

AS ORIGENS DA BASE CITOLÓGICA DA HEREDITARIEDADE

Segunda aula (T2)

Texto adaptado de:
MOORE, J. A. Science as a Way of Knowing - Genetics. *Amer. Zool.* v. 26: p. 583-747, 1986.

Objetivos

1. Descrever como e quando foi descoberta a célula.
2. Explicar a idéia central e a importância da teoria celular.
3. Discutir as dificuldades para se identificar os gametas como células.
4. Descrever os passos que levaram à compreensão da importância do núcleo celular.
5. Identificar as dificuldades para a compreensão do processo de divisão celular.
6. Descrever o raciocínio dedutivo que levou à conclusão de que a mitose não seria o único tipo de divisão celular.
7. Descrever as meioses masculina e feminina em *Ascaris*.
8. Explicar o papel da meiose e da fertilização no ciclo de vida dos organismos.
9. Listar os principais argumentos que levaram alguns citologistas no final do século XIX a defender a idéia que os cromossomos seriam a base física da herança.

A DESCOBERTA DA CÉLULA

O nascimento da Citologia pode ser fixado com considerável precisão. No dia 15 de abril de 1663, Robert Hooke (1635-1703) colocou um pedaço de cortiça sob seu microscópio e mostrou sua estrutura a seus colegas da *Royal Society* de Londres.

A *Royal Society* havia sido fundada no ano anterior com o intuito de melhorar o conhecimento sobre a natureza. Ela reunia uns poucos homens cultos de Londres que se encontravam regularmente, em geral semanalmente, para discutir assuntos científicos e como o conhecimento poderia ser usado para melhorar as atividades práticas. A inspiração para a formação da *Royal Society* veio de uma sugestão anterior de Francis Bacon.

Hooke, um matemático de excepcional habilidade, era um membro muito ativo da *Royal Society*. Era costume entre os membros não apenas discutir mas também realizar experimentos e fazer demonstrações. Havia um grande interesse no novo microscópio que Hooke havia construído e ele deixou que os membros da sociedade olhas-

sem partes de um musgo em seu microscópio no dia 8 de abril de 1663. No dia 15 daquele mês o “*Sr. Hooke apresentou dois esquemas microscópicos, uma representação dos poros da cortiça, cortados transversal e perpendicularmente ...*”. Esse era o começo de dois séculos de observações e experimentações que estabeleceram a Teoria Celular.

As várias observações de Hooke foram reunidas e publicadas em 1665 com o título de *Micrographia*, sob os auspícios da *Royal Society*. Essa foi a primeira visão geral de uma parte da natureza até então desconhecida. Hooke descreveu e ilustrou muitos objetos em sua publicação: a cabeça de um alfinete, muitos insetos pequenos e suas partes, penas, “enguias” [nematódeos] do vinagre, partes de muitas plantas, cabelo, bolores, papel, madeira petrificada, escamas de peixe, seda, areia, flocos de neve, urina, e, é claro, aquele pedaço de cortiça. (Fig. 1)

Hooke imaginou que a cortiça consistia de inúmeros tubos paralelos com divisões transversais: “*Estes poros, ou células, não eram muito fundos, mas consistiam de um grande número de pequenas caixas, separadas ao longo do comprimento*

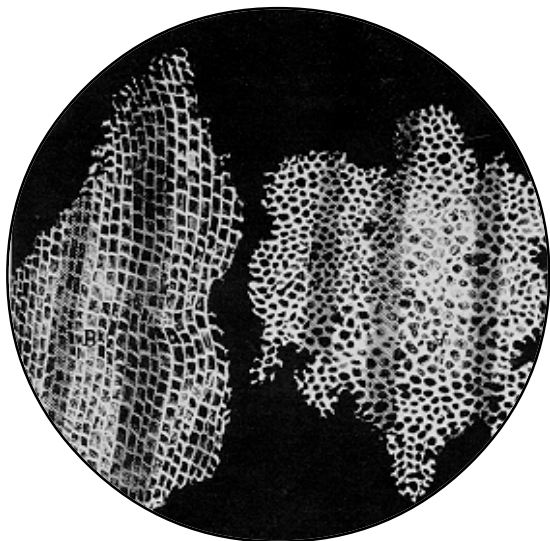


Figura 1. Desenhos de cortes de cortiça ao microscópio publicados por Hooke em 1665.

dos tubos por uma tipo de diafragma.” Ele observou estruturas semelhantes em muitos outros tipos de plantas. Muitos pensam que Hooke descreveu aquelas caixas como vazias e parou por aí. Isso não é verdade, ele observou cortes de plantas vivas e verificou que as caixas microscópicas eram preenchidas por um suco.

A presença de células na cortiça e em outras plantas poderia ser uma característica geral ou poderia ser restrita a uns poucos tipos de organismo. A continuação das pesquisas iria mostrar que as plantas consistiam inteiramente ou quase inteiramente de estruturas parecidas, semelhantes a caixas. Um outro membro da *Royal Society*, Nehemiah Grew (1641 - 1712), publicou uma monografia em 1682 que contém muitas pranchas belíssimas mostrando a estrutura microscópica das plantas. Com o tempo, a idéia de que os seres vivos são formados por células foi estendida para os animais. Hooke havia feito uma observação interessante que não foi importante na sua época – ela se tornou uma descoberta importante muito mais tarde, em função de pesquisas posteriores.

Mais de dois séculos foram necessários para se chegar à conclusão que o conhecimento das células era essencial para a compreensão da hereditariedade. Podemos ter certeza que, quando Robert Hooke sentou-se à frente de seu microscópio, ele não estava interessado em descobrir os mistérios da herança. Não havia maior razão para acreditar que as células tivessem algo a ver com a hereditariedade do que, por exemplo, as cerdas que ele descreveu em detalhe sobre o corpo de uma pulga.

O ESTABELECIMENTO DA TEORIA CELULAR

As células se tornaram verdadeiramente importantes somente quando foi proposta a hipótese de que os corpos de todos os organismos eram constituídos apenas de células ou de produtos de células. Essa hipótese foi formulada e testada no começo do século XIX e está associada principalmente a três cientistas: R. J. H. Dutrochet, Matthias Jacob Schleiden e Theodor Schwann.

Mas como alguém poderia provar que “*os corpos de todos os organismos são constituídos apenas de células ou de produtos de células?*”

Ao tentar responder essa questão pode-se aprender algo muito importante sobre ciência. A resposta é, obviamente, que não há nenhuma possibilidade dessa afirmação ser comprovada. Como alguém poderia estudar todos os organismos? A maioria já se extinguiu há muito tempo e não seria nem mesmo possível estudar um indivíduo de cada uma das espécies viventes. Qual seria sua resposta se alguém lhe perguntasse se os corpos dos dinossauros eram constituídos de células? Mas lembre-se, tudo o que se pode desejar em ciência é que uma afirmação seja “**verdadeira acima de qualquer suspeita.**”

Após as observações iniciais de Hooke, foi verificado que as células eram uma característica comum das plantas. Mais e mais plantas de uma quantidade crescente de espécies foram estudadas e todas apresentavam estruturas semelhantes a células. Foi observado que essas estruturas microscópicas não tinham todas a forma de caixa como as células da cortiça. Descobriu-se que as células podiam ter diversas formas e tamanhos. Não podemos esquecer que esses microscopistas pioneiros não estavam observando células como as entendemos hoje, eles observavam paredes celulares.

