mais recente (Guedes-Pinto, 1988) apresenta mais dados referentes à obtenção, caracterização morfológica e comportamento cromossómico dos $8x$ Triticales (AABBRRRR) e de plantas F_1 ABRRRR.

CENTEIOS

Os primeiros trabalhos de melhoramento e citogenética nos centeios referem-se à obtenção de poliploídes e foram iniciados em 1952 por Miguel Mota na Estação de Melhoramento de Plantas de Elvas e mais tarde em 1955 continuados no Departamento de Genética da Estação Agronómica Nacional. Foram obtidos vários tetraploídes originais, a partir dos quais foram sendo obtidas linhas de autofecundação e efectuados cruzamentos entre elas sendo as descendências sujeitas a selecção. Destas linhas, 10 (tetraploídes) foram sujeitas a ensaios de adaptação

em 6 regiões do país (1965-1966) tendo-se verificado bom comportamento de algumas delas (Mota, 1968-1969).

Recentemente (1990) Olinda Pinto-Carnide da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro apresentou uma tese de doutoramento intitulada «Estudo no género *Secale*, aspectos citogenéticos e de melhoramento». Nesta tese além de caracterizar agronomicamente diversas populações regionais portuguesas de centeio e de estabelecer a sua tolerância a diferentes concentrações de alumínio, procurando através de selecção durante várias gerações das plantas tolerantes fixar geneticamente esta característica, faz também uma análise citogenética, muito aprofundada, dos híbridos interespecíficos no género *Secale* nomeadamente entre o *S. vavilovii*, *S. kuprijanovii*, *S. montanum*, *S. segetale*, *S. ancestrale* e *S. fragile* com três populações portuguesas de *Secale cereale*. Do estudo efectuado concluiu que *Secale cereale*, *S. segetale*, *S. ancestrale* e *S. kuprijanovii* têm uma estrutura cromossómica idêntica entre si, diferenciando-se todos do *S. fragile* por duas translocações recíprocas. O *S. montanum* difere do *S. cereale*, *S. kuprijanovii* e *S. fragile* também por duas translocações recíprocas. De bastante interesse também, a possibilidade destes estudos permitirem a introdução no centeio da autogamia do *S. vavilovii* e da perenidade do *S. montanum*. Outros aspectos estudados foram o da indução de poliploidia em alguns híbridos interespecíficos, bem como uma série de hibridações entre o *Triticum aestivum* cv. chinês spring e diferentes centeios, seguido de retrocruzamentos das F_1 quer com trigo quer com centeio. Foi assim obtido um amplo material vegetal com uma enorme variabilidade fenotípica, de que a autora, em investigações futuras, procurará explorar o seu potencial interesse agronómico.

ANÁLISE ESTRUTURAL DO CROMOSSOMA

Passemos agora a analisar uma área que se prende mais com a estrutura e funcionamento do cromossoma ou com acções experimentais sobre essa estrutura.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO CROMOSSOMA

A partir de 1942 quando apresenta o trabalho «Relations entre la chimie et la morphologie nucleaire», Antunes Serra vai produzir uma série de trabalhos tendentes a esclarecer a composição química do

cromossoma introduzindo novos métodos para a detecção de proteínas e ácidos nucleicos. Assim, em 1943 publica «Sur la composition protéique des chromosomes et la réaction nucléale de Feulgen» e em 1944 «Une réaction nouvelle pour l'histochemie: la réaction de l'arginine» a qual veio a ter aceitação internacional. Em 1945 torna possível a visualização de cromossomas com uma nova técnica apresentada no trabalho «Une méthode pour la demonstration du phosphore des acides nucleiques» (Serra & Queirós Lopes, 1945). Em 1947 publica mais dois trabalhos «The composition of the resting stage nucleus» e «The prophase appearing of the chromonemata spiralization». Esta série de trabalhos culmina com a publicação no vol. XII do *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* da revisão «Composition of chromonemata matrix and the role of nucleoproteins in mitosis and meiosis» (1947c). Finalmente, em 1955 publicará mais três importantes trabalhos no *Handbuch der Pflanzenphysiologie*: «Chemistry of the nucleus» (1955a), «Fine structure of the nucleus» (1955b) e «Physical chemistry of the nucleus» (1955c).

Esta pesquisa desenvolvida por Serra para a compreensão da estrutura química do cromossoma levou-o, como seria de esperar, para tentativas de formulação química do gene. Muito sucintamente, referiremos neste contexto, que logo em 1945 apresenta o que chamou de teoria citofisiológica do gene (1945), onde considera que os ácidos nucleicos (ácido timonucleico = DNA) e as proteínas fazem parte integrante da sua estrutura. Esta teoria é posteriormente desenvolvida no seu livro *Moderna Genética* editado em 1949. Entretanto, em 1953 surge o trabalho de Watson & Crick, «Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid» que, como é sabido, marca o verdadeiro nascimento da Genética Molecular, ao admitir que o gene é uma molécula de DNA, o que seria nos anos seguintes amplamente demonstrado.

Todavia Serra continua (por ex. 1958, 1959) insistindo em modelos onde se mantém a indefinição de funções entre DNA e proteína: «The facts known on peptide synthesis and therefore on enzyme specificity and all cellular specificity, lead to the necessary conclusion that NAs alone cannot be the determinants of such a specificity. All facts taken together indicate that a cooperation exists at the molecular genetic level between both kinds of compounds to determine the ultimate specificity and to reduplicate themselves. By similarity with enzyme terminology, genetic specificity linked to Prots may be called apogenon action, and that due to NAs will be cogenon action. Both kinds of compounds form the

genons, which can be defined as the minimum sites of polypeptide or polynucleotide chains, which alone or jointly are capable of determining specific genetic action» (Serra, 1958).

Nós próprio (Montezuma de Carvalho, 1962a) apresentámos, numa tese de doutoramento, uma crítica a esta concepção. Só bastante mais tarde (por ex. Serra, 1966 e 1979) passa a admitir que, efectivamente, a informação genética reside no DNA.

Juana Warden, da Escola de Flávio Resende foi outra investigadora que dedicou certa atenção a problemas de técnicas de coloração para cromossomas. O seu material preferido foi o género *Bryophyllum*, dado que tanto o núcleo interfásico como os cromossomas se mostram mais ou menos refractários às técnicas usuais, como a reacção de Feulgen, a coloração pela orceína, etc. Assim obteve certo sucesso com corantes tais como pyronina-verde metilo (Warden, 1967); nitrato de prata amoniacal (Warden, 1971); fixação em formalina-pyridine para a reacção de Feulgen (Warden, 1974) e HCL-Giemsa para os cromossomas meióticos de *Prunus* (Warden, 1986).

CROMOSSOMAS NUCLEOLARES

Em 1931 Heitz demonstrou, em *Vicia faba*, que as constrições satelitíferas descobertas por S. Navaschine em 1912 tinham a importante função de condensar nucléolos na telofase.

Quando Flávio Resende foi trabalhar com Heitz em 1933, a sua tarefa inicial foi tentar generalizar esta descoberta a um grande número de novas espécies, trabalho este que apresentou como tese de doutoramento na Alemanha em 1937 sob o título «Über die Ubiquität des SAT-Chromosomen bei den Blütenpflanzen» (ver revisão histórica em Resende, 1938).

Entretanto, em Coimbra, Abílio Fernandes interessava-se também por esta zona do cromossoma e, em 1935, demonstra pela primeira vez que o tamanho do satélite e da constrição nucleolar pode variar grandemente entre indivíduos da mesma espécie e até, entre células do mesmo indivíduo. Mostrava assim a existência duma labilidade nesta zona que mais tarde Resende iria confirmar (Resende, 1939). A importância destas observações de Abílio Fernandes é bem patente ao merecerem larga referência no recente tratado de Lima-de-Faria «Molecular Evolution and Organization of the Chromosome», 1983. Em 1936 apresenta um outro

estudo sobre os cromossomas nucleolares (cromossomas satelitíferos) e a formação do nucléolo em *Narcissus reflexus* e *N. bulbocodium* e em 1937b Fernandes demonstra, ao contrário do que afirmava Heitz em 1931, que o filamento satelitífero dava a reacção de Feulgen e, assim, deveria ser constituído por cromatina tal como o resto do corpo do cromossoma.

Mais tarde, em 1951, no seu trabalho «Sur l'heterocromatinization des chromosomes nucleolaires» afirma que o organizador nucleolar deverá ser constituído por vários genes e que estes genes serão específicos para esta região. Opinião contrária perfilhava todavia Resende (1946; Resende & Rijo, 1948) que admitia ser o filamento satelitífero (olisterozona nucleolar) desprovido de genes. É facto de assinalar que, efectivamente 15 anos depois, em 1966, Wallace & Birnstiel demonstraram que a região nucleolar (organizador nucleolar) contém muitos genes todos eles especializados na síntese de RNA ribossómico.

