EDUCAÇÃO e TECNOLOGIA

Revista do Instituto Politécnico da Guarda

EDUCAÇÃO E TECNOLOGIA

Propriedade
Instituto Politécnico da Guarda

Director
João Bento Raimundo

Redacção
Serviços Centrais do IPG - Quinta do Zambito
6300 Guarda
telf. 222634 * telecópia 222690

Composição
Gabinete Editorial do IPG

Execução Gráfica e Impressão
Secção de Reprografia do IPG

Periodicidade
Semestral

Tiragem
1.000 ex.

Depósito Legal
nº 17.981/87

nº XII - Julho de 1993

Foto da Capa : Campo de Jogos e vista parcial
da Escola Superior de Educação

EVIDÊNCIAS e VALORES

A Revista "**Educação e Tecnologia**" apresenta hoje o seu décimo segundo volume.

Poderemos afirmar, sem hesitações, que é uma publicação solidamente firmada, um título bem projectado no panorama das edições desta natureza.

A nossa Revista, como facilmente se pode verificar, traduziu a evolução registada por este estabelecimento de ensino superior, consubstanciando essa própria evolução, alicerçando colaborações e incentivando novos trabalhos, em vários domínios.

E este percurso não pode passar indiferente às novas estruturas projectadas e que vão ser de importância fundamental para a prossecução de todo um trabalho subjacente à dinâmica cultural, científica e pedagógica de um estabelecimento de ensino superior. Neste contexto, a construção de uma Biblioteca Central no IPG vai responder às exigências hodiernas e contemplar as previsíveis alterações do futuro, tornando-se num permanente centro de documentação e pesquisa.

Daí resultarão, estamos certos, novos e importantes contributos para esta publicação que também aí terá um estatuto de relevo, como produção própria do IPG e veículo de difusão de ciência e cultura.

É que, continuamos de olhos postos no futuro, apostados em servir cada vez melhor, sempre dentro de rigorosos critérios de competência e com permanente afirmação de qualidade.

Se é certo que o sonho comanda a vida, "*aquilo que só existe no sonho* — como escreveu Georges Gusdorf — *resiste melhor à usura do tempo, à degradação das evidências e dos valores.*"

João Raimundo
Presidente da Comissão Instaladora
do Instituto Politécnico da Guarda

A CITOTAXONOMIA

António Marques*

INTRODUÇÃO

A citotaxonomia, que se ocupa do número e comportamento dos cromossomas, relacionando-os com estudos de natureza sistemática, foi muito popular no período de 1930-1960.

A maioria das espécies possui uma individualidade no número, tamanho e posição dos centrómeros, constrições secundárias e satélites dos cromossomas. Foi Navashin quem demonstrou, pela primeira vez, esta singularidade que levou à formulação do conceito de idiograma (Stebbins, 1987). Este termo foi mais tarde substituído por Delaunay (*cit. in* 10) para cariótipo que passou a ser de uso mais geral, mantendo-se a designação de idiograma para a representação do cariótipo. Levisky, Heitz e Darlington (*cit. in* 11) estabeleceram, mais tarde, os principais parâmetros presentes no estabelecimento de um cariótipo, nomeadamente: 1- o número de cromossomas; 2- a forma e tamanho relativo de diferentes cromossomas do mesmo complemento; 3- o número e tamanho de satélites e constrições secundárias; 4- o tamanho absoluto dos cromossomas; 5- a distribuição de eucromatina e heterocromatina.

Mais tarde Levisky (1924, *cit. in* 11) demonstrou que, em muitos géneros, a evolução do cariótipo poderia ter ocorrido por intermédio de pequenas modificações graduais na estrutura dos cromossomas. Por exemplo, diversos estudos comprovam que a evolução poderá ter ocorrido no sentido da alteração de cariótipos simétricos para assimétricos, embora também existam situações onde se demonstrou a reversibilidade deste processo.