Schwann e as células nos animais

Com poucas exceções, o corpo dos animais não continha estrutura alguma que se parecesse com “células”, isto é, com as paredes celulares das plantas. Assim, foi necessário muito trabalho e imaginação arrojada até tornar óbvio que o conceito de célula podia ser aplicado com sucesso aos animais. Isso foi conseguido principalmente por Theodor Schwann (1810-1882) em sua monografia de 1839, publicada quando ele tinha 29 anos de idade. Algumas de suas ilustrações estão reproduzidas na figura 2.

Schwann enfatizou a grande diferença entre as células das plantas e o que ele acreditava serem as células dos animais, mas sugeriu que elas representavam fundamentalmente a mesma coisa.

Por que chamar todas essas estruturas tão diversas de células?

Procure examinar fotomicrografias de diversos tipos de células de plantas e especialmente de animais, ou melhor, caso tenha oportunidade, observe preparações citológicas desses tipos no microscópio. Como é possível dizer que cérebro, músculos, rins, pulmões, sangue, cartilagens, ossos, parede intestinal etc. são feitos de um mesmo tipo de elemento? Já que essas estruturas são obviamente tão diferentes, por que afirmar que elas são constituídas pelos mesmos tipos de elementos?

Qual seria a vantagem em se afirmar que as “células” animais correspondiam àquelas estruturas com aspecto tão diferente presentes nas plantas?

Schwann nos fornece a resposta, “*Se, no entanto, analisarmos o desenvolvimento desses tecidos, então parece que todas essas diversas formas de tecidos são constituídas apenas por células e são análogas às células das plantas ... O objetivo do presente tratado é provar essa idéia por meio da observação.*”

Isto é, apesar da grande diversidade, todas as estruturas que Schwann propunha chamar de células tinham em comum a característica de se desenvolverem a partir de estruturas muito mais simples que podiam ser melhor comparadas com as células das plantas. Mas, como se poderia definir “célula”?

Se um neurônio e um leucócito são células, eles devem ter algo em comum para serem reunidos em uma mesma categoria. Schwann encontrou um critério: a presença de núcleo, que ele achava

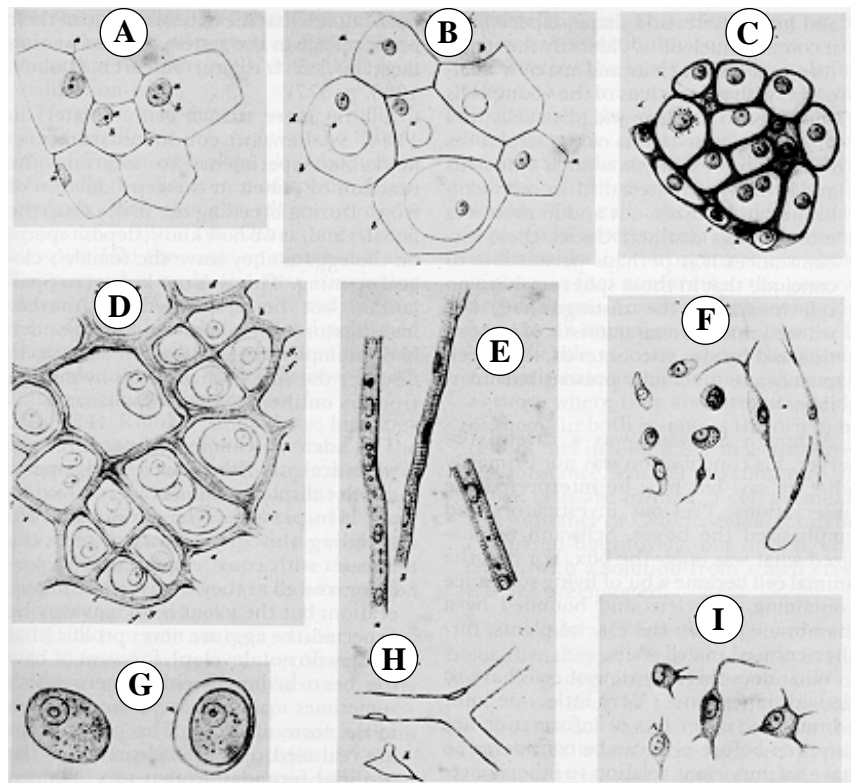


Figura 2. Algumas das ilustrações apresentadas por Schwann em sua monografia de 1839: **A.**) células de cebola; **B.**) de notocorda de um peixe; **C.**) de cartilagem de rã; **D.**) de cartilagem de girino; **E.**) de músculo de feto de porco; **F.**) de embrião de porco; **G.**) de gânglio de rã; **H.**) de um vaso capilar da cauda de girino; **I.**) de embrião de porco. Note que o núcleo e os nucléolos estão mostrados em quase todas as células.

mais importante do que a origem de células altamente diferenciadas a partir de células simples.

Apenas seis anos antes, em 1833, Robert Brown (1773 - 1858), o mesmo que descreveu o posteriormente denominado “movimento Browniano”, havia descrito a presença de uma auréola circular, ou núcleo, em células de orquídeas e de muitos outros tipos de plantas. Antes dele, outros observadores já haviam visto e desenhado essas estruturas em suas publicações, mas não atribuíram nenhuma importância a elas. Brown verificou que muitos tipos de célula continham núcleo mas não especulou sobre seu significado.

Schwann então mudou as regras para definir célula. Ao invés de se basear na forma, que nas plantas correspondia à estrutura da parede, ele escolheu como base para a definição, a presença de um núcleo.

Embora Schwann fosse um observador cuidadoso, sua principal contribuição não foi o que ele viu mas como ele interpretou as observações. Seus antecessores haviam enfatizado as “caixas”;

Schwann deu ênfase ao que estava **dentro** das “caixas”. Para ele a célula animal era uma porção de matéria viva envolta por uma membrana e contendo um núcleo, enquanto que as células vegetais eram ainda envoltas por uma parede.

O que essa nova visão de célula tem a ver com hereditariedade? Muito pouco, tem que se admitir. Seriam necessárias outras duas informações antes que as células pudessem ser consideradas importantes para a hereditariedade: a descoberta de que os gametas são células e o reconhecimento de que células só se originam de células pré-existentes.

O reconhecimento dos gametas como células

Schwann reconheceu os óvulos como células, uma vez que eles apresentavam a estrutura requerida por sua definição de célula – o núcleo. A natureza do espermatozóide era menos clara. Seu nome, que significa “animais do esperma”, indicava essa incerteza. Em 1667, Antonie van Leeuwenhoek havia descoberto e comunicado à *Royal Society* de Londres que o fluido seminal continha criaturas microscópicas que ele imaginou que entrassem no óvulo causando sua fertilização. Essa hipótese foi muito contestada e alguns cientistas imaginaram que os espermatozóides fossem parasitas. Na décima segunda edição do livro *Systema Naturae* (1766 - 1768), Linnaeus tentou classificar os “animais” encontrados no esperma por Leeuwenhoek, mas concluiu que a determinação de seu lugar correto no sistema de classificação deveria ser deixado para quando eles tivessem sido mais pesquisados.

Cerca de um século mais tarde, em 1784, Spallanzani realizou importantes experimentos com o objetivo de determinar a função do sêmen na reprodução de rãs. Durante o acasalamento, os machos abraçam as fêmeas e, como sabemos atualmente, depositam esperma sobre os óvulos à medida que estes saem pela abertura cloacal. De início, Spallanzani não sabia disso, foi ele quem descobriu. Um outro pesquisador com quem ele se correspondia havia tentado, sem muito sucesso, descobrir o papel das rãs machos vestindo-as com calças. Spallanzani repetiu esse experimento e verificou que, quando o sêmen ficava retido nas calças, os ovos não se desenvolviam. No entanto, se os ovos fossem colocados em contato com o sêmen retirado das calças, em um processo de fecundação artificial, eles passavam a se desenvolver. Em um outro experi-

mento, Spallanzani filtrou o sêmen e verificou que, com isso, ele perdia seu poder fecundante. Ele observou o que hoje chamamos de espermatozóides, mas não os considerou essenciais para a reprodução.