HETEROCROMATINA

Outro aspecto da estrutura do cromossoma que foi objecto de estudo por parte de autores portugueses foi o da heterocromatina. O conceito de heterocromatina foi introduzido por Heitz em 1928 (ver revisão histórica em Resende, 1945). Os primeiros estudos em Portugal devem-se a Abílio Fernandes que, em 1939, demonstrou o ciclo de espiralização durante a mitose, num cromossoma heterocromático supranumerário. Posteriormente, publicou uma série de trabalhos sobre cromossomas supranumerários heterocromáticos no género *Narcissus* (Fernandes, 1943b, 1946b, 1949a, 1951b, 1952a; Fernandes & França, 1974; Fernandes & Mesquita, 1963). No trabalho de 1946 verificou que os cromossomas supranumerários heterocromáticos se podem emparelhar consigo mesmo sofrendo depois um *crossing-over* ilegítimo o qual pode então originar novos tipos de cromossomas. Se é certo que, já antes a grande citogeneticista americana Barbara MacLintock (prémio Nobel da Medicina e Biologia em 1984) tinha demonstrado no milho o autoemparelhamento, não é menos certo que é Abílio Fernandes o primeiro a demonstrar a existência de um *crossing-over* ilegítimo e a deduzir as suas consequências. Estas conclusões foram mais tarde amplamente confirmadas quer em *Narcissus* (Fernandes & Mesquita, 1963) quer em *Anthoxanthum aristatum* (Mesquita, 1963). Em 1949 Fernandes apresentou dados que indicam poder o fenómeno da heterocromatinação depender da acção

directa dum gene. Outro aspecto interessante dos cromossomas heterocromáticos analisado por Fernandes (1952a), foi o da possibilidade de através de translocações recíprocas com cromossomas eucromáticos poderem vir a originar novos tipos de cromossomas, os quais poderão posteriormente, elevar o número básico. Esta concepção foi mais tarde aceite por Darlington no seu livro «Chromosome Botany and the Origins of cultivated plants» (1963).

CENTRÓMERO

Cromossomas de centrómero não localizado

Foi Schrader (1935) o primeiro a sugerir, baseado nas suas observações nos insectos da ordem *Hemipteros*, que poderiam existir cromossomas de centrómero não localizado. Mais tarde uma perfeita demonstração desta hipótese foi feita utilizando os raios-X: em *Steatococcus* (Hughes-Schrader & Ris, 1941) e em *Tamalia* (Ris, 1942) verificou-se que, todos os fragmentos de cromossoma induzidos pela irradiação, iam normalmente para os polos telofásicos, nunca se perdendo.

Em 1947, na Estação Agronómica Nacional, no decurso de trabalhos sobre cariólogia das juncáceas, Nydia Malheiros e Duarte de Castro encontraram na *Luzula purpurea* Link um número muito baixo de cromossomas, $2n=6$, e facto notável estes cromossomas não possuíam qualquer constrição, tendo além disso um comportamento pouco vulgar tanto na mitose como na meiose. Estas observações foram publicadas na *Nature* em 1947. Pouco tempo depois num outro trabalho (Malheiros *et al.*, 1947) é feita uma análise da mitose e da meiose nesta planta tendo os autores concluído que havia uma inversão das fases redutora e equacional nas divisões meióticas.

Deste conjunto de observações podia prever-se que *Luzula purpurea* possuía cromossomas sem centrómero localizado. Em 1949 Castro e colaboradores após tratamento pelos raios-X de cromossomas somáticos verificou que todos os fragmentos cromossómicos assim produzidos, seguiam para os polos telofásicos nunca havendo formação aparente de micronúcleos. A situação era pois idêntica à já observada nos *Hemipteros*. Esta demonstração da existência, no reino vegetal, de cromossomas de centrómero não localizado, procovou bastante interesse a nível internacional e veio a ser confirmado por La Cour (1953) e Nordenskiöld (1955).

Nós próprios (Montezuma de Carvalho, 1962a, pp. 71-79) reinvestigámos pelos raios-X a estrutura destes cromossomas e concluímos, em face das duas alternativas para a centrómero, policêntrico ou difuso, pela estrutura difusa dado que todo e qualquer fragmento mesmo no limite de visibilidade microscópica sofria divisão e atingia os polos telofásicos (ver revisões sobre o problema do centrómero em Câmara, 1953 e Montezuma de Carvalho, 1962a, pp. 115-128).

O estudo cariológico de outras espécies do género *Luzula* veio mostrar o facto interessante de os cromossomas diminuírem em tamanho à medida que o número cromossómico da espécie aumenta. Malheiros & Gardé (1950, 1951) propuseram então que a fragmentação progressiva dos cromossomas seria um processo evolutivo na *Luzula*, ao qual deram a designação de agmatoploidia. Há todavia muitas objecções a esta teoria como o salientou Câmara (1951).

Também os fenómenos da presença de heterocromatina e da asinapsis foram objecto de estudo na *Luzula purpurea* (Castro & Mello-Sampayo, 1951), bem como o da existência de cromossomas supranumerários (cromossoma B) em *Luzula campestris* DC. (Câmara *et al.*, 1959). Outro aspecto estudado foi o da síntese do DNA durante o período mitótico (Montezuma de Carvalho, 1962b). Finalmente outro aspecto das investigações em *Luzula* diz respeito à indução de poliploidia em *Luzula purpurea* (Mello-Sampayo *et al.*, 1951; Castro & Mello-Sampayo, 1953, 1954) por tratamento com colquicina. Os autores obtiveram, quer directamente, quer através da descendência dos poliplóides obtidos uma série poliplóide de $2n$ a $5n$ e vários aneuplóides ($(2n+1)$; $2n+2$; $3n+1$; $3n+2$; $4n+1$ e $4n+2$).

O caso de *Parascaris equorum* (*Ascaris megalocephala*) merece aqui também ser referido. Desde as observações de Boveri (1897a, b) confirmadas depois por numerosos autores, se sabe que os cromossomas deste nemátodo sofrem uma fragmentação em numerosos e pequeníssimos segmentos aquando da segunda divisão de segmentação do ovo, nas células destinadas à linha somática, sendo ao mesmo tempo eliminadas as extremidades, que coram intensamente, de cada cromossoma.

Painter e Stone (1935) e Schrader (1935) sugeriram que tal comportamento implicava que devia haver mais do que um centrómero em tais cromossomas. A fim de esclarecer esta questão, White (1936) irradiou os cromossomas da primeira divisão de segmentação, verificando que todos os fragmentos produzidos seguiam para os polos telofásicos. Bauer e Le Calvez (1944) confirmaram depois esta observação, igualmente

utilizando os raios-X. Concluía-se assim, que cada segmento em que o cromossoma se fragmentava, espontaneamente, deveria possuir o seu centrómero e, na literatura, o caso de *Ascaris megalocephala* passou, invariavelmente, a ser referido como exemplo de cromossomas policêntricos.

Antunes Serra e Picciochi do Instituto de Zoologia e Antropologia da Universidade de Lisboa (Serra & Picciochi, 1960a, b, c) analisaram o mecanismo do processo meiótico neste organismo e concluíram serem erróneas todas as anteriores interpretações, atribuindo-as a artefactos de fixação, e afirmando que a meiose segue um desenrolar perfeitamente canónico com as fases de leptoteno, zigoteno e paquíteno bem distintas.

ACÇÃO DOS RAIOS-X SOBRE OS CROMOSSOMAS

Em 1927 o americano Muller demonstrou que os raios-X produziam mutações nos animais (*Drosophila*). Pouco depois em 1928 outro americano, Stadler, confirmava esta descoberta nas plantas (milho e cevada). A partir de então a acção das radiações ionizantes, sobretudo os raios-X, tornou-se objecto de intenso estudo e experimentação. Consiste esta acção, além da produção de mutações génicas não detectáveis citologicamente, na produção de quebras, isto é, discontinuidades na estrutura linear do cromossoma, as quais por posterior reunião poderão originar as mais variadas modificações estruturais (revisão em Montezuma de Carvalho, 1962a, pp. 3-15).

No nosso país o primeiro autor a estudar a acção dos raios-X sobre os cromossomas foi Sousa da Câmara em 1935: «Efeitos dos raios-X nos cromossomas do *Triticum monococcum*. Sua análise na apreciação da filogenia do trigo», onde afirma que cada cromossoma apresenta determinados produtos críticos de rotura (quebra). Da série de trabalhos que publicou posteriormente sobre este problema (Câmara, 1936, 1938, 1941a, b; Câmara *et al.*, 1950) conclui que as roturas se concentram em duas regiões de cada braço do cromossoma: próximo das extremidades e a outra na vizinhança do centrómero. Este problema é todavia controverso, pois há autores que admitem serem as quebras puramente ao acaso ao longo do corpo do cromossoma. Num estudo quantitativo, muito detalhado, da acção dos raios-X sobre os cromossomas de *Vicia faba*, Revell (1953) conclui que não há pontos especiais de rotura, a não ser talvez, uma maior resistência à rotura nas zonas heterocromáticas. Também Read (1959) na revisão que faz sobre o assunto no seu livro

«Radiation Biology of *Vicia faba* in Relation to the General Problem» conclui serem as quebras produzidas pelos raios-X ao acaso. É interessante notar que todavia, no que se refere a quebras provocadas por agentes químicos, nomeadamente agentes alquilantes, a situação é bem diversa pois existem regiões preferenciais, sobretudo as próximas ao centrómero, constituídas por heterocromatina (revisão em Kihlman, 1966; Caspersson *et al.*, 1966).

Câmara também procurou analisar (Câmara, 1936c, d, 1940b) o mecanismo das translocações provocadas pelos raios-X e apresentou uma teoria segundo a qual se podem originar translocações à distância sem necessidade de contactos prévios, por intermédio de pontes cromáticas. Como resultado deste mecanismo surgiriam, temporariamente, cromossomas ramificados. Estas especulações não tiveram contudo posterior confirmação.