O estudo do comportamento dos cromossomas durante a meiose, foi outro passo importante para a avaliação do grau de parentesco entre indivíduos. O grau de emparelhamento durante a meiose em espécies híbridas é um factor a ter em conta na

* Equiparado a Prof. Adjunto da ESEG.

avaliação de homologia, embora se tenha verificado a existência de controlos genéticos do processo, quer por genes simples ou por sistemas poligénicos, pelo que não poderá ser considerado como um parâmetro exacto dos níveis de homologia presentes entre cromossomas.

Apesar das restrições inerentes aos estudos citotaxonómicos, a análise de cariótipos tem permitido solucionar diversos problemas e, em cada ano que passa, novos avanços a este nível acontecem.

ALTERAÇÕES CROMOSSÓMICAS NUMÉRICAS: SUA ORIGEM E IMPORTÂNCIA EVOLUTIVA

A nível da citotaxonomia, o número de cromossomas é a característica mais utilizada, já adoptada nas Floras e de notória importância em estudos de relações filogenéticas. Embora a maioria das espécies sejam diploides, existem diversos tipos de alterações cromossómicas numéricas que podem originar organismos poliploides, aneuploides e até mesmo haploides, podendo estas alterações estar na base da formação de novas espécies.

Os organismos autoploides ou autopoliploides são muito frequentes nas plantas e possuem três ou mais complementos cromossómicos do mesmo genoma. Estes organismos originam-se normalmente devido a erros que podem ocorrer numa ou em ambas as divisões meióticas, sendo o mais frequente a produção de um gâmeta não reduzido que, ao se unir com um gâmeta normal, origina um zigoto triploide, ou tetraploide no caso de se dar a fecundação com outro gâmeta não reduzido. Naturalmente, na descendência destes organismos pode acontecer, pelos mesmos motivos, o aparecimento de outros níveis de ploidia.

Uma outra origem das autoploidias, mais rara que a anterior, é a duplicação de cromossomas em células somáticas, em consequência de erros naturais ou induzidos que impedem a disjunção dos cromatídeos na anafase. Os cromatídeos individualizam-se mais tarde, após a reconstrução da membrana nuclear, formando-se células com o dobro dos cromossomas. Os tecidos poliploides gerados a partir dessas células poderão dar origem a gâmetas diploides.

Os aloploides possuem normalmente vários complementos cromossómicos provenientes de dois ou mais genomas distintos, pelo que a aloploidia está relacionada com a formação de híbridos entre duas ou mais espécies. A origem mais vulgar dos aloploides é a duplicação dos cromossomas de um híbrido entre

duas espécies, tal como foi explicado pela primeira vez por Winge (1917, *cit. in* 8). Os aloploides podem, no entanto, também originar-se por hibridação entre dois autoploides, ou então, através da união de dois gâmetas não reduzidos.

Para além das alterações numéricas geradoras de células e de organismos poliploides, existem outras alterações menos drásticas - as aneuploidias. As aneuploidias consistem na existência de variações numéricas em que o número cromossómico não é múltiplo exacto do número monoploide (n). Podem ser hiperploidias se existe excesso de cromossomas - trissómicos (2n + 1), ou tetrassómicos (2n + 2), ou hipoploidia, se existem cromossomas a menos - monossómicos (2n - 1) ou nulissómicos (2n - 2).

Casos de aneuploidia podem originar-se por perda ou ganho de cromossomas devido a não disjunção correcta durante a mitose ou a meiose. Nos casos em que estas pequenas alterações numéricas se mantêm estáveis na população, poderão contribuir para o processo de especiação.

Darlington (1937 *cit. in* 10) mostrou, de uma forma engenhosa, como é possível a ocorrência de aneuploidias através de translocações desiguais. Imaginem-se dois cromossomas não homólogos com centrómero terminal ou subterminal, em que o braço longo de um deles é translocado para o outro cromossoma, ficando este último com dois braços e um centrómero mediano. Na metafase meiótica serão observados um bivalente grande e um bivalente muito pequeno, podendo este último passar, na sua totalidade, ao mesmo pólo. Um caso deste tipo foi já observado por Gerassimova (1939, *cit. in* 11), artificialmente produzido em *Crepis tectorum*.