Foi somente em 1854 que George Newport, usando rãs, forneceu boas evidências de que os espermatozóides entram no óvulo durante a fecundação (Nesse caso, como em muitos outros, é difícil dar crédito ao cientista que descobriu um importante fenômeno biológico. Afinal, o descobridor do espermatozóide, Leeuwenhoek, havia pensado que o espermatozóide era o agente da fertilização. Outros antecessores de Newport eram da mesma opinião, mas foi Newport quem fez as primeiras observações convincentes. Em 1841, Kölliker estudou a histologia dos testículos verificando que algumas das células testiculares eram convertidas em espermatozóides. Os espermatozóides tinham uma aparência tão estranha que não eram considerados células. No entanto, quando se pôde demonstrar que eles se originavam de células típicas, sua verdadeira natureza tornou-se evidente. Os espermatozóides passaram então a ser considerados como células altamente modificadas.

Vejamos o que se pode concluir dessa análise:

1. Os gametas são a única ligação física entre as gerações, pelo menos em muitos organismos e possivelmente em todos.
2. Portanto, os gametas devem conter toda a informação hereditária.
3. Uma vez que óvulos e espermatozóides são células, toda informação hereditária precisa estar contida nestas células sexuais. Portanto, a base física da herança são as células sexuais.

Isto **não** permite concluir que todas as células contenham informação hereditária. Poderíamos ainda pensar que os gametas são células especializadas onde os fatores responsáveis pela herança, talvez as gêmulas, entram. Nós ainda necessitamos de uma segunda informação: “Qual é a origem das células?”

Omnis cellula e cellula

A divisão celular foi observada em 1835, mas, nessa época, não se concluiu que fosse um fenômeno geral. Schwann, por exemplo, acreditava que as células podiam surgir espontaneamente por aglutinação de substâncias amorfas. Essa hipótese assumia que a origem das células é um evento episódico no

ciclo de vida dos organismos. Se isso fosse verdade, a unidade da hereditariedade seria o organismo todo e não a célula.

A hipótese de Schwann sobre a origem das células foi logo rejeitada, uma vez que a divisão celular estava sendo observada com frequência em uma variedade de organismos e em diferentes épocas do desenvolvimento. Mais e mais investigadores começavam a suspeitar que a divisão celular era o único mecanismo para a produção de novas células.

Essa foi uma hipótese muitíssimo difícil **de se provar acima de qualquer suspeita**. Os microscópios e as técnicas para se estudar as células, no começo do século XIX, eram muito inadequados e foi preciso muita observação em diferentes tipos de organismos e de tecidos antes que Rudolph Virchow pudesse, em 1855, cunhar sua famosa frase *omnis cellula e cellula* (“toda célula vem de célula”) e que ela fosse amplamente aceita. Em uma conferência proferida em 1858 ele apresentou a idéia de que uma célula só surge de outra célula pré-existente.

É claro que nem todos concordaram com a idéia de Virchow de que todas as células e todos os organismos originavam-se de células e de organismos pré-existentes. Muitos pesquisadores continuavam a acreditar que células podiam se originar *de novo* e apresentavam o que pareciam ser observações acuradas para provar isso. Alguns acreditavam até mesmo que organismos completos podiam se originar *de novo*. Pasteur e a aceitação geral de que geração espontânea não pode ocorrer ainda estavam no futuro. Mesmo assim, as duas hipóteses apoiadas por Virchow foram testadas em um número crescente de pesquisas e, gradualmente, elas se estabeleceram como **uma verdade acima de qualquer suspeita**.

Não restando, portanto, dúvida alguma de que a hereditariedade está baseada na continuidade celular, podemos trabalhar agora com a hipótese de que toda informação hereditária está contida não apenas nas células germinativas mas também, muito provavelmente, nas células a partir das quais elas se formam – e em todas elas até o zigoto. Igualmente possível é a hipótese de que todas as células contenham a informação hereditária necessária para o desenvolvimento do indivíduo e à sua transmissão, via células sexuais, para a geração seguinte.

O DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO E A CITOLOGIA

Durante a maior parte da história da humanidade as pessoas se basearam quase que inteiramente em seus órgãos dos sentidos para obter informações sobre o ambiente. Cada um de nossos órgãos sensoriais detecta apenas uma pequena porção da ampla gama de estímulos possíveis. Nossos olhos, por exemplo, só conseguem responder à porção do espectro eletromagnético entre o violeta e o vermelho de modo que só conseguimos ver os comprimentos de onda entre essas duas cores. Para detectar comprimentos de onda menores, como luz ultra-violeta, raios-X e raios cósmicos, ou comprimentos de onda maiores, como luz infra-vermelha e ondas de rádio, precisamos utilizar instrumentos especiais.

A olho nu não conseguimos visualizar em detalhe nem mesmo objetos em movimentação rápida. As lâminas de um ventilador em movimento rápido são vistas como um círculo contínuo e uma bala que sai de um rifle é totalmente invisível para nós. Também não conseguimos ver objetos muito pequenos. A aparente uniformidade de uma ilustração com meios-tons resulta do fato de os pontos individuais estarem tão juntos que o olho humano não consegue distingui-los. Os faróis de um automóvel aparecem como um único ponto de luz até uma certa distância; à medida que o automóvel se aproxima, somos capazes de resolver o ponto único de luz em dois.

O poder de resolução do olho humano, ou seja, sua capacidade de distinguir dois pontos muito próximos, é da ordem de 100 micrômetros a uma distância normal de leitura; a maioria das pessoas com visão normal distingue dois objetos separados por um espaço de um milímetro a uma distância de 10 metros. Uma afirmação mais geral é que o olho humano pode distinguir dois objetos separados por um arco de 1 minuto. Esse valor foi determinado por Robert Hooke que estava preocupado em saber qual seria a menor distância entre duas estrelas para que elas fossem vistas como dois objetos separados. Quando elas estavam a uma distância menor do que um arco de 1 minuto, a maioria das pessoas as via como um único ponto de luz. Algumas pessoas podem ver melhor do que isso, mas o poder máximo de resolução de nosso olho é de 26 segundos de arco.

Quase todas as células são muito pequenas para serem vistas a olho nu, de modo que a Citologia não foi possível, nem mesmo teoricamente, antes da invenção do microscópio – o que ocorreu provavelmente na última década do século XVI. Um tempo relativamente longo se passou entre essa invenção e 1663, quando Hooke fez a demonstração daqueles pedaços de cortiça para os membros da *Royal Society*. Na verdade, foram poucos os trabalhos sérios e contínuos com microscópios antes do século XIX. Durante a maior parte de sua história, os microscópios não passaram de brinquedos de adultos.

O pequeno tamanho das células não é o único problema que dificulta seu estudo. A maioria dos animais e de seus tecidos é opaca e, uma vez que a observação através do microscópio composto é mais efetiva quando os objetos são iluminados com luz transmitida, o objeto a ser estudado precisa ser muito fino ou cortado em fatias bem finas de modo que a luz possa atravessá-lo. Imagine tentar cortar fígado, por exemplo, em fatias com cerca de 10 micrômetros de espessura, para que fosse possível estudá-lo no microscópio. Além da quase impossibilidade de se fazer isso, as células hepáticas, constituídas principalmente de água, iriam secar rapidamente, tornando-se uma massa enrugada. Esse é um problema especial com as células animais que não possuem uma parede de suporte como as células das plantas.