Nós próprios, em 1956, iniciámos no Instituto Botânico da Universidade de Coimbra estudos sobre a acção dos raios-X sobre os cromossomas. Num primeiro trabalho (Montezuma de Carvalho, 1956) foram analisados os tipos de modificações estruturais na segunda geração celular após irradiação, utilizando para marcação das gerações a poliploidia induzida pela colquicina. Concluiu-se que certas configurações cromossómicas poderiam ser interpretadas admitindo quer uma quebra ou reunião retardadas. Num outro trabalho (Montezuma de Carvalho, 1957) foram analisados os tipos de configuração em relação com as quebras cromossómicas e cromatídicas, tendo em conta o momento da reprodução dos cromossomas.

Já relatámos atrás, na Secção «Cromossomas de centrómero não localizado» a utilização da fragmentação dos cromossomas pelos raios-X para esclarecer o problema do centrómero na *Luzula*. Voltaremos aqui a falar da irradiação da *Luzula* mas noutros dois contextos: o tipo de quebra-reunião e a «cura» das extremidades quebradas; a obtenção de plantas com novos cariótipos. O primeiro problema foi analisado pela primeira vez por nós (Montezuma de Carvalho, 1961) e demonstrou que em *Luzula* não deve ter lugar quebra-reunião de cromatídeos e por outro lado muitas das extremidades de rotura podem sofrer «cura» e tornar-se estáveis. O segundo problema foi analisado pela primeira vez em 1952 por Duarte de Castro e Noronha-Wagner, ao analisarem a descendência de uma planta de *Luzula purpurea*, que tinha sido irradiada na fase de plântula. Verificaram a existência de duas plantas com novos cariótipos originadas por translocações recíprocas. A descendência destas plantas,

uma homozigótica e a outra heterozigótica para translocação, foi mais tarde analisada (Castro *et al.*, 1954) tendo na descendência do heterozigoto de translocação observado Castro (1954) o curioso fenómeno do aparecimento de duas plantas com novos cariótipos aparentemente originados pela quebra (instabilidade) do cromossoma longo de translocação.

O problema da obtenção experimental de novos cariótipos em *Luzula* pela acção dos raios-X foi por nós também atacado mas utilizando não irradiação de células mitóticas mas sim, meióticas. Com este novo método obtivemos descendências em que se atingiu a frequência elevadíssima de 26% de plantas com novos cariótipos (Montezuma de Carvalho, 1961). Estes resultados são pois, mais uma prova de que o centrómero em *Luzula* não é localizado.

Outros estudos sobre irradiação com raios-X foram realizados por nós e apresentados como parte de uma tese de doutoramento (Montezuma de Carvalho, 1962). As principais conclusões obtidas foram as seguintes: a) em *Vicia faba* ($2n=12$) a irradiação de cromossomas em fim de profase-prometáfase produz só pseudochiasmata, que resultam de quebra completa seguido de restituição e recombinação parcial; b) na meiose de *Tradescantia bracteata* ($2n=12$) a sensibilidade do cromossoma (medida pelo número de fragmentos em A II) em AI, é cerca de três vezes maior que em MI, e em Promt. I é cerca de treze vezes maior de que em MI, sendo a reacção típica, e única, da interfase a produção de pseudochiasmata.

AGENTES MODIFICADORES DO CROMOSSOMA

Sob este título designaremos a acção de vários agentes quer de natureza química, conhecida ou desconhecida, ou de natureza física (centrifugação e temperatura), que duma maneira mais ou menos específica provocam alterações visíveis na morfologia ou no movimento dos cromossomas durante a mitose ou meiose. Sobre este assunto existe uma vasta bibliografia mas aqui, unicamente referiremos o trabalho de autores portugueses sem entrar em considerações de natureza histórica.

Substâncias de vária natureza

O primeiro relato deve-se a Câmara & Carpio, 1949, ao estudarem a influência da morfina na meiose de *Triticum*. O efeito mais saliente é

uma acção perturbadora no fuso acromático donde resulta a formação de monadas e diadas em vez de tétradas. Mota (1952) estudou a acção de extractos de sementes de cevada sobre os vértices vegetativos da raiz de *Allium cepa* L. Os efeitos observados foram: drástica redução no número de mitoses; contracção cromossómica; aglutinação cromática; nítido efeito c-mitótico com formação de células tetraplóides, além de produção de fragmentos de cromossomas. Dado que estas experiências foram feitas em condições não assépticas põe-se o problema de serem produtos de metabolismo bacteriano e não o extracto *per se* o causador das modificações observadas. Viveiros & Manarte (1954) estudaram a acção de extractos de tabaco sobre a mitose em *Allium cepa* e os efeitos observados foram uma forte inibição das divisões bem como uma contracção dos cromossomas. A ausência de condições assépticas nestas experiências leva-nos também a pôr a mesma objecção já acima citada. Montezuma de Carvalho (1955) estudou a acção de produtos bacterianos presentes no meio de cultura, quer de bactérias não identificadas quer de uma bactéria identificada, o *Bacillus Proteus*. Em ambos os casos observou-se como acção principal uma intensa fragmentação cromossómica com formação de numerosas modificações estruturais (translocações, dicêntricos, etc.). Neste trabalho chamámos a atenção para que as experiências com extractos de vária natureza devem obedecer a requisitos de assepsia. Considerando o solo onde as plantas crescem, como um fonte de produtos bacterianos pusemos a hipótese de estes serem uma das causas das mutações «espontâneas» cromossómicas ou mesmo génicas. Que esta ideia, expressa em 1955, tem hoje uma certa actualidade demonstra-o a intensa investigação actualmente em curso, sobretudo no Homem, sobre a chamada Toxicologia Genética que estuda a mutagenese cromossómica ou genética produzida por uma ampla gama de genotóxicos ambientais. Uma curta revisão desta problemática encontra-se no trabalho de José Rueff (1988) «Toxicologia genética e ensaios de cancerigénese». Mota (1964b) verifica que a feniltiocarbamida nas raízes de *Allium* provoca destruição do fuso acromático, contracção cromossómica, e pontes de stickness.

Fernando Mangas Catarino da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, na sua tese de doutoramento em 1968, demonstra que o tratamento de plantas de *Lobularia maritima* com solutos de diferentes concentrações de NaCl induz endopoliploidia nos tecidos da folha.

Montezuma de Carvalho (1966, 1973) estuda respectivamente, a acção do gás óxido nitroso (N_2O) na mitose dos tubos polínicos, após polini-

zação, no *Solanum tuberosum* e na meiose em *Tradescantia paludosa* ($2n=12$). É sabido que o N_2O quando introduzido sob pressão nos tecidos vegetais tem um poderoso efeito c-mitótico, sem todavia causar toxicidade. Baseando-se neste efeito, conseguiu-se que na batateira, nos tubos polínicos, se formasse um só núcleo espermático, fenómeno que poderá ter importantes implicações para a produção de haplóides por partenogénese. Também em *Tradescantia*, o tratamento de prometáfase I e metafase I dá lugar a grande % de núcleos restituição, os quais após recuperação formam diadas diplóides. Este método oferece mais vantagens que o clássico, usando colquicina.

Força centrífuga e temperatura

Um agente físico que pode provocar variações cromossómicas é a força centrífuga. Câmara (1936c e 1940a) estudou os seus efeitos na meiose em *Aloe arborescens* e *Rhoeo discolor* e tanto num caso como noutro notou frequentes não-disjunções dos cromossomas e «fusão» de cromossomas, com formação de pontes e fragmentos.

Outro agente é a temperatura, cujo efeito Câmara (1936a) estudou nas células mitóticas e meióticas do trigo, obtendo vários casos de células ou tecidos poliplóides. Também Resende e colaboradores (1944) estudou a acção da temperatura sobre a estrutura cromossómica nas mitoses da raiz de *Aloe mitrifomis*, *Vicia faba* L. e *Trillium sessile*. Observou contracção cromossómica, sendo as regiões nucleolares também afectadas.

Bibliografia

ALMEIDA, M. T.

1980 *Computer Methods in Cytotaxonomy*. Dissertação de doutoramento. Southampton.

ALVES, M. C. & LEITÃO, M. T.

1976 Contribuição para o conhecimento citotaxonómico das *Spermatophyta* de Portugal. XII - *Geraniaceae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 50: 231-245.

BAGULHO, F.

1982 Dez anos de trabalho no melhoramento de *Triticales* na ENMP. *Melhoramento*, 27 (1977-78): 129-138.

BARRADAS, M. T.

1982 Perspectivas do *Triticale* na problemática da cerealicultura portuguesa. *Melhoramento*, 27 (1977-78): 29-48.

BARROS, A., TAVARES, M. C. & GOMES, M. P.

1985 Segregação preferencial do cromossoma 13q; 14q. *Jornal do Médico*, 118 (2135): 621.

BARROS, A. & TAVARES, M. C.

1986 Citogenética e infertilidade. O cariótipo de linfócitos e de meioses no diagnóstico e prognóstico. *Jornal do Médico*, 120 (2173): 723-727.

BARROS, A., TAVARES, M. C., GOMES, M. P. & TAVARES, M. P.

1986 Familiar inv (1) (p36.3q12) associated with sterility. *Journ. of Med. Genet.*, 23: 90-91.

BARROS, A., TAVARES, M. C., CASTEDO, S., PEREIRA, M. S., TAVARES, M. P. & TAVARES, M. A.