Um outro tipo de aneuploidia que poderá ser responsável por um aumento no número de cromossomas é a combinação de casos de redução com casos de aumento do número de cromossomas. Vamos supor que espécies 2n = 14, produtoras de gâmetas com 7 cromossomas, sofrem uma redução produzindo gâmetas com 6 ou com 5 cromossomas. São então possíveis combinações do tipo n = 10 (5 + 5), n = 11 (5 + 6), n = 12 (6 + 6 ou 7 + 5) e, seguindo o mesmo raciocínio, facilmente se conclui que podem aparecer ainda combinações do tipo n = 14, 15, 16, 17, etc. Séries deste tipo foram já produzidas experimentalmente em Brassica por U, Nagahuru (1935).

Para analisar o grau de ploidia existente em determinado organismo, é necessário definir o número cromossómico original a partir do qual evoluiu. Este número cromossómico base (x), que é fácil de determinar em alguns grupos, só pode ser deduzido ou mesmo conjecturado noutros. No género *Festuca*, com espécies com 2n = 14, 28, 42, 56, e 70 é fácil de determinar o número cromossómico base de 7 e por isso são conhecidos neste género 2, 3, 6, 8 e 10 níveis de ploidia (Stace, 1991). No género *Pandanus*,

pelo contrário, todas as espécies em que se procedeu à contagem de cromossomas, possuíam 2n = 60, daí que o número cromossómico base poderá ser 5, 6, 10, 15, ou 30. No entanto, num estudo mais recente, realizado em espécies da família *Pandanaceae*, determinaram-se 2n = 30, o que sugere um número cromossómico base para o género *Pandanus* de 5 ou 15 a não 6, 10 ou 30 (Stace, 1991). Indecisões deste tipo, sobre o número cromossómico base, acontecem com muita frequência devido à extinção das espécies ancestrais diploides.

Embora seja por vezes difícil calcular o número base de cromossomas, esse parâmetro tem tido um papel importantíssimo em estudos de sistemática e de evolução das espécies. Favarger (1960, *cit. in* 9), por exemplo, demonstrou que as espécies *Cicendia filiformis* e *Microcala pusilla*, que pertenciam no passado ao mesmo género - *Cicendia*, tinham diferentes números cromossómicos base, x = 10 e x = 13 respectivamente, o que induziu a sua actual classificação em dois géneros diferentes, igualmente apoiada pela existência de distintas morfologias do pistilo.

Será lógico apoiar a opinião de certos investigadores de que todas as plantas que diferem na ploidia deveriam ser tratadas como espécies distintas? Ou apenas seriam tratadas como espécies diferentes quando diferenças no número de cromossomas são acompanhadas de diferenças em outras características? A maioria dos taxonomistas concorda com a segunda via e são assim utilizados vulgarmente os termos poliploidia críptica ou poliploidia semi-críptica, para referenciar casos de poliploidia sem ou com diminutas diferenças morfológicas.

Galium mollugo e *G. verum* possuem ambos casos de diploidia e tetraploidia que são morfologicamente indistintos. São conhecidos em *G. aparine* casos de 2n = 22, 44, 66, 88, morfologicamente indistintos (Sivarajan, 1991). Por outro lado, em algumas famílias como por exemplo *Pinaceae*, *Fagaceae*, *Asclepiadaceae*, *Caprifoliaceae*, *Rubiaceae*, são evidentes grandes diferenças morfológicas sem qualquer modificação no número de cromossomas (Stebbins, 1987).