Métodos muito especiais tiveram que ser desenvolvidos pelos microscopistas do início do século XIX quando eles quiseram aprender sobre a natureza celular dos organismos e, mais tarde, sobre a estrutura interna das próprias células. Tornou-se uma prática comum tentar preservar os tecidos de tal maneira que a estrutura de suas células permanecesse intacta e que eles pudessem ser cortados em fatias finíssimas.

O primeiro passo foi a fixação. Ela consistia em tratar o material com álcool, com formaldeído, ou com soluções de ácido pícrico, de bicromato de potássio, de cloreto de mercúrio ou de tetróxido de ósmio. Essas substâncias matam e endurecem as células, em geral, por coagular suas proteínas. Esperava-se, é claro, que isso acontecesse de tal forma que as partes das células continuassem a guardar uma certa semelhança com as da célula viva.

O tecido fixado podia então ser embebido em parafina para ganhar sustentação e ser fatiado com

lâminas cortantes ou em um instrumento construído para essa finalidade – o micrótomo. Mesmo essas fatias finíssimas podiam revelar muito pouco; as células e seus conteúdos internos eram indistinguíveis. Mas aqueles microscopistas inventivos tentavam de tudo e logo descobriram que alguns corantes tingiam certas partes das células mas não outras.

Em 1858, Gerlach descobriu que uma solução diluída de carmim corava mais intensamente o núcleo do que o citoplasma das células. Essa substância era obtida dos corpos secos da fêmea de um inseto (*Coccus cacti*), conhecido popularmente como cochonilha-do-carmim, que vive em cactos na América Central e sudoeste dos Estados Unidos. Em 1865, Böhmer descobriu que a hematoxilina, extraída do tronco de uma árvore (*Haematoxylon campechianum*) da América Central, também tinha maior afinidade pelo núcleo do que pelo citoplasma.

Mais tarde foi sintetizada uma grande variedade de anilinas para a indústria têxtil e, entre 1875 e 1880, muitas delas mostraram-se úteis para corar células. Uma dessas anilinas era a eosina, que mostrou ter uma grande afinidade por proteínas citoplasmáticas. Um procedimento de coloração citológica corriqueiro até hoje usa hematoxilina e eosina (HE) e cora o núcleo em azul e o citoplasma em laranja.

Da mesma forma, houve melhoria dos microscópios disponíveis para pesquisas citológicas, principalmente no final do século XIX. Muitas delas foram introduzidas por Ernst Abbe (1840-1905) e pela indústria óptica Zeiss em Jena, na Alemanha. Abbe foi, durante a maior parte de sua vida, professor de Física na Universidade em Jena e o principal projetista de lentes da companhia Zeiss, da qual se tornou dono. Em 1878, ele desenvolveu a objetiva de imersão em óleo e, em 1886, a objetiva apocromática. Essas melhorias nas mãos de um microscopista habilidoso tornava possível a obtenção de ampliações de até 2500 vezes. O microscópio fotônico estava chegando ao limite de seu poder de resolução teórico. Esse limite é imposto pela própria natureza da luz; isto é, dois objetos só podem ser resolvidos se a distância entre eles for, pelo menos, igual à metade do comprimento da onda utilizado.

Oportunidades adicionais para se estudar a estrutura fina das células estavam ainda para vir com a invenção do microscópio de contraste-de-fase e do microscópio eletrônico, no século XX.

Veremos a seguir como os microscopistas do último terço do século XIX foram capazes de usar a tecnologia disponível na época e estabelecer, como uma hipótese altamente provável, que a base física da hereditariedade está no núcleo da célula, ou mais especificamente nos cromossomos.

Não devemos ficar imaginando que esses investigadores não faziam outra coisa senão examinar células vivas e fixadas com o melhor equipamento óptico disponível, descrevendo do modo mais preciso o que viam. Um problema constante era se uma dada estrutura observada em uma preparação citológica refletia ou não algo presente na célula viva, ou se era um simples artefato resultante do drástico tratamento a que as células eram submetidas para poderem ser observadas no microscópio.

Uma preparação citológica realmente reflete a estrutura de uma célula viva? A resposta é “*Não muito*”; mas se o tratamento produz sempre o mesmo resultado é possível imaginar como eram as preparações quando vivas. Apesar disso, nenhuma descoberta importante em Citologia no século XIX foi aceita de imediato. As observações eram repetidas e as conclusões originais confirmadas por uns e contestadas com veemência por outros. Uma interpretação errada podia fazer com que muitos citologistas perdessem meses na tentativa de repetir as observações. Aconteciam debates intermináveis sobre a estrutura fina do protoplasma uma vez que, como era admitido, estava-se olhando para a base fundamental da vida. Muitos citologistas acreditavam que o protoplasma fosse granular, ou um retículo fibroso, ou alveolar (composto de gotas) ou alguma combinação disso.

A Citologia como um caminho para o conhecimento, especialmente no século XIX, nos mostra que a ciência não progride de maneira ordenada mas por meio de testes e retestes constantes das observações, dos experimentos e das hipóteses. Longe de ser uma linha direta em direção à verdade, esse caminho assemelha-se mais àquele retículo que alguns viam como a estrutura básica do protoplasma. (Devemos ressaltar que o termo protoplasma é raramente utilizado nos dias de hoje. Uma vez que ele significa nada mais do que “substância viva”, Hardin [1956] sugeriu que poderíamos passar sem ele.)

O QUE EXISTE NAS CÉLULAS?

Durante a última metade do século XIX, a hipótese de que os animais e plantas são compostos somente de células e produtos celulares estava estabelecida como **uma verdade acima de qualquer suspeita** nas mentes da maioria dos microscopistas competentes. Nós podemos falar, então, da teoria celular, usando o termo “teoria” como um corpo completo de dados, hipóteses e conceitos relativos a um importante fenômeno natural. Até hoje a teoria celular é o mais importante conceito relacionado com a estrutura de animais e plantas e no século XX ele foi sendo gradualmente aceito também como o mais importante conceito relativo ao funcionamento dos organismos.

Essa enorme importância da teoria celular decorre do fato de ela estabelecer que as células são as unidades básicas de estrutura e função, que elas são as menores unidades capazes de ter vida independente, isto é, são capazes de usar substâncias obtidas do meio para manter e produzir o estado vivo. A célula é o denominador comum da vida.

Existia uma outra razão importante para se estudar as células: a análise dos níveis mais simples de organização contribuem para o entendimento dos níveis mais complexos. As interações das substâncias químicas são melhor entendidas quando se conhece sua estrutura molecular. Os movimentos do corpo humano podem ser estudados em muitos níveis. Pode-se observar e descrever os complexos movimentos de um bailarino ou de um arremessador de beisebol. A compreensão aumenta quando se obtém informações sobre os diversos músculos e seus locais de ligação, que tornam os movimentos possíveis. Outros tipos de entendimento surgem quando se estuda os músculos no nível molecular. E, finalmente, mais informações ainda são obtidas quando se aprende sobre a atividade da miosina, da actina e de outras moléculas que participam da movimentação dos músculos.

O conhecimento obtido em cada nível de organização contribui para um entendimento do fenômeno como um todo, enquanto cada nível mantém seu próprio valor. Entender a arte de um bailarino ou de um esportista meramente com o

conhecimento sobre actina e miosina seria tão impossível quanto prever as propriedades da água a partir do conhecimento sobre os elementos hidrogênio e oxigênio. No entanto, pode-se conhecer melhor os níveis mais complexos se conhecermos os mais simples. Assim, os biólogos do século XX já pensavam que poderiam saber mais sobre a vida se conhecessem melhor as células.