1987 A complex balanced chromosomal rearrangement in repeated abortions. *Hum. Genet.*, 75: 388-390.

BAUER, H. & LE CALVEZ, J.

1944 Das Verhalten Chromosomen von *Ascaris megalocephala* nach Röntgenbestrahlung. *Chromosoma*, 2: 593-617.

BOAVIDA, M. G.

1980 Mapa Génico dos Cromossomas Humanos. *Brotéria Genética*, 1 (1): 9-10.

1983 Anomalias Cromossómicas Humanas. *Brotéria Genética*, 4 (LXXIX): 79-80.

BOAVIDA, M. G., PINTO, C. F., MARQUES, R. A., CONSTANT, R. A.

1983 Um Estudo Citogenético em Recém-Nascidos com Síndrome Malformativa. *Brotéria Genética*, 4 (LXXIX): 127-145.

BOAVIDA, M. G., PINTO, M. C., CARVALHO, M. A., AMORIM, A., FERNANDES, M. C. & HAGENFELDT, M. M.

1983 Associação entre retinoblastoma e deleção intersticial do cromossoma 13. Mais um caso. *Brotéria Genética*, 4 (LXXIX): 167-177.

BOAVIDA, M. G., MARQUES, R. A. & PINTO, M. C.

1984 Diagnóstico pré-natal de anomalias cromossómicas resultados do estudo de 400 casos. *Revista de Obstetrícia e Ginecologia*, VII, n.º 72: 221-223.

BOAVIDA, M. G., HAGENFELDT, M. M., ALEIXO, M., CONSTANT, R. & TAVARES, A.

1987 Tumor de Wilms com hemihipertrofia, aspectos genéticos (alguns comentários). *Rev. Port. Pediatr.*, 18: 223-225.

BOVERY, Th.

1897a Über die Befruchtung der Eier von *Ascaris megalocephala*. *Sitzungsber. Ges. Morph. Physiol. Münch.*, 3: 71-80.

- 1897b Über Differenzierung der Zelkerne Während der Forschung des Eies von *Ascaris*. *Anat. Anz.*, **2**: 688-693.

CÂMARA, A. S.

- 1934 Um estudo citológico do *Triticum monococcum* L. *Anais Inst. Sup. Agron.*, **6** (2): 5-36.
- 1935 Efeitos dos Raios-X nos cromossomas do *Triticum monococcum*. Sua análise na apreciação da filogenia do trigo. *Anais Inst. Sup. Agron.*, **6** (1): 5-8.
- 1936a Elementos para o estudo da indução de poliplóides no trigo. *Anais Inst. Sup. Agron.*, **7** (2): 214-233.
- 1936b Élément pour l'étude de la fragmentation chromosomique. *Rev. Agron.*, **24** (2): 3-6.
- c Estudo preliminar de variações cromossómicas induzidas pela centrifugação. *Rev. Agron.*, **24** (3): 331-347.
- d Uma hipótese sobre o mecanismo das translocações. *Anais Inst. Sup. Agron.*, **7** (2): 3-22.
- 1938 Sur l'existence de régions favorables à la rupture chromosomique. *Arch. Port. Sci. Biol.*, **4** (2): 237-250.
- 1940a A centrifugação fonte de variações cromossómicas. *Agron. Lusit.*, **2** (2): 181-202.
- b Cromonemata ramificados induzidos pelos raios-X. *Bol. Della Soc. Ital. Di Biol. Sperimentale*, **15** (1): 61-70.
- 1941a O problema da fragmentação cromossómica, operada pelos raios-X, estudado no *Triticum monococcum*. *Agron. Lusit.*, **3** (4): 431-359.
- b Zonas críticas de rotura nos cromossomas SAT do *Triticum monococcum*. *Agron. Lusit.*, **3** (4): 341-359.
- 1943 Estudo comparativo de cariótipos no género *Triticum*. *Agron. Lusit.*, **5** (2): 95-117.
- 1944a Cromossomas dos trigos hexaplóides. *Agron. Lusit.*, **6** (3): 221-251.
- b Um estudo citológico dos trigos *durum* portugueses. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **19**: 273-287.
- 1948 Relance da citologia do trigo, na apreciação da sua filogenia. *Las Ciencias*, **13** (1): 255-275.
- 1951 Progressos para o estudo do centrómero. *Brotéria*, Sér. Ciênc. Naturais, **20**: 5-34.

- 1953 Posição actual do problema do centrómero. *Genética Ibérica*, **5** (3-4): 67-99.
- CÂMARA, A. S. & AZEVEDO COUTINHO, L. A.
1939 Citologia dos trigos tetraplóides. *Agron. Lusit.*, **1** (3): 268-314.
- CÂMARA, A. S. & CARPIO, M. D. A.
1949 Influencia de la morfina sobre la meiosis de *Triticum*. *Genética Ibérica*, **1** (1): 1-14.
- CÂMARA, A. S., WAGNER, M. N. & GARDE, A.
1950 Location of breaks induced by X-rays in chromosomes of *Triticum*. *Genética Ibérica*, **2** (1): 1-14.
- CÂMARA, A. S., CASTRO, D. & NORONHA-WAGNER, M.
1959 Cytogenetics of Accessory Chromosomes in *Luzula Campestris* DC. *Agron. Lusit.*, **21** (3): 193-199.
- CARDOSO, M. J., TAVARES, M. C. & BORGES, B. P. S.
1983 Cromossomopatia 11p+. *Jornal do Médico*, **91**: 591-596.
- CARNIDE, V., MASCARENHAS-FERREIRA, A. & GUEDES-PINTO, H.
1988 A comparative study of *Triticale* lines as a forage crop. *Tag-Ber. Akad. Landwirtsch. Wiss. DDR, Berlin*, **266**: 591-604.
- CASPERSSON, T., ZECH, L., MODEST, E. J., FOLEY, G. E., WAGH, V. & SIMONSON, E.
1966 Chemical differentiation with fluorescent alkylating agents in *Vicia fabia* metaphases chromosomes. *Exp. Cell Research*, **58**: 128-140.
- CASTEDO, S. M. M. J., TAVARES, M. C. & CASTRO, I.
1985 Interesse e limitações do cariótipo na prática clínica. *O Médico*, **112**: 1013-1020.
- CASTEDO, S. M. M. J., CORREIA, C., GOMES, P., TAVARES, M. C. & PEREIRA, M. S.
1988a Estudos cromossómicos no cancro. Quando, como e porquê? *O Médico*, **124** (2249): 153-157.
- CASTEDO, S. M. M. J., JONG, B., OOSTERHUIS, J. W., SERUCA, R., IDENBURGH, V. J., BUIST, J. & SLEIJFER, D. T.
1988b i(12p)-Negative testicular germ cell tumors a different group?. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **35**: 171-178.
- CASTEDO, S. M. M. J., JONG, B., OOSTERHUIS, J. W., SERUCA, R., BUIST, J. & KOOPS, H. S.
1988c Cytogenetic study of a combined germ cell tumor of the testis. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **35**: 159-165.

- CASTEDO, S. M. M. J., JONG, B., OOSTERHUIS, J. W., SERUCA, R., IDENBURGH, V. J., DAM, A., MEERMAN, G., KOOPS, H. S. & SLEIJFER, D. T.
1989 Chromosomal changes in human primary testicular nonseminomatous germ cell tumors. *Cancer Res.*, **49**: 5696-5701.
- CASTRO, D.
1941 Algumas contagens de cromossomas no género *Ulex* L. (sensu lato). *Agron. Lusit.*, **3** (2): 103-113.
1943 Contribuição para o conhecimento cariológico dos géneros *Ulex* L., *Stauracanthus* Link e *Nepa* Webb. *Agron. Lusit.*, **5** (3): 243-249.
1945 Alguns dados cariológicos para a sistemática dos géneros *Echinospartum* (Spach) Rothm., *Stauracanthus* Link, *Nepa* Webb e *Ulex* L. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **19**: 525-538.
1954 Instabilidade cromossómica em *Luzula purpurea* Link. *Genética Ibérica*, **1** (1): 49-54.
- CASTRO, D., CÂMARA, A. & MALHEIROS, N.
1949 X-Rays in the centromere problem of *Luzula purpurea* Link. *Genética Ibérica*, **1** (1): 49-54.
- CASTRO, D. & MELLO-SAMPAYO, T.
1951 Observações sobre *Luzula purpurea* Link. Heterocromatina; Asinapsis. *Brotéria*, **20** (47), Fasc. II-III: 87-100.
1953 Poliploidia induzida, pontes e fragmentação em *Luzula purpurea*. *Genética Ibérica*, **5** (1-2): 3-22.
1954 Uma série poliplóide em *Luzula purpurea*. *Agron. Lusit.*, **16** (2): 111-114.
- CASTRO, D. & NORONHA-WAGNER, M.
1952 Notas sobre a perpetuação de fragmentos cromossómicos em *Luzula purpurea*. *Agron. Lusit.*, **14** (2): 95-99.
- CASTRO, D., NORONHA-WAGNER, M. & CÂMARA, A.
1954 Two X-Ray induced translocations in *Luzula purpurea*. *Genética Ibérica*, **6** (1-2): 3-18.
- CASTRO, I., CASTEDO, S. & TAVARES, M. C.
1985 Valorização clínica do cariótipo em algumas doenças hematológicas. *O Médico*, **112**: 1020-1028.
- CATARINO, F.
1968 Endopoliploidia e diferenciação, indução experimental de endopoliploidia em *Lobularia maritima* (L.) Desv. e *Bryophyllum crenatus*. Dissertação de doutoramento, Lisboa.