Se é verdade que nem sempre a poliploidia é acompanhada por alterações de características morfológicas, nalguns casos isso acontece. É o caso por exemplo de *Saxifraga hyperborea* (2n = 26) e *S. rivularis* (2n = 52), que são diferentes ao ponto de serem reconhecidas como espécies diferentes (Sivarajan, 1991). O género *Senecio* inclui espécies diploides, tetraploides e hexaploides, respectivamente *S. squalidus* (2n = 20), *S. vulgaris* (2n = 40) e *S. cambrensis* (2n = 60). As duas primeiras são morfologicamente diferentes e *S. cambrensis*, encontrada em zonas geográficas ocupadas pelas primeiras, possui uma morfologia intermédia entre *S. squalidus* e *S. vulgaris*.

Sendo a poliploidia um tipo de variação cromossómica dominante nos vegetais, tem sido utilizada como índice de avaliação. Assim, em séries poliploides, são considerados normalmente membros mais antigos os que possuam menor número de cromossomas. No entanto esta regra geral tem sido abalada por alguns resultados experimentais, como por exemplo a descoberta de Randolph e Fischer (1939, *cit. in 9*) de que o milho tetraploide pode originar descendência diploide e, resultados mais recentes de Ornduff (1970, *cit. in 9*), de séries poliploides em que plantas com menor número de cromossomas se originaram de outras com maior número de cromossomas.

Também a redução do número base de cromossomas tem sido considerado por muitos investigadores como indício de evolução. Embora a redução do número base de cromossomas com a evolução seja o processo mais vulgar (Jones, 1970, *cit. in 4*), não é, no entanto, um processo universal. Darlington (1936, *cit. in 11*) sugeriu que *Fritillaria pudica* com x = 13 se originou a partir de expécies com x = 12. Levan (1932, 1935, *cit. in 11*) concluiu que as espécies do género *Allium* com x = 8 derivaram de espécies mais primitivas com x = 7. Em *Dorstenia (Rosaceae)* é notória crescente especialização morfológica segundo a série x = 14, x = 15 e x = 16 (Krause, 1931, *cit. in 11*).

ALTERAÇÕES CROMOSSÓMICAS ESTRUTURAIS: SUA DESCRIÇÃO E IMPORTÂNCIA EVOLUTIVA

Ao longo do tempo têm-se acumulado diversas referências que permitem uma caracterização mais exacta de cada cromossoma e do cariótipo de cada espécie, através da utilização de metodologias que facultam a possibilidade de distintos níveis de análise cromossómica.

O estabelecimento de uma nomenclatura racional e simples para os cromossomas, permitiu, de imediato, a sua utilização por muitos investigadores, como por exemplo Navaschin (1925, *cit. in 3*) em espécies do género *Crepis* e Fernandes (1931) em Liliáceas e Amarilidáceas. Fernandes (1931) utilizou as letras *L, I, m, p*, correspondentes às iniciais das palavras latinas *longus, medius* e *parvus*. Para a classificação de cromossomas, representou por *LL, II, mm, pp*, os cromossomas simétricos em relação ao comprimento dos respectivos braços cromossómicos e os cromossomas assimétricos foram designados em relação ao tamanho relativo de cada um dos braços. Na figura 1 apresenta-se a morfologia correspondente a cada uma das designações referidas por Fernandes (1931), aquando do estudo de cariótipos de Liliáceas e de Amarilidáceas.

Actualmente utilizam-se os seguintes termos para a classificação morfológica dos cromossomas: telocêntricos, quando o centrómero ocupa uma posição completamente terminal; acrocêntricos, se o centrómero ocupa uma posição mais

ou menos terminal, e metacêntricos quando ocupa uma posição média.

Fig. 1 - Esquema dos símbolos utilizados por Fernandes (1931) na representação dos cromossomas das Liliáceas e Amarilidáceas.