Quando examinavam as células, aqueles citologistas pioneiros encontravam todo tipo de esferas, de grânulos e de fibras. Como seria possível determinar qual dessas estruturas teria um papel na hereditariedade? Ou melhor, como seria possível determinar a função de qualquer estrutura presente nas células?

Essa é uma questão difícil e os citologistas daquela época não conseguiam respondê-la. Eles não podiam fazer outra coisa senão investigar as células de modo aleatório. Este foi um estágio necessário no desenvolvimento da Citologia – a identificação de estruturas nas células e, quando possível, descobrir alguma coisa sobre seu comportamento. Aparentemente se pesquisavam células de todo animal e planta disponível à procura de exemplos de estruturas celulares e, um a um, todos os reagentes disponíveis nas estantes dos químicos foram colocados sobre as células e suas conseqüências observadas – em geral matavam as células. Esse período da Citologia foi de “procura e destruição.”

O núcleo efêmero

Como mencionado anteriormente, as dificuldades em se analisar células vivas fizeram das preparações fixadas e coradas o material ideal de estudo. Nesse tipo de preparação, a estrutura mais proeminente é o núcleo descrito por Brown. Muitos corantes, especialmente os corantes básicos como o carmim e a hematoxilina, coravam o núcleo profundamente; isto, juntamente com a aparente presença universal do núcleo, sugeria que ele tivesse um papel importante.

Mas qual seria a origem do núcleo da célula? Levou mais de meio século de observações e experimentações por parte de numerosos pesquisadores para que essa questão fosse respondida. Em 1835, Valentin sugeriu que o núcleo seria formado pela precipitação de substâncias no interior da célula. Três anos mais tarde, Schleiden e, em seguida, Schwann também sugeriram que o núcleo podia se originar *de novo*. Até por volta

de 1870, alguns pesquisadores famosos acreditavam que pelo menos alguns núcleos podiam ter uma origem não-nuclear.

Nessa mesma época, outros pesquisadores igualmente competentes estavam clamando que todos os núcleos surgiam de núcleos pré-existent. Diversos processos foram sugeridos – em geral alguma forma de partição em dois ou fragmentação, um mecanismo que mais tarde foi denominado amitose.

Não havia nenhuma razão, é claro, porque os núcleos teriam de surgir por apenas um tipo de mecanismo. Considerando a enorme variedade de fenômenos naturais, não seria surpresa se houvesse diversas maneiras de surgimento de núcleos. No entanto, os cientistas procuram regularidades na natureza e seria mais satisfatório intelectualmente se houvesse um mecanismo constante para a origem do núcleo.

A DESCOBERTA DA DIVISÃO CELULAR

Em 1873, A. Schneider publicou o que agora pode ser tomado como a primeira descrição razoável das complexas alterações nucleares, hoje chamadas de mitose, que ocorrem durante a divisão da célula. Neste ano, Otto Bütschi e Hermann Fol fizeram descrições semelhantes.

A descrição de Schneider foi a mais completa; seu objetivo era descrever a morfologia de *Mesostoma* sp., um platelminto. Quase todo seu trabalho é dedicado à estrutura desse verme mas, sendo um observador cuidadoso, ele descreveu tudo o que viu. A fertilização em *Mesostoma* sp. é interna e o início do desenvolvimento ocorre em um útero. As ilustrações do que ele viu estão mostradas na figura 3.

Os primeiros desenhos mostram o ovo rodeado por células foliculares. Na região bem central está o pequeno núcleo com seu pequeno nucléolo. As estruturas espirais são espermatozóides. O ovo é a área clara central da ilustração e os glóbulos menores ao seu redor são as células foliculares, que não foram representadas nos desenhos seguintes. Pouco antes da célula se dividir o limite do núcleo se torna indistinto. Schneider, no entanto, verificou que com a adição de um pouco de ácido acético ele se tornava visível, apesar de dobrado e enrugado. Mais tarde o nucléolo desaparecia e tudo o que restava do núcleo era uma área clara na região central da célula.

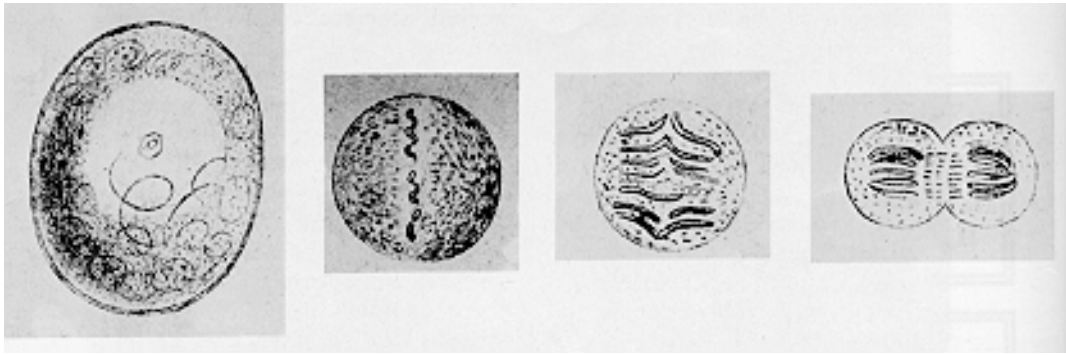


Figura 3. Ilustrações de Schneider (1873) das alterações nucleares durante a clivagem do ovo de *Mesostoma*. À esquerda, desenho de um ovo (zona clara central, onde se vê o núcleo com um nucléolo) rodeado por células foliculares. As outras figuras mostram os filamentos, hoje chamados de cromossomos, e seus movimentos durante a divisão da célula.

No entanto, o tratamento com ácido acético mostrava uma massa de filamentos delicados e curvos. O segundo desenho mostra esses filamentos, os cromossomos (um termo que só seria proposto em 1888, por Waldeyer) alinhados em uma placa equatorial. A quantidade de filamentos parecia

aumentar e quando a célula se dividia eles iam para as células-filhas.

O que alguém faria com essas observações? A resposta está longe de ser clara. Se não era possível ver os filamentos nas células vivas e, se eles apareciam repentinamente quando as células