- COLLARES-PEREIRA, M. J.
1983 Estudo sistemático e citogenético dos pequenos ciprinídeos ibéricos pertencentes aos géneros *Chondrostoma agassiz*, 1835, *Rutibus rafinesque*, 1820 e *Anaocypris Collares-Pereira*, 1983. Dissert. de doutoramento. Lisboa.
- COUTINHO, L. A.
1940a Tipos cariológicos nas *Vicias*. *Palestras Agronómicas*, **2** (I): 3-17.
b Raças cariológicas na *V. sativa* L. *Agron. Lusit.*, **2** (4): 379-403.
1945 Novos subsídios para a cariologia do género *Vicia* L. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **19**: 449-455.
1956 Subsídios para o estudo cariológico da *Olea europaea* L. *Genética Ibérica*, **3** (1-2): 3-44.
- COUTINHO, L. A. & LORENA, M. C.
1942 Subsídios para o estudo cariológico do género *Trigonella* L. *Agron. Lusit.*, **4** (1): 73-86.
- COUTINHO, L. A. & SANTOS, A.
1943 Novas contribuições para a cariologia do género *Trigonella* L. *Agron. Lusit.*, **5** (4): 349-361.
- EGOZCUE, J., ANTICH, J., BALLESTA, F., GOYANES, V., IZQUIERDO, J., TAMPARILLAS, M. & TAVARES, A.
1978 *Genética Médica*. 1-533. Editorial Espaxs, Barcelona.
- FEIJÓO, M. J., GONÇALVES, H. & CORDEIRO, M.
1976 Síndrome de «Cri-Du-Chat». *Rev. Port. Ped.*, **7**: 1-11.
- FELDMAN, M.
1966 The effect of chromosomes 5B, 5D and 5A on chromosome pairing in *Triticum aestivum*. *P. N. A. S.*, **US 55**: 227-233.
- FELDMAN, M., MELLO-SAMPAYO, T. & SEARS, E. R.
1966 Somatic association in *Triticum aestivum*. *P. N. A. S.*, **56**: 1192-1199.
- FELDMAN, M. & MELLO-SAMPAYO, T.
1967 Suppression of homoeologous pairing in hybrids of polyploid wheat X *Triticum speltoides*. *Can. J. Genet. Cytol.*, **9**: 397-413.
- FELDMAN, M., MELLO-SAMPAYO, T. & AVIVI, L.
1972 Somatic association of homoeologous chromosomes in *Triticum aestivum*. *Chromosoma* (Berl.), **37**: 209-222.
- FERNANDES, A.
1930 Observations anatomiques et cytologiques sur *Narcissus bulbocodium* L. *C. R. Soc. Biol.*, **103**: 1267.

- 1931 Estudos nos cromossomas das Liliáceas e Amarilidáceas. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 7: 3-110.
- 1933 Novos estudos cariológicos no género *Narcissus* L. *Rev. Fac. Ciênc. Univ. Coimbra*, 3: 53-119.
- 1935 Les satellites chez *Narcissus reflexus* Brot. et *N. triandrus* L. I - Les satellites des méthaphases somatiques. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 1: 249-275.
- 1936 Les satellites chez les *Narcissus*. II - Les satellites pendant la mitose. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 11: 87-142.
- 1937a Sur l'origine du *Narcissus dubius* Gouan. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 12: 93-118.
- b Les satellites chez les *Narcissus*. III - La nature du filament. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 12: 139-158.
- c Le problème de *Narcissus tazetta* L. I - Les formes à 22 chromosomes somatiques. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 12: 159-219.
- 1939a Sur l'origine du *Narcissus jonquilloides* Willk. *Scient. Genet.* 1: 16-61.
- b Sur le comportement d'un chromosome surnuméraire pendant la mitose. *Scient. Genet.*, 1: 141-166.
- c Sur la caryo-systématique du groupe *Jonquilla* du genre *Narcissus* L. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 13: 487-544.
- 1940 Sur la position systématique et l'origine de *Narcissus Broussonettii* Lag. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 14: 53-66.
- 1943a Sur la caryo-systématique de la section *Autumnales* Gay du genre *Narcissus* L. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 17: 5-54.
- b Sur l'origine des chromosomes surnuméraires hétérochromatiques chez *Narcissus bulbocodium* L. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 17: 251-256.
- 1944 Sobre a cário-sistemática da secção *Autumnales* Gay do género *Narcissus*. Comunicação apresentação à 4.^a Secção do Congresso Luso-Espanhol do Porto, 1942. *Publ. do Congr.*, 5: 4-19.
- 1946a Sobre a origem de *Narcissus johnstonii* Pugsley. *Anal. Jard. Bot. Madrid*, 6: 145-158.
- b Sur le comportement des chromosomes surnuméraires hétérochromatiques pendant la méiose. I - Chromosomes longs hétérobrachiaux. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 20: 83-154.
- 1949a Le problème de l'hétérochromatinisation chez *Narcissus bulbocodium* L. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 23: 5-88.
- b Sur la caryosystématique de la section *Ganymedes* (Salisb.) Schult. f. du genre *Narcissus* L. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 23: 177-218.
- 1950a La méiose chez *Narcissus poetaz* «Alsace». *Genét. Ibér.*, 2-3: 149-174.

- b Sobre a cário-sistemática da secção *Ganymedes* (Salisb.) Schult. f. do género *Narcissus* L. *Rev. Fac. Ciênc. Univ. Coimbra*, 19: 5-38.
- 1951a Sur la phylogénie des espèces du genre *Narcissus* L. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 25: 113-190.
- b Sur l'hétérochromatinisation des chromosomes nucléolaires. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 25: 249-284.
- 1952a Sobre a possível contribuição dos heterocromatinossomas no estabelecimento de novos números cromossómicos. *Las Ciencias*, 1952: 219-224.
- b Sur le rôle probable des hétérochromatinossomas dans l'évolution des nombres chromosomiques. *Scientia Genetica*, 4 (III): 168-181.
- 1957 The rehabilitation of *Narcissus cantabricus* DC. *Kew Bull.*, 3: 365-368.
- 1959a On the origin of *Narcissus cantabricus* DC. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 33: 47-60.
- b Sur l'origine de *Narcissus romieuxii* Br.-Bl. et Maire. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 248: 3672-3675.
- 1960 Sobre a origem de *Narcissus cantabricus* DC. *Las Ciencias*, 25 (3): 721-733.
- 1963 Sobre a evolução no subgénero *Corbularia* do género *Narcissus* L. *Mem. Acad. Ciênc. Lisboa, Cl. Ciênc.*, 8: 3-21.
- 1966a Nouvelles études caryologiques sur la section *Jonquilla* DC. du genre *Narcissus* L. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 40: 207-261.
- b Le problème du *Narcissus tazetta* L. II - Les formes à 20, 21, 30 et 32 chromosomes somatiques. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 40: 277-319.
- 1967 Contribution à la connaissance de la biosystématique de quelques espèces du genre *Narcissus* L. *Portug. Acta Biol. B*, 9: 1-44.
- 1968 Sur la caryologie du *Narcissus serotinus* L. *Collectanea Bot.*, 7, 2: 381-392.
- 1973 Um novo híbrido de *Narcissus*. *An. Soc. Brot.*, 39: 15-17.
- 1975 L'évolution chez le genre *Narcissus* L. *Anal. Inst. Bot. Cavanilles*, 32, 2: 843-872.
- FERNANDES, A. & ALMEIDA, M. T.
1971 Sur les nombres chromosomiques de quelques formes horticoles du genre *Narcissus* L. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 45: 227-252.
- FERNANDES, A. & NEVES, J. B.
1940 Sobre a origem das formas de *Narcissus bulbocodium* L. com 26 cromossomas. *Las Ciencias*, 7, 2: 1-5.
- 1961 Sur la caryologie de quelques Monocotylédones Africaines. *C. R. IV^e Réunion. Plén. A.E.T.F.A.T.*: 435-463.

FERNANDES, A. & FERNANDES, R.

- 1946 Sur la caryo-systématique du sous-genre *Ajax* Spach du genre *Narcissus* L. *Acta Universitatis Conimbrigensis*.

FERNANDES, A. & FRANÇA, F.

- 1972 Contribution à la connaissance cytotoxonomique des *Spermatophyta* du Portugal. VI - *Plantaginaceae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 46: 465-501.
- 1974 Sur le comportement des hétérochromatinosomes chez une population de *Narcissus hispanicus* Gouan. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 48: 5-39.
- 1975 Sur les nombres chromosomiques de quelques plantes du Mozambique. *Rev. Ciênc. Biol.*, Sér. A, 7: 83-106.

FERNANDES, A. & LEITÃO, M. T.

- 1971 Contribution à la connaissance cytotoxonomique des *Spermatophyta* du Portugal. III - *Caryophyllaceae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 45: 143-176.
- 1972 Contribution à la connaissance cytotoxonomique des *Spermatophyta* du Portugal. V - *Boraginaceae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 45: 143-176.
- 1981 Mecanismos evolutivos na família das *Lamiaceae*. *Mem. Acad. Ciênc. Lisboa, Cl. Ciênc.*, 24: 239-351.