Adaptado de: Fernandes (1931)

A estas definições correspondem normalmente os seguites símbolos: T (telocêntrico), t (acrocêntrico), st (subacrocêntrico), sm (submetacêntrico), m (metacêntrico com o centrómero localizado na região média), M (metacêntrico com o centrómero localizado no ponto médio) (ver fig. 2).

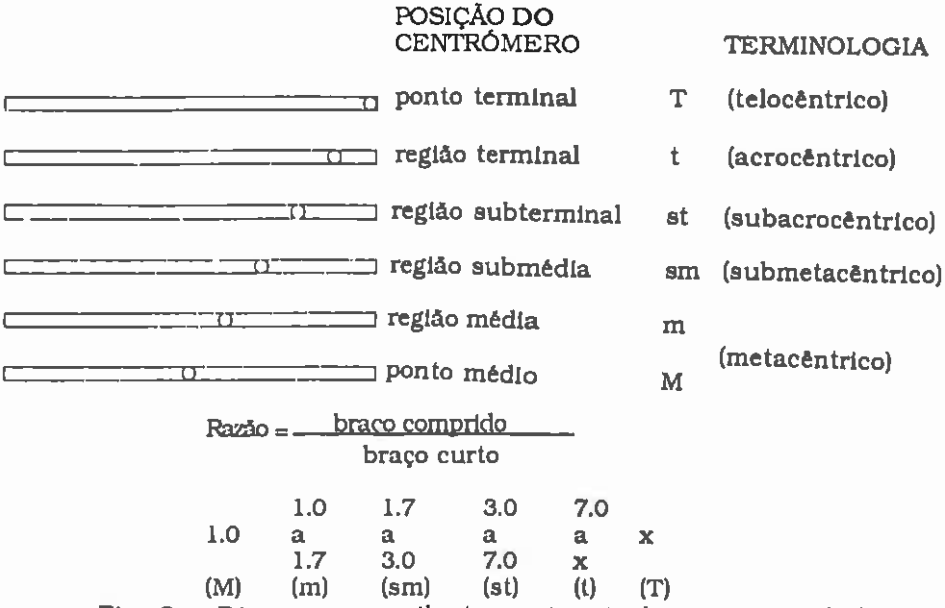

Fig. 2 - Diagrama que ilustra a terminologia cromossómica definida por Levan e colaboradores, tendo em conta a posição do centrómero.

Adaptado de: Stace (1991)

O tamanho dos cromossomas é outro parâmetro importante no estabelecimento de cariótipos, embora várias diferenças no tamanho absoluto dos cromossomas possam resultar de diversos factores externos. Assim, Piérce (1937, *cit. in 11*), trabalhando com o género *Viola*, demonstrou que a falta de fósforo na nutrição pode levar a uma diminuição do tamanho dos cromossomas. Também diferentes concentrações de substâncias corantes podem influenciar o tamanho dos cromossomas, como provou Tobgy's (1943), quando comparou cromossomas de *Crepis neglecta* com os de *C. fuliginosa*. A existência de variações devido a factores externos, indutores de alterações do tamanho de cromossomas, dificultam portanto a utilização deste parâmetro, pelo que, normalmente, se realizam estudos relativos: um cromossoma é tomado como referência e os outros são medidos em relação ao primeiro. Por vezes é também feita uma proporção entre cada cromossoma ou braço cromossomático com a totalidade do genoma (Stace, 1991). A existência e localização de constrições secundárias bem como a presença de satélites, constituem também referências de relevo na caracterização estrutural dos cromossomas.