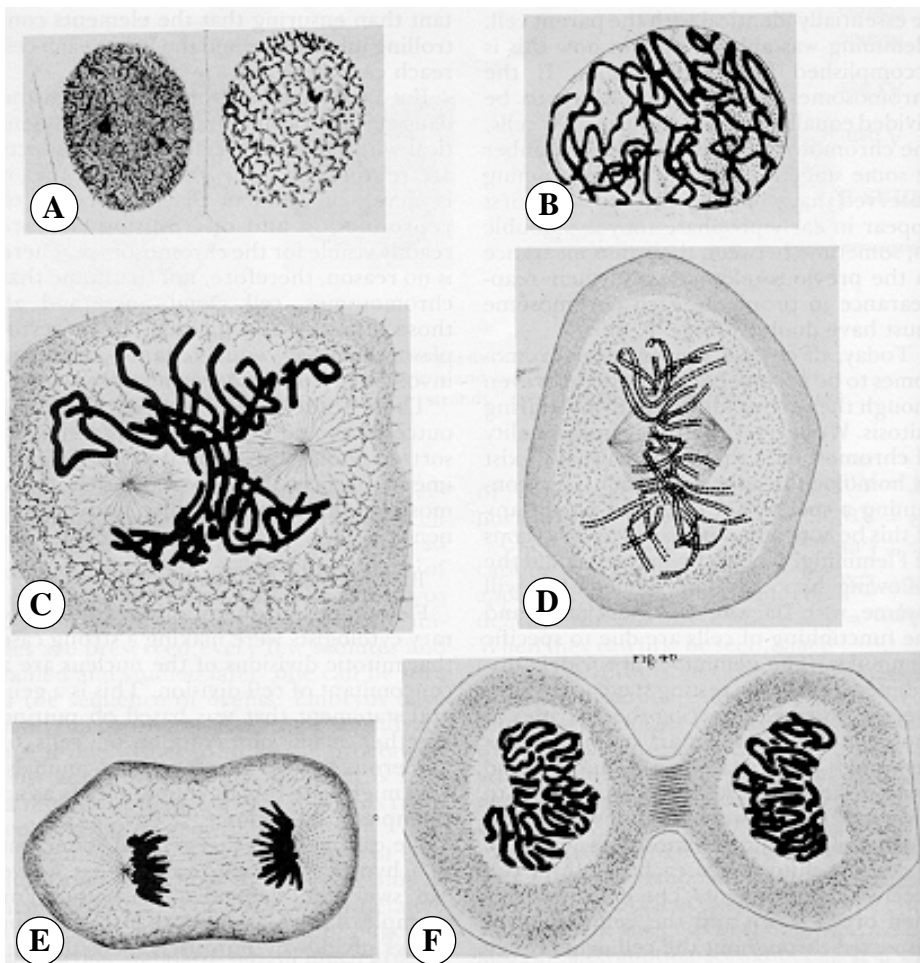


Figura 4. Ilustrações de Flemming de mitoses em células fixadas e coradas de embrião de salamandra. **A.)** Duas células em intérfase: não existem cromossomos visíveis. **B.)** Célula em prófase: os nucléolos já desapareceram, mas a membrana nuclear continua intacta; o citoplasma não está mostrado. **C.)** Célula em início de metáfase: a membrana nuclear desapareceu e os centrosomos se separaram. **D.)** Uma preparação de excelente qualidade, onde se vê os cromossomos metafásicos duplos, isto é, compostos por duas cromátides. **E.)** As cromátides se separam e se movem para os pólos do fuso. **F.)** Célula em final de divisão com os cromossomos dos núcleos-filhos sendo envolvidos pela membrana nuclear. (Flemming, 1882)

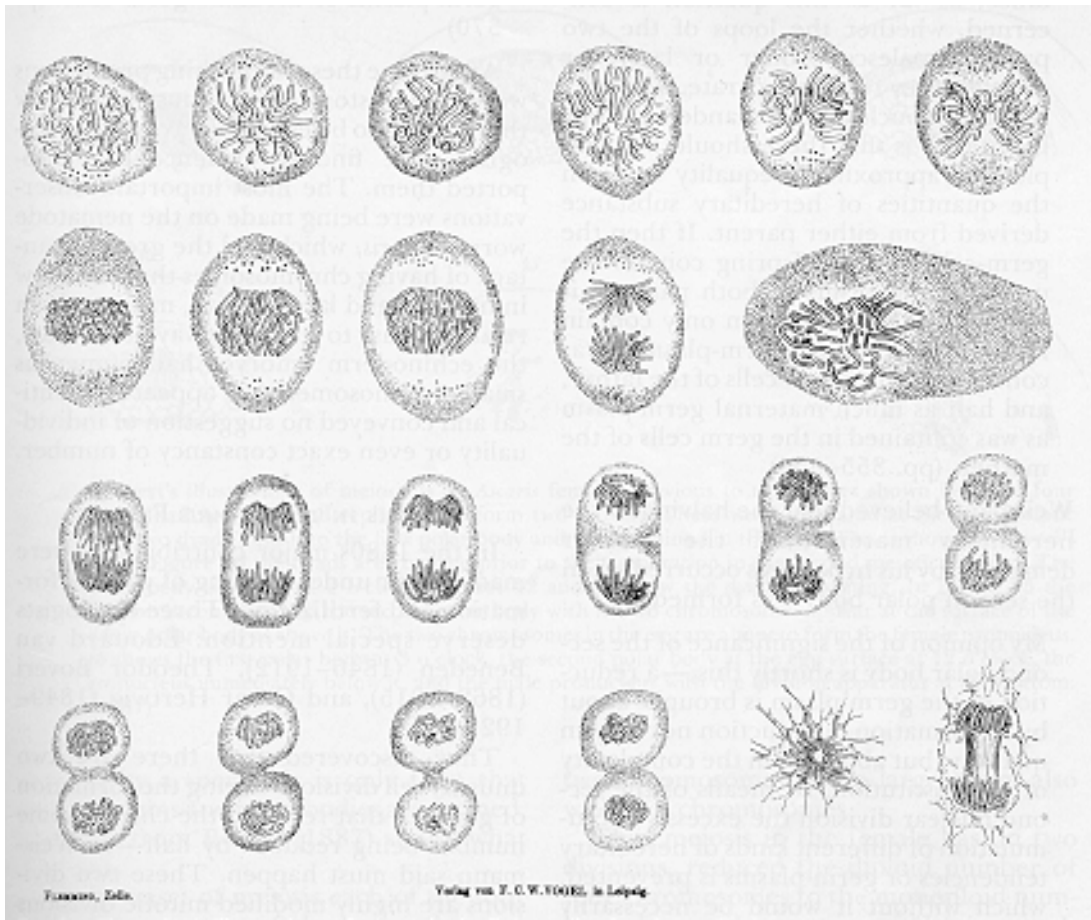


Figura 5. Ilustrações de Flemming de mitose em células vivas de larva de salamandra. Os desenhos estão organizados em seqüência, começando com a prófase, no canto superior à esquerda, e terminando com duas células, na fileira inferior. Os dois últimos desenhos mostram os cromossomos vistos do pólo da célula e uma telófase em vista lateral, respectivamente. O desenho mais à direita na segunda fileira mostra que os cromossomos estão duplos. (Flemming, 1882)

eram tratadas com ácido acético, não seria razoável pensar que eles fossem um artefato? No entanto, o fato de os filamentos serem observados repetidamente, e de eles parecerem sofrer estranhos movimentos, sugeria que já estivessem presentes na célula viva, numa forma invisível. Flemming teve sucesso em determinar que os eventos nucleares observados na célula em divisão em materiais fixados e corados tinham sua contrapartida na célula viva. Apesar de não ter descoberto a mitose, devemos a ele mais do que a qualquer outro o conceito de mitose que temos hoje; apenas detalhes do processo foram adicionados à sua descrição. (Fig. 4 e 5)

O sucesso de Flemming foi conseguido graças a alguns fatores: material que ele selecionou para seu estudo; ter sido cuidadoso em procurar nas células vivas as estruturas observadas nas células fixadas e coradas; ter à sua disposição microscó-

pios muito melhores do que os existentes anteriormente. O uso de células vivas, além de dar a confiança de que o observado era real e não artefato, permitiu também determinar a seqüência dos eventos.

As fases da mitose

Costuma-se dizer que um núcleo que não está sofrendo divisão encontra-se em **repouso**. Esse é um termo infeliz pois sugere inatividade e hoje nós sabemos que a maior atividade fisiológica do núcleo acontece durante esse período. Flemming não viu cromossomos nos núcleos em “repouso” de células vivas. Esses núcleos pareciam não ter nenhuma estrutura interna. Quando essas células eram fixadas e coradas via-se que seus núcleos continham uma rede densa com grande afinidade por certos corantes, além de um ou dois grânulos esféricos, os nucléolos.