FERNANDES, A. & MESQUITA, J. F.

- 1963 Sur le comportement des chromosomes surnuméraires hétérochromatiques à la méiose. II - Chromosomes courts hétérobrachiaux et isobrachiaux. *Portug. Acta Biol. (A)*, 7, 1-2: 19-3168.

FERNANDES, A. & QUEIRÓS, M.

- 1969 Contribution à la connaissance cytotoxonomique des *Spermatophyta* du Portugal. Introduction, matériel et techniques. I - *Gramineae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 43: 3-140.
- 1971 Contribution à la connaissance cytotoxonomique des *Spermatophyta* du Portugal. II - *Compositae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 45: 5-121.
- 1977 Contribution à la connaissance cytotoxonomique des *Spermatophyta* du Portugal. IV - *Leguminosae* (Supl. 2). *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 51: 137-186.
- 1978 Contribution à la connaissance cytotoxonomique des *Spermatophyta* du Portugal. IV - *Leguminosae* (Supl. 3). *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 52: 79-164.

FERNANDES, A., QUEIRÓS, M. & SANTOS, M. F.

- 1977 Contribution à la connaissance cytotoxonomique des *Spermatophyta* du Portugal. XV - *Scrophulariaceae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 51: 37-90.

FERNANDES, A. & SANTOS, M. F.

- 1971 Contribution à la connaissance cytotoxonomique des *Spermatophyta* du Portugal. IV - *Leguminosae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 45: 177-225.

- 1975 Contribution à la connaissance cytotoxonomique des *Spermatophyta* du Portugal. IV - *Leguminosae* (Supl. 1). *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, 49: 173-196.

FIALHO, J. & BOAVIDA, M. G.

- 1982 Trisomia 10p por translocação paterna 2/10. XV Congresso Espanhol de *Pediatria*, Valência, Espanha.

FIALHO, J., BOAVIDA, M. G., CONSTANT, R. & HAGENFELDT, M. M.

- 1988 Doble trisomia 11q y 22q en gemelos. *Arch. Pediatr.*, 39: 73-78.

GONÇALVES, A. C.

- 1936 Sur la position de la méiose dans le cycle évolutif des Characées. *Bull. Soc. Port. Sci. Nat.*, 12 (23): 175-177.

GUEDES-PINTO, H.

- 1986 Novas constituições genómicas em triticales. Sua obtenção e estudo. Dissertação de doutoramento. Lisboa.
- 1988 8 × Triticales with four *Secale* genomes. *Tag-Ber. Akad. Landwirtsch. Wiss. DDR*, Berlin.

GUEDES-PINTO, H., CARNIDE, O. P. & CARNIDE, V. P.

- 1984 New primary 8x-triticales for Portugal. I - Obtention of amphidiploids. *Brot. Genet.*, 5 (80): 139-146.

GUEDES-PINTO, H. & MELLO-SAMPAYO, T.

- 1985 Allo-autopolyploid triticales (AABBRRRR): I - Origin, behaviour and prospects. *Genetics and breeding of Triticale*, Eucarpia meeting, Clermont-Ferrand. INRA, Paris.

GUEDES-PINTO, H., PINTO-CARNIDE, O. & MELLO-SAMPAYO, T.

- 1988 Segregation of two different pH mutants in common wheat. *Seventh Int. Wheat Genet. Symp.*, Cambridge, 1: 287-292.

HEITZ, E.

- 1928 Das heterochromatin der Moose. I. *Jahrb. wiss. Bot.*, 69: 762-818.

HUGHES-SCHRADER, S. & RIS, H.

- 1941 The diffuse spindle attachment of coccids verified by the mitotic behaviour of induced chromosome fragments. *Journ. Exp. Zool.*, 87, 3: 429-451.

HOLDEN, J. W. H. & MOTA, M.

- 1956 Non-Synchronised meiosis in binucleate pollen mother cells of an *Avena* hybrid. *Heredity*, 10 (1): 109-117.

KIHLMAN, B.

- 1966 «Action of Chemicals on dividing cells». Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

- LA COUR, L. F.
1953 The *Luzula* system analysed by X-rays. *Heredity*, **6** (Suppl.): 77-81.
- LEITÃO, M. T. & ALVES, M. C.
1976 Contribuição para o conhecimento citotaxonomico das *Spermatophyta* de Portugal. XIV-Cistaceae. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **50**: 247-263.
- LIMA DE FARIA, A.
1983 Molecular evolution and the organization of the chromosome. Elsevier.
- MALHEIROS, N.
1942 Elementos para o estudo citológico do género *Lupinus*. *Agron. Lusit.*, **4** (3): 231-236.
- MALHEIROS, N. & CASTRO, D.
1947 Chromosome number and behaviour in *Luzula purpurea* Link. *Nature*, **160**: 156.
- MALHEIROS, N., CASTRO, D. & CAMARA, A.
1947 Cromossomas sem centrómero localizado. O caso da *Luzula purpurea* Link. *Agron. Lusit.*, **9** (1): 51-74.
- MALHEIROS, N. & GARDÉ, A.
1950 Fragmentation as a possible evolutionary process in the genus *Luzula* DC. *Genética Ibérica*, **2** (4): 257-262.
1951 Agmatoploidia no género *Luzula* DC. *Genética Ibérica*, **3** (3-4): 155-176.
- MATEUS, A. M.
1942a Contribution à l'étude des chromosomes de la *Chioglossa lusitanica* Boc. *An. Fac. Ciênc. Porto*, **27** (3): 184-188.
b Contribution à l'étude des chromosomes de la *Chioglossa lusitanica* Boc. II - Les chromosomes sexuels. *An. Fac. Ciênc. Porto*, **27** (4): 241-245.
1944 O problema dos cromossomas sexuais dos batráquios e o tpido de digameta σ de *Chioglossa lusitanica* Boc. (Dissertação). (Imprensa Portuguesa, Porto).
1952 Contribuição para o estudo dos cromossomas de *Triturus boscai* (Urodela). *Publ. Inst. Zool. Dr. Augusto Nobre*, **44**.
1953 Contribuição para o estudo dos cromossomas de *Triturus helveticus sequeirai* Wolters (Urodela). *Publ. Inst. Zool. Dr. Augusto Nobre*, **46**.
- MELLO-SAMPAYO, T.
1971 Genetic regulation of meiotic chromosome pairing by chromosome 3D of *Triticum aestivum*. *Nature, New Biol.*, **230**: 22-23.

- 1973 Somatic association of telocentric chromosomes carrying homologous centromeres in common wheat. *Theor. Appl. Genet.*, **43**: 174-181.
- 1978 The genetic regulation of chromosome association in polyploid wheat: a critical review of the research work done by the cytogenetics laboratory. *Melhoramento*, **27**: 91-121.
- MELLO-SAMPAYO, T., CASTRO, D. & MALHEIROS-GARDÉ, N.
1951 Observações sobre a autotetraploidia induzida pela colquicina em *Luzula purpurea* Link. *Agron. Lusit.*, **13**: 1-13.
- MELLO-SAMPAYO, T., SOUSA, A. C. A. & CUNHA, Z. R. L.
1980 Bivalent interlocking in common wheat. *Brotéria-Genética*, **1**: 177-180.
- MELLO-SAMPAYO, T., VIEGAS, W. & VIEIRA, R.
1988 Chromosome aberrations in F_1 hybrids *Triticum aestivum* \times *Secale cereale* in the absence of Ph_1 gene. *Brotéria-Genética*, **9** (84), 167-173.
- MENDES, E. J.
1946 Mitosis in the spermatogenous threads of *Chara vulgaris* L. var. *longibracteata* Kütz. *Port. Acta Biol. (A)*, **1**: 251-262.
- MESQUITA, J. F. M.
1963 Sobre o comportamento dos heterocromatinossomas em *Anthoxanthum aristatum* Boiss. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **37**: 91-110.
- MONTEZUMA DE CARVALHO, J.
1955 Induction of chromosome breakage with bacterial products. The origin of mutations. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **29**: 145-183.
1956 X-ray experiments on mitosis. I - Analysis of chromosome changes in colchitetraploide X_2 cells. *Bol. Soc. Brot.* Sér. 2, **30**: 221-240.
1957 Acção dos raios-X sobre os cromossomas de *Vicia faba* L. *Publ. XXIII Congr. Luso-Esp. Progr. Ciênc.*, **5**, Coimbra, 1956.
1961 X-ray induced breakage in chromosomes with diffuse centromeres. In *Effects of Ionizing Radiation on Seeds*, pp. 271-277, Intern. Atomic Energy Agency, Vienna.
1962a Estrutura e reprodução do cromossoma. Estudos com raios-X, microscopia electrónica e auto-radiografia. Dissert. de doutoramento. Coimbra.
b The period of DNA synthesis in the mitotic cycle of *Luzula purpurea*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **36**: 179-188.
1966 The effect of N_2O on pollen tube mitosis in styles and its potential significance for inducing haploidy in potato. *Euphytica*, **16** (2): 190-198.
1973 The effect of N_2O on meiosis. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **47**: 5-16.

MOORHEAD, P. S., NOWELL, P. C., MELLAN, W. J., BATTIPS, D. M. & HUNGERFORD, D. A.

- 1960 Chromosome preparation of leukocytes from human peripheral blood. *Exp. Cell Res.*, **20**: 613-616.