O tamanho dos cromossomas e o grau de simetria/assimetria (variação existente entre os cromossomas do mesmo cariótipo, tendo em conta o tamanho e a posição do centrómero), têm sido utilizados como parâmetros taxonómicos que permitem proceder ao estudo comparativo de cariótipos e, portanto, ao estabelecimento de relações filogenéticas, possibilitando algumas inferências sobre o percurso da evolução. Assim, Delaunay em 1926 (*cit. in 11*), trabalhando com o género *Muscari*, observou que espécies com maior especialização morfológica como *M. tenuiflorum*, *M. caucasicum* e *M. monstrosum* possuíam cromossomas menores do que as espécies mais primitivas do mesmo género, tal como *M. longipes*. Uma idêntica redução no tamanho dos cromossomas foi observada no género *Crepis* por Babcock e Cameron (1934, *cit. in 11*), em famílias de fetos mais primitivos *(Osmundaceae e Hymenophyllaceae)* e em famílias mais especializadas *(Salviniaceae)* por Litardiére (1921, *cit. in 11*).

Quanto à simetria, Levitzky's (1931, *cit. in 11*), em estudos realizados na tribo *Helleboreae (Ranunculaceae)*, verificou que o género *Helleborus*, o mais primitivo da tribo, tinha elevado grau de simetria[1]. Nesta tribo a especialização morfológica acompanhou uma redução no tamanho dos cromossomas e uma crescente assimetria[1], possuindo os géneros mais especializados — *Aconitum* e *Delphinium* — o mais elevado grau de assimetria e maior redução do tamanho de cromossomas. Dentro do género *Delphinium*, as espécies mais primitivas, como *D. staphysagria* e

(1) Utilizando terminologia mais recente.

as espécies mais especializadas *D. ajacis* e *D. consolida* possuem idêntica evolução cariotípica. Na tribo *Aloineae*, por exemplo, verifica-se que os géneros mais especializados morfologicamente *Aloe*, *Gasteria* e *Haworthia*, possuem cariótipos com um grau de assimetria mais elevado do que os géneros menos especializados, como por exemplo *Kniphofia* (Moffett, 1932). Um outro exemplo interessante é de os dois géneros das *Liliaceae* com maior grau de assimetria, serem também os mais especializados morfologicamente (Levan, 1935; Cave e Bradley, 1943).

Existem, no entanto, muitos outros exemplos inversos aos referidos, em que a evolução aconteceu acompanhada de aumento do tamanho dos cromossomas e do grau de simetria, tal como se observa em *Clematideae* e *Anemoneae*, que são muito especializados nos seus aquénios e possuem cariótipos essencialmente simétricos (Meurman e Therman, 1939).

Existem portanto numerosas divergências que não permitem o estabelecimento de regras universais, gerando, desse modo, uma grande controvérsia sobre a evolução e a taxonomia de alguns grupos. É o que acontece por exemplo em certas *Cycadales* que, por possuírem elevado grau de assimetria cromossómica, são consideradas evoluídas por Khoshoo enquanto Marchant diz que são primitivas, e ainda o que acontece com *Podocarpaceae* que Hair e Beuzenberg postularam terem tido uma evolução a partir de um ancestral com cariótipo assimétrico, com o que Khoshoo não concorda (Sivarajan, 1991).

Actualmente consideram-se relevantes as hipóteses formuladas por Jones (1970, *cit. in* 9) que sugere a possibilidade de ocorrência de ciclos de simetria-assimetria cromossómica.

É fundamental realçar-se, neste contexto, que a existência de idêntico número de cromossomas e de cariótipo não é um indicador de proximidade entre organismos ou espécies, pois, mesmo nessas situações, existe a possibilidade de o conteúdo génico ser completamente distinto, embora não detectável pelas técnicas citogenéticas clássicas. É também por vezes impossível detectar grandes diferenças cromossómicas estruturais, provenientes de translocações e inversões, cuja análise exige outros métodos, como o estudo da meiose em espécies híbridas.

O tipo de emparelhamento cromossómico durante a meiose pode ser de três tipos: homólogo, homeólogo e não homólogo. Enquanto os primeiros se estabelecem na presença de longas sequências de *loci* homólogos, o último restringe-se normalmente a uma homologia residual. Assim o grau de emparelhamento cromossómico pode portanto ser utilizado para a avaliação da homologia existente entre dois cariótipos.