Mudanças no núcleo são as primeiras evidências que a mitose está a caminho. No núcleo vivo, aparentemente desprovido de estruturas, aparecem longos e delicados fios. Quando eles podem ser vistos, é o começo da **prófase**. (A mitose é um processo contínuo; ela é dividida em fases pelos citologistas apenas com o intuito de facilitar sua descrição.) Esses fios se condensam em cromossomos que se posicionam no meio da célula na **metáfase**, época em que a membrana nuclear já desapareceu. Em células coradas pode-se ver que os cromossomos estão presos a um elaborada estrutura fibrosa – o fuso. Células coradas podem mostrar também a presença de minúsculos grânulos nas extremidades do fuso – os centríolos. Elas podem mostrar também um outro conjunto de fibras, os raios astrais, que irradiam dos centríolos. Durante a **anáfase** das células vivas, os cromossomos se separam em dois grupos que se movem através do fuso para pólos opostos da célula. Quando os cromossomos atingem as extremidades do fuso, é a **telófase**. Os cromossomos nas células vivas se tornam cada vez menos distintos e a membrana nuclear se refaz. O núcleo está de novo em “repouso”. O que se pode concluir desse processo?

É óbvio que **todas** as estruturas celulares precisam ser reproduzidas para que as células-filhas sejam idênticas à célula-mãe. Flemming foi capaz de explicar como isso acontece para os cromossomos. Se os cromossomos de uma célula vão ser divididos igualmente entre as células-filhas, eles precisam dobrar em número em algum estágio do ciclo celular. Flemming observou que, quando os cromossomos aparecem pela primeira vez no início da prófase eles já estão duplos; assim, em algum momento entre seu desaparecimento na telófase e seu reaparecimento na prófase, cada cromossomo deve ter se duplicado.

Hoje, é claro, nós consideramos os cromossomos como estruturas permanentes nas células mesmo sendo eles visíveis apenas na mitose. Nós também reconhecemos a individualidade dos cromossomos, isto é, que eles existem em geral em pares homólogos, cada par contendo um conjunto específico de genes. Essas conclusões poderiam ter sido tiradas a partir das observações de Flemming? Na verdade não. E as hipóteses a seguir, poderiam ser refutadas?

Você poderia argumentar o seguinte: como o processo mitótico assegura que cada célula-filha

receba seu lote de cromossomos isto deve indicar, sem muita dúvida, que um mecanismo tão elaborado e preciso para duplicação e distribuição é de importância fundamental. E o que pode ser mais importante do que assegurar que os elementos controladores da hereditariedade e da vida de cada célula cheguem até elas?

Mas alguém pode responder que, sendo as células-filhas idênticas à célula-mãe, **todos** os produtos celulares são reproduzidos. Pode-se argumentar que é mero acidente que o processo de reprodução e distribuição seja mais facilmente observado nos cromossomos. Não existe razão, portanto, para não assumirmos que cromossomos, membranas celulares e todos aqueles grânulos e glóbulos observados no citoplasma possam ter igual chance de estarem envolvidos na hereditariedade.

A DESCOBERTA DA MEIOSE

Flemming e muitos outros citologistas seus contemporâneos estavam considerando que as divisões mitóticas do núcleo aconteciam em toda divisão celular. A reunião de inúmeras observações em células de um grande número de espécies de plantas e animais permitia que se fizesse esta afirmação geral. Note que isso é um bom exemplo de indução.

Nós podemos agora usar essa afirmação geral como uma hipótese a ser testada. Isto é, nós podemos partir para um raciocínio dedutivo. Por exemplo: se a hipótese de que o núcleo sempre divide por mitose for verdadeira, então o número de cromossomos deve dobrar a cada geração. Isso seria inevitável. Como os núcleos do óvulo e do espermatozóide se unem na fertilização, caso eles se formassem por mitose, o zigoto deveria ter duas vezes o número de cromossomos de seus genitores.

Mas isso não acontece: Flemming e outros citologistas estavam cientes de que o número de cromossomos parecia ser o mesmo em todos os indivíduos e em todas as gerações de uma espécie.

Obviamente existe um problema com essa hipótese. Deveria haver algum mecanismo que reduziria o número de cromossomos antes ou durante a fertilização. Seria possível supor que, quando os núcleos do óvulo e do espermatozóide se fundiam na fertilização, os cromossomos também se fundiriam uns com os outros, sendo que metade de cada um deles seria destruída. Uma

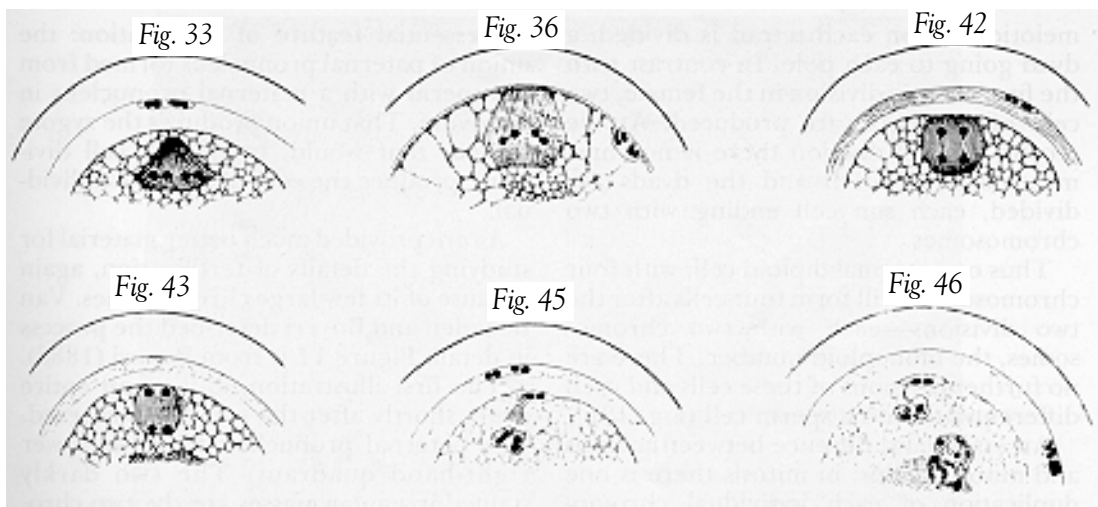


Figura 6. Ilustrações da meiose em fêmea de *Ascaris*. Anteriormente às etapas mostradas nos desenhos, os cromossomos haviam se duplicado e se emparelhado, formando duas tétrades. Estas se separaram na primeira divisão meiótica e duas díades foram para o primeiro corpúsculo polar, enquanto que as outras duas permaneceram nos óvulos. Isto é mostrado no desenho 33 de Boveri. No desenho 36, as díades estão em rotação antes da sua separação na segunda divisão meiótica. O segundo corpúsculo polar pode ser visto na posição correspondente à das duas horas. Os desenhos 42 e 43 mostram as díades se separando. No desenho 45, a segunda divisão já terminou e o segundo corpúsculo polar com seus dois cromossomos aparece na superfície do óvulo; o primeiro corpúsculo polar está acima dele. Os dois cromossomos no óvulo estão para formar o pró-núcleo feminino. O desenho 46 mostra o primeiro corpúsculo polar na posição correspondente à das 3 horas, o segundo corpúsculo polar na superfície do óvulo, na posição correspondente à das 12 horas, o pró-núcleo.

hipótese alternativa é que ocorresse redução do número de cromossomos durante a formação dos óvulos e dos espermatozoides nas gônadas.