MOTA, M.

- 1952 The action of seed extracts on chromosomes. *Arquivo de Patologia*, **24** (3): 336-357.

1964a Os cromossomas do Homem. Revisão histórica. *Brotéria*, **33** (1-2): 3-16.

- b Estudo da acção da feniltiocarbamida sobre a mitose. *Bol. Clínico e Estatístico do Hosp. Ultr.*, **15**: 109-114.

1968-1969 Centeios tetraplóides. *Melhoramento*, **21**: 448-449.

MULLER, H. J.

- 1927 Artificial transmutation of the gene. *Science*, **66**: 84-87.

NATIVIDADE, J. V.

- 1935 Investigações citológicas em variedades culturais de Pereiras (*Pyrus communis* L.) *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **10**: 1-11.

1937 Recherches cytologiques sur quelques espèces et hybrides du genre *Quercus*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **12**: 21-92.

NEVES, J. B.

- 1939 Contribution à l'étude caryologique du genre *Leucojum* L. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **13**: 545-572.

1944 Contribuição para o estudo cário-sistemático das espécies portuguesas do género *Ranunculus* L. Dissertação de doutoramento. Coimbra.

1952 Estudos cariológicos no género *Ornithogalum* L. Dissertação para curso de Prof. Extraordinário. Coimbra.

1973 Contribution à la connaissance cytotoxinomique des *Spermatophyta* du Portugal. VII - *Linaceae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **47**: 157-212.

NORDENSKIÖLD, H.

- 1955 The effect of X-ray treatment in dormant seeds of *Luzula pallescens* and *L. capitata*. *Kungl. Lautbrukshögskol. Annal.*, **22**: 257-267.

NORONHA-WAGNER, M. & MELLO-SAMPAYO, T.

- 1972 Haploids nulli 5B of *Triticum aestivum*. *Agron. Lusit.*, **33**: 315-322.

PAINTER, T. S. & STONE, W.

- 1935 Chromosome fusion and speciation in *Drosophila*. *Genetics*, **20**: 327-342.

PAIVA, J. A. R. & LEITÃO, M. T.

- 1987 Números cromossómicos de plantas de África Tropical. *Fontqueria*, **14**: 37-43.

PINTO-CARNIDE, O.

- 1990 Estudo no género *Secale*, aspectos citogenéticos e de melhoramento. Dissertação de doutoramento.

PINTO-CARNIDE, O., GUEDES-PINTO, H. & CARNIDE, V.

- 1988 New advanced 6x *Triticale* lines of the north of Portugal. *Tag-Ber. Akad. Landwirtsch. Wiss. DDR, Berlin*, **266**: 415-426.

PINTO DE CARVALHO, A., TAVARES, A., HORTA, M. E. & REIS, M.

- 1976 Estudo da ploidia celular no prognóstico dos tumores da bexiga. *Rev. Port. Clin. Terap.*, **2** (5): 243-249.

PINTO-LOPES, J.

- 1944 Sobre a carilogia da secção *Coarctatae* Berger do género *Haworthia* Duval. (Dissertação). Lisboa.

QUEIRÓS, M.

- 1972 Contribution à la connaissance cytotoxinomique des *Spermatophyta* du Portugal. VII - *Umbelliferae*. *Anu. Soc. Brot.*, **38**: 293-314.

1973a Contribution à la connaissance cytotoxinomique des *Spermatophyta* du Portugal. IX - *Cruciferae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **47**: 315-335.

b Contribution à la connaissance cytotoxinomique des *Spermatophyta* du Portugal. *Gramineae*, Supl. 1. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **47**: 77-103.

c Contribution à la connaissance cytotoxinomique des *Spermatophyta* du Portugal. *Compositae*, Supl. 1. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **47**: 299-314.

1974a Contribution à la connaissance cytotoxinomique des *Spermatophyta* du Portugal. *Umbelliferae*, Supl. 1. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **48**: 171-186.

b Contribution à la connaissance cytotoxinomique des *Spermatophyta* du Portugal. *Gramineae*, Supl. 2. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **48**: 41-98.

1975a Contribution à la connaissance cytotoxinomique des *Spermatophyta* du Portugal. X - *Chenopodiaceae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **49**: 121-142.

b Contribution à la connaissance cytotoxinomique des *Spermatophyta* du Portugal. XI - *Euphorbiaceae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **49**: 143-161.

1976 Contribution à la connaissance cytotoxinomique des *Spermatophyta* du Portugal. XII - *Onagraceae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **50**: 107-116.

1977 Contribution à la connaissance cytotoxinomique des *Spermatophyta* du Portugal. XVI - *Malvaceae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **51**: 187-199.

- 1980 Contribution à la connaissance cytotoxinomique des *Spermatophyta* du Portugal. XVII - *Papaveraceae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **54**: 153-171.
- 1981 Os estudos cariológicos nas publicações da Sociedade Broteriana. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **54**: 275-290.
- 1984 Cytotaxonomie de quelques *Spermatophyta* du Portugal. Considérations générales. *Webbia*, **38**: 805-810.
- 1985a Números cromossómicos para a flora portuguesa. 86-103. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **58**: 85-96.
- b Notes de caryologie portugaise *Pteridophyta*, I à III. *Rev. Valdôtaine d'Hist. Naturelle*, **39**: 137-141.
- 1988 Catálogo dos taxa referidos na série «Contribuição para o Conhecimento Citotaxonomico das *Spermatophyta* de Portugal». I - *Gramineae*. *Lagascalia*, **15** (1): 79-88.
- QUEIRÓS, M. & ORMONDE, J.
- 1984 Contribuição para o conhecimento citotaxonomico da Flora dos Açores. I. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **57**: 77-85.
- 1987a Contribuição para o conhecimento citotaxonomico da Flora dos Açores. II. *Ann. Jard. Bot. Madrid*, **44** (2): 255-273.
- b Contribuição para o conhecimento citotaxonomico da Flora dos Açores. III. *Rev. Biol. Univ. Aveiro*, **1**: 31-46.
- QUEIRÓS, M., ORMONDE, J. & NOGUEIRA, I.
- 1988 Notas cariológicas e fitogeográficas de algumas pteridófitas de Portugal. I. *Acta Bot. Malacitana*, **13**: 121-140.
- READ, J.
- 1959 «Radiation Biology of *Vicia faba* in relation to the general problem». Blackwell, Oxford, p. 270.
- RESENDE, F.
- 1937 Über die Ubiquität der SAT-Chromosomen bei den Blütenpflanzen. Dissertation. *Planta*, **26** (5): 757-807.
- 1938 Nucleoli and SAT-chromosomes. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **13**: 392-418.
- 1939 Über das Verhalten des SAT-Fadens. *Planta*, **29**: 306-414.
- 1940 Estudos cariológicos nas *Aloinae*. III - A poliploidia na Secção *Tessellatae* do género *Haworthia* e as actuais leis de prioridade em sistemática.
- 1945 Heterocromatina. *Actual. Biol.*, **18**: 159-206; Idem. *Portugal. Acta Biol. (A)*, **1** (2): 139-173.
- 1946 Sur la constitution histo-chimique probable de la olisthérozone nucléolaire. *Portug. Acta Biol. (A)*, **1** (3): 265-270.

- RESENDE, F., PEREIRA, A.L. & CABRAL, A.
- 1944 Sur la structure des chromosomes dans les mitoses des méristèmes radiculaires. III - Action de la température sur la structure chromosomique. *Portug. Acta Biol. (A)*, **1** (1): 9-46.
- RESENDE, F. & RIJO, L.
- 1948 Structure of chromosomes as observed in root-tips. V - Olistherochromatin, chromatic agglutination and mutations. *Portug. Acta Biol. (A)*, **2** (3): 117-147.
- RESENDE, F. & VIVEIROS, A.
- 1948 Caryological studies in the *Aloinae*. V - Contribution to the knowledge of the genus *Haworthia*. *Portug. Acta Biol. (A)*, **2** (3): 175-190.
- REVELL, S.H.
- 1953 Chromosome breakage by X-rays and radiomimetic substances in *Vicia*. *Heredity*, **6** (Suppl.): 125-147.
- RILEY, R. & CHAPMAN, V.
- 1958 Genetic control of the cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. *Nature*, **182**: 713-715.
- RIS, H.
- 1942 A cytological and experimental analysis of the meiotic behaviour of the univalent X-chromosome in the bearbarry aphid *Tamalia* (= *Phyllaphis*) *coweni*. *Journ. Exp. Zool.*, **90**: 267-322.
- ROCHA, J., AMORIM, A., ALMEIDA, V.M., OLIVEIRA, J.P., LEÃO, M., TAVARES, M.C., PEREIRA, M.S. & VIDAL-PINHEIRO, L.
- 1988 Gene dosage evidence for the regional assignment of GPT (glutamate-pyruvate transaminase; E.C. 2.6.1.2.) locus to 8q24.2 8qter. *Hum. Genet.*, **80**: 299-300.
- RODRIGUES, J.E.M.
- 1945 Sobre a localização da meiose no ciclo de vida das *Characeae*. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **19**: 609-613.
- 1950 Sobre a cário-sistemática de *Helianthemum libanotis* (L.) Wild. *Mem. Soc. Brot.*, **6**: 113-119.
- 1953 Contribuição para o conhecimento cariológico das halófitas e psamófitas litorais. Dissertação de doutoramento. Coimbra.
- 1954 Notas sobre a carilogia de *Cistus palhinhaei* Ingram, *C. crispus* L., *Plantago maritima* L. e *Campanula vidalii* Watson. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **28**: 117-129.
- 1956 Sobre a carilogia de *Scrophularia canina* L. *Las Ciencias*, **21** (2): 3-16.