Dois inconvenientes deste método de estudo são, no entanto, de salientar. Em primeiro lugar, a nível diploide, a sua aplicação é limitada pela necessidade de obtenção de plantas híbridas. Em segundo lugar a avaliação de homologias é feita através da análise do emparelhamento cromossómico, o que requer estudos

ultra-estruturais bastante complexos ou da avaliação da recombinação cromossómica que, embora tecnicamente mais fácil, pode não traduzir os níveis de homologia existentes devido à acção de outros genes condicionantes dos processos de emparelhamento e/ou recombinação.

Também técnicas de bandeamento cromossómico têm vindo a ser utilizadas para obter uma melhor caracterização dos cromossomas. Através da utilização de uma variedade de produtos que reagem com o DNA combinados com várias técnicas de coloração, é possível a obtenção de bandas transversais, de largura e intensidade diferentes, formando padrões característicos para cada cromossoma. Como cada par de cromossomas homólogos possui um padrão específico, é possível uma inequívoca identificação do cariótipo normal, bem como de casos de aneuploidia. Também é possível a identificação de pequenos pedaços de cromossoma envolvidos em fenómenos de translação, delecção e outros rearranjos, o que confere a esta técnica uma grande importância em estudos de taxonomia e evolução.

Recentemente, através da utilização de metodologias da genética molecular na citogenética, iniciaram-se estudos mais exactos e profundos sobre a estrutura cromossómica, que contribuirão certamente para a maior compreensão de relações filogenéticas e, portanto, para uma classificação taxonómica mais correcta.

REFERÊNCIAS

(1) BABCOK, E. B. 1942. Systematics, cytogenetics and evolution in *Crepis*. *Bot. Rev.* VIII nº 3, 139 - 190.

(2) CAVE, M. S. e BRADLEY, M. V. 1943. Alteration of chromosome number in *Miersia chilensis*. *Am. Jour. Bot.*, 30, 142 - 149.

(3) FERNANDES, A. 1931. Estudo nos cromossomas das Liliáceas e Amarilidáceas *Bol. Soc. Brot.*, sér. II - 7, 3 - 122.

(4) HEILBORN, O. 1924. Chromosome numbers and dimensions, species - formation and phylogeny in the genus *Carex*. *Hereditas*, 5, 129 - 216.

(5) LEVAN, A. 1935. Cytological studies in Allium, VI: the chromosome morphology of some diploid species of *Allium*. *Hereditas*, 20, 289 - 330.

(6) MEURMAN, O. e THERMAN, E. 1939. Studies on the chromosome morphology and structural hybridity in the genus *Clematis*. *Cytologia*, 10, 1 - 14.

(7) MOFFETT, A. A. 1932. Studies on the formation of multinuclear giant pollen grains in *Kniphofia*. *Jour. Genet.*, 25, 97 - 128.

(8) SANCHEZ - MONGE, E. e JOUVE, N. 1989. *Genética*. Ed. Omega, S. A., Barcelona.

(9) SIVARAJAN, V. V. 1991. Introduction to the principles of plant taxonomy. *Cambridge University Press*. Cambridge.

(10) STACE, C. A. 1991. *Plant Taxonomy and the Biosystematics*. Ed. Edward Arnold, London.

(11) STEBBINS, G. L. 1987. *Variation and evolution in plants*.. Colombia University Press. London and New York. 1987.

(12) TANAKA, N. 1939. Chromosome studies in *Cyperaceae*, IV - chromosome number of *Carex* species. *Cytologia*, 10, 51 - 58.

(13) TOBGY, H. A. 1943. A cytological study of *Crepis fuliginosa*, *C. neglecta*, and their F_1 hybrid, and its bearing on the mechanism of phylogenetic reduction in chromosome number. *Jour. Genet.*, 45, 69 - 111.

(14) U, Nagaharu 1935. Genome - analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Jap. Jour. Bot.*, 7, 389 - 452.