O significado dos corpúsculos polares.

Vários pesquisadores tinham descrito, em diversas espécies animais, a eliminação de minúsculas esferas na região do pólo animal do óvulo, por ocasião da fertilização. Essas esferas logo desapareciam e, como pareciam não ter função alguma, foram denominadas corpúsculos polares. Observou-se também que na partenogênese formava-se um único corpúsculo polar, mas que nos óvulos fertilizados eles sempre pareciam ser dois. Em algumas espécies, um corpúsculo era formado antes da fertilização e um segundo, depois da entrada do espermatozóide. Em outras espécies, os dois corpúsculos polares eram formados após a fertilização. (Fig. 6)

Em 1887, August Weismann propôs uma hipótese para explicar a constância da quantidade de material hereditário de uma geração para outra. Com base na observação de muitos citologistas, ele diz: “pelo menos um certo resultado sugere que exista uma substância hereditária, um material portador de tendências hereditárias, e que esta substância

está contida no núcleo das células germinativas, no filamento enovelado no interior do núcleo [alguns citologistas pensavam que os cromossomos formavam um fio contínuo ou espirema durante a interfase], que em certos períodos aparece na forma de alças ou barras [estes eram os cromossomos nos estágios mitóticos]. Nós podemos, além disso, considerar que a fertilização consiste no fato de um número igual de alças [cromossomos] de cada genitor ser colocado lado a lado, e que o núcleo do zigoto é composto desta maneira. No que diz respeito a esta questão, não tem importância se as alças [cromossomos] dos dois pais se misturam mais cedo ou mais tarde ou se permanecem separadas. A única conclusão essencial necessária à nossa hipótese é que a quantidade de substância hereditária fornecida por cada um dos genitores seja igual ou aproximadamente igual entre si. Se for assim, as células germinativas dos descendentes conterão os germoplasmas de ambos os pais unidos, isso implica que tais células só podem conter metade do germoplasma paterno, como estava contido nas células germinativas do pai, e metade do germoplasma materno, como estava contido nas células germinativas da mãe.”

Weismann acreditava que a redução à metade do material hereditário da mãe, necessária à sua hipótese, ocorria quando o segundo corpúsculo polar era formado. Diz ele: “*Minha opinião sobre o significado do segundo corpúsculo polar é, em poucas palavras, esta: a redução do germoplasma acontece na sua formação, uma redução não só em quantidade, mas sobretudo na complexidade de sua constituição. Por meio da segunda divisão nuclear, evita-se o acúmulo de diferentes tipos de tendências hereditárias ou germoplasmas que, sem isso, seria necessariamente produzido em excesso pela fertilização. Com o núcleo do segundo corpúsculo polar são removidos do óvulo tantos tipos diferentes de idioplasmas [um termo usado na época para designar o material hereditário] quantos serão posteriormente introduzidos pelo núcleo do espermatozóide; assim, a segunda divisão do núcleo do óvulo serve para manter constante o número de diferentes tipos de idioplasmas, que compõem o germoplasma durante o curso das gerações.*”

E, se a constância é mantida de geração a geração, Weismann supõe que um processo similar precisaria ocorrer no macho. Ele diz: “*Se o número de germoplasmas ancestrais contido no núcleo do óvulo destinado para a fertilização deve ser reduzido à metade, não pode haver dúvida que uma redução semelhante também deve ocorrer, em alguma época e de alguma maneira, nos germoplasmas das células germinativas do macho.*”

Na época em que essas surpreendentes predições foram feitas (surpreendentes porque se mostraram essencialmente corretas) os citologistas estavam encontrando evidências que as apoiavam. A observação mais importante estava sendo feita no verme nematóide *Ascaris*, que tem a grande vantagem de possuir poucos cromossomos e de grande tamanho, o que os torna fáceis de serem estudados.

Meiose na fêmea de *Ascaris*

Na penúltima década do século XIX, foram feitas importantes contribuições para o entendimento da formação dos gametas e da fertilização. Três citologistas merecem referência especial: Edouard van Beneden (1846-1912), Theodor Boveri (1862-1915) e Oskar Hertwig (1849-1922). Eles descobriram que ocorrem duas

divisões celulares diferentes durante a formação dos gametas, as quais resultam na redução do número de cromossomos à metade – como Weismann previu que deveria acontecer. Estas duas divisões são divisões mitóticas modificadas e foram denominadas divisões meióticas – os nomes são tão parecidos que continuam a causar problema para os estudantes até hoje. Na descrição que se segue, utilizaremos a terminologia moderna.

O ovário de *Ascaris* começa a se formar no início do desenvolvimento e o extraordinário aumento no número de suas células é consequência de divisões mitóticas. Cada núcleo tem quatro cromossomos, o número diplóide, e pode-se notar que cada cromossomo aparece duplo já no início da prófase. Nessa fase, eles estão formados por duas cromátides, indicando que eles se duplicaram antes do início da divisão. Na mitose, as oito cromátides são divididas entre as duas células-filhas, o que resulta em quatro cromossomos em cada uma delas.

À medida que a fêmea de *Ascaris* amadurece, seu ovário passa a conter células aumentadas, as ovogônias, ainda com o número diplóide de cromossomos. A célula reprodutiva feminina permanece diplóide até ser libertada do ovário e penetrada pelo espermatozóide. É somente então que a meiose começa e os corpúsculos polares são formados. A figura 6 (de Boveri, 1887) mostra o que acontece.

No começo da meiose, cada um dos quatro longos cromossomos da ovogônia encurta e toma o aspecto de uma pequena esfera. Estes quatro cromossomos então se juntam em pares, um processo conhecido como sinapse. Quando isso ocorre, cada um dos cromossomos já está duplicado, pois a duplicação ocorreu na intérfase precedente. Assim, a célula em início de meiose terá dois grupos com quatro cromátides cada. Cada um desses grupos é denominado tétrade. As tétrades se separam em uma divisão celular altamente desigual que resulta em um pequeno corpúsculo polar e uma célula grande, o futuro óvulo. Cada uma dessas duas células contém dois cromossomos duplicados. Portanto, cada tétrade foi dividida em duas díades.

Na segunda divisão meiótica, observa-se uma característica essencial da meiose: os cromossomos não são duplicados. Então, cada díade se liga ao fuso e, na anáfase, suas duas cromátides

vão para pólos opostos. A célula se divide novamente de modo desigual. O resultado é um minúsculo corpúsculo polar com dois cromossomos e um grande óvulo também com dois cromossomos.

Assim, no decorrer das duas divisões que compõem a meiose, o número diplóide de quatro cromossomos da célula feminina foi reduzido ao número monoplóide de dois cromossomos. A hipótese de Weismann provou ser verdadeira, pelo menos para as fêmeas de *Ascaris*.

Meiose no macho de *Ascaris*

A previsão de Weismann para os machos também mostrou-se correta. Quando os testículos foram estudados, verificou-se que, durante o início do

desenvolvimento, as células aumentam em número por divisões mitóticas, isto é, as células que se originam desse processo tem o número diplóide de quatro cromossomos (Bauer, 1893).

No entanto, no testículo maduro, as duas últimas divisões antes de as células se diferenciarem em espermatozoides são diferentes. É quando ocorrem as divisões meióticas no macho. No que se refere aos cromossomos, os eventos são os mesmos que os da fêmea, mas quando se considera a célula como um todo, existem diferenças entre as divisões meióticas de macho e de fêmea. (Fig. 7)

Durante a meiose do macho, os quatro cromossomos já duplicados se juntam dois a dois, formando dois pares, ou duas tétrades. Na