- ROMANO, M. C. S. & BARRADAS, M. C.
1980 Irregularidades meióticas verificadas em algumas linhas de *T. aestivum* subsp. *vulgare*. *Melhoramento*, **28**: 127-136.
- ROMANO, M. C. S., ANTUNES, S. & BARRADAS, M. C.
1981 Correlação entre distúrbios meióticos e fertilidade numa linha de *T. aestivum* subsp. *vulgare*. *Melhoramento*, **29**: 37-44.
- RUEFF, J.
1988 Toxicologia genética e ensaios de cancerigénese. In Colóquio sobre a «Problemática do Tabagismo em Portugal». *Publ. do II Cent. da Acad. Ciênc. Lisboa*.
- RUEFF, J., LAIRES, A., BORBA, H., CHAVECA, T., GOMES, M. I. & HELPERN, M.
1986 Genetic toxicology of flavonoids: the role of metabolic conditions in the induction of reverse mutation sos functions and sister-chromatid exchange. *Mutagenesis*, **1** (3): 179-183.
- SANTOS, H. G., FEIJÓO, M. J. & REIS, I.
1981 Trissomia 13 parcial. *Rev. Port. Ped.*, **12**: 210.
- SANTOS, H. G., MENESES, I., MARGARIDA, T. & MARTINS, M.
1986 Trissomia 18. Análise de 12 casos. *Rev. Port. Ped.*, **18**: 79-85.
- SCHRADER, F.
1935 Notes on the mitotic behaviour of long chromosomes. *Cytologia*, **6**: 422-431.
- SERRA, J. A.
1942 Relations entre la chimie et la morphologie nucléaire. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **16**: 83-115.
1943 Sur la composition protéique des chromosomes et la réaction nucléale de Feulgen. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **17**: 203-211.
1944 Une réaction nouvelle pour l'histochemie: la réaction de l'arginine. *Z. Wiss. Mikrosk.* **60**.
1945 An attempt at a synthesis of the physiological and the cytological concepts of the gene. *Bol. Soc. Brot.*, Sér. 2, **19**: 327-639.
1947a Contributions to a physiological interpretation of mitosis and meiosis. I - The composition of the resting stage nucleus. *Portug. Acta Biol.* (A), **2**: 25-44.
b Contributions to a physiological interpretation of mitosis and meiosis. II - The prophasic appearing of the chromonemata and the spiralization. *Portug. Acta Biol.* (A), **2**: 45-90.

- c Composition of chromonemata and matrix and the role of nucleoproteins in mitosis and meiosis. *Cold Spring Symp.*, **12**: 192-210.
- 1949 Moderna Genética, Geral e Fisiológica. Coimbra.
- 1955a Chemistry of the nucleus. In «Handbuch der Pflanzenphysiologie», **1**: 413-414. Springer, Berlin.
b Fine structure of the nucleus. In «Handbuch der Pflanzenphysiologie», **1**: 445-471. Springer, Berlin.
c Physical chemistry of the nucleus. In «Handbuch der Pflanzenphysiologie», **1**: 472-506. Springer, Berlin.
- 1958 Proteins and nucleic acids as genetic determinants: apogenons and cogenons. *Portug. Acta Biol.* (A), **5**: 126-133.
- 1959 Gene theory: a model of the gene and its sub-units. *The Nucleus*, **2** (1): 9-22.
- 1966 The annual invitation lecture on the role of treption in biological evolution. *Can. J. Genet. Cytol.*, **8**: 165-183.
- 1979 Lógica biológica e revalidação actualizada de conceitos fundamentais: unidades genéticas, variação trepcional e bases genéticas da especiação. *Portug. Acta Biol.* (A), **15**: 135-201.
- SERRA, J. A. & QUEIROZ LOPES, A.
1945 Une méthode pour la demonstration du phosphore des acides nucleiques. *Portug. Acta Biol.* (A), **1**: 111-122.
- SERRA, J. A. & PICCIOCHI, P. G. C.
1960a Demonstration of canonic gonial mitosis and meiosis in *Parascaris equorum*. *Science*, **132** (3437): 1400-1401.
b Studies of meiosis in polycentric chromosomes of *Parascaris*. I - Behaviour during diplotene. *Rev. Port. Zool. Biol. Ger.*, **2** (3-4): 227-284.
c A correct account of gonial mitosis and early meiosis in the horse *Ascaris*. *Rev. Port. Zool. Biol. Ger.*, **2** (3-4): 249-276.
- SERRANO, A. R. M. & COLLARES-PEREIRA, M. J.
1989 Cytotaxonomic study of *Cephalota hispanica* (Gory, 1883) and *Spiralia maura* (Linnaeus, 1758) two cicindelids from Portugal (Coleoptera). *Genética*, **79**: 69-75.
- SILVA, A. M. B.
1989 Infertilidade masculina. Análise cromossómica e do esperma. Dissertação de doutoramento. Porto.

- SOUSA, M. J., BOAVIDA, M. G. & PINTO, M. C. F.
1982 Síndrome de Monosomia. *Arq. Clínico da Maternidade Dr. Alfredo da Costa*, **10**: 63-69.
- STADLER, L. J.
1928 Mutations in barley induced by X-rays and radium. *Science*, **68**: 186.
- TAVARES, A. S.
1970 Conceito de intersexo. Separata do Colóquio 3 - tomo IV. *XXIX Congresso Luso-Espanhol para o Progresso das Ciências*.
1971 Alterações cromossómicas iatrogénicas no Homem. *O Médico*, **77** (1500): 423-431.
1978 *Genética Médica*. Editorial Espaxs, Barcelona, capítulos 2, 4 e 19.
1979 Perspectives of genetics for man. *Acta Med. Port.*, **1**: 38-45.
- TAVARES, A. S. & TAVARES, M. C.
1980 Localização genética nos cromossomas humanos. *Brotéria-Genética*, **1** (76): 135-168.
- TAVARES, M. C.
1983 O interesse das bandas de alta resolução nas cromossomopatias. Translocação 4/10. *Jornal do Médico*, **113** (2050): 336-339.
- TAVARES-CUMMINGS, M. P. V. S.
1990 O aborto espontâneo de repetição em genética clínica. Dissertação de doutoramento. Porto.
- TAVARES, M. P. S. & TAVARES, M. C.
1984 Translocações do cromossoma 1 em casais com abortamento de repetição. *O Médico*, **110**: 33-35.
- TEIXEIRA, R. S. C.
Estudo citogenético do Síndrome de Down, revisão da literatura e contribuição pessoal. Estudo monográf. para o acto de doutoramento. Coimbra.
- VIEGAS, W. S., MELLO-SAMPAYO, T., FELDMAN, M. & AVIVI, L.
1980 Reduction of chromosome pairing by spontaneous mutation on chromosome arm 5D^L of *Triticum aestivum*. *Can. J. Genet. Cytol.*, **22**: 569-575.
- VILLAX, E. & MOTA, M.
1953 Behaviour of a *Triticum* × *Secale* hybrid under the action of colchicine. *Nature*, **172** (4374): 412.
- VILLAX, E., MOTA, M. & PONCE-DENTINHO, A.
1954 Dois novos triticales. *Melhoramento*, **7**: 29-56.

- VIVEIROS, A.
1949 Kariological studies on the Aloinae VI. Polyploidy, asynchronous chromonemata multiplication and general karyotype. *Port. Acta Biol. (A)*: 200-230.
1952 Aglutinação, olisterocromatina, heterocromatina e determinismo do sexo nas *Cycadales*. Dissertação. Lisboa.
1959 A caryological contribution towards the taxonomy of the *Coarctatae* section of *Haworthia*. *Rev. Biol.*, **2** (1): 25-50.
1973 Sobre a cariologia de algumas espermatófitas de Moçambique-I. *Rev. Ciênc. Biol.*, **6** (A): 37-45.
- VIVEIROS, A. & MANARTE, M.
1954 Acção de extractos de tabaco sobre a mitose (Nota preliminar). *Portug. Acta Biol. (A)*, **4** (1): 81-85.
- WALLACE, H. & BIRNSTIEL, M. L.
1966 Ribosomal cistrons and the nuclear organizer. *Biochim. Biophys. Acta*, **114**: 296-310.
- WARDEN, J.
1967 Protein interference in the localization of nucleic acids in *Bryophyllum*: staining with methyl-green and pyronin. *Portug. Acta Biol. (A)*, **10** (1-2): 55-74.
1971 Ammoniacal silver staining of *Vicia faba*, *Allium cepa* and *Bryophyllum crenatum*. *Portug. Acta Biol. (A)*, **12** (1-2): 77-96.
1974 Urea and pyridine in Feulgen staining of *Bryophyllum*. *Acta Histochem.*, **50**: 98-104.
1986 HCL-Giemsa staining of *Prunus armeniaca* L. chromosomes. *Rev. Biol.*, **13**: 61-63.
- WATSON, J. D. & CRICK, F. H. C.
1953 Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, **171**: 737-738.
- WHITE, M. J. D.
1936 The chromosome cycle of *Ascaris megalocephala*. *Nature*, **37**: 783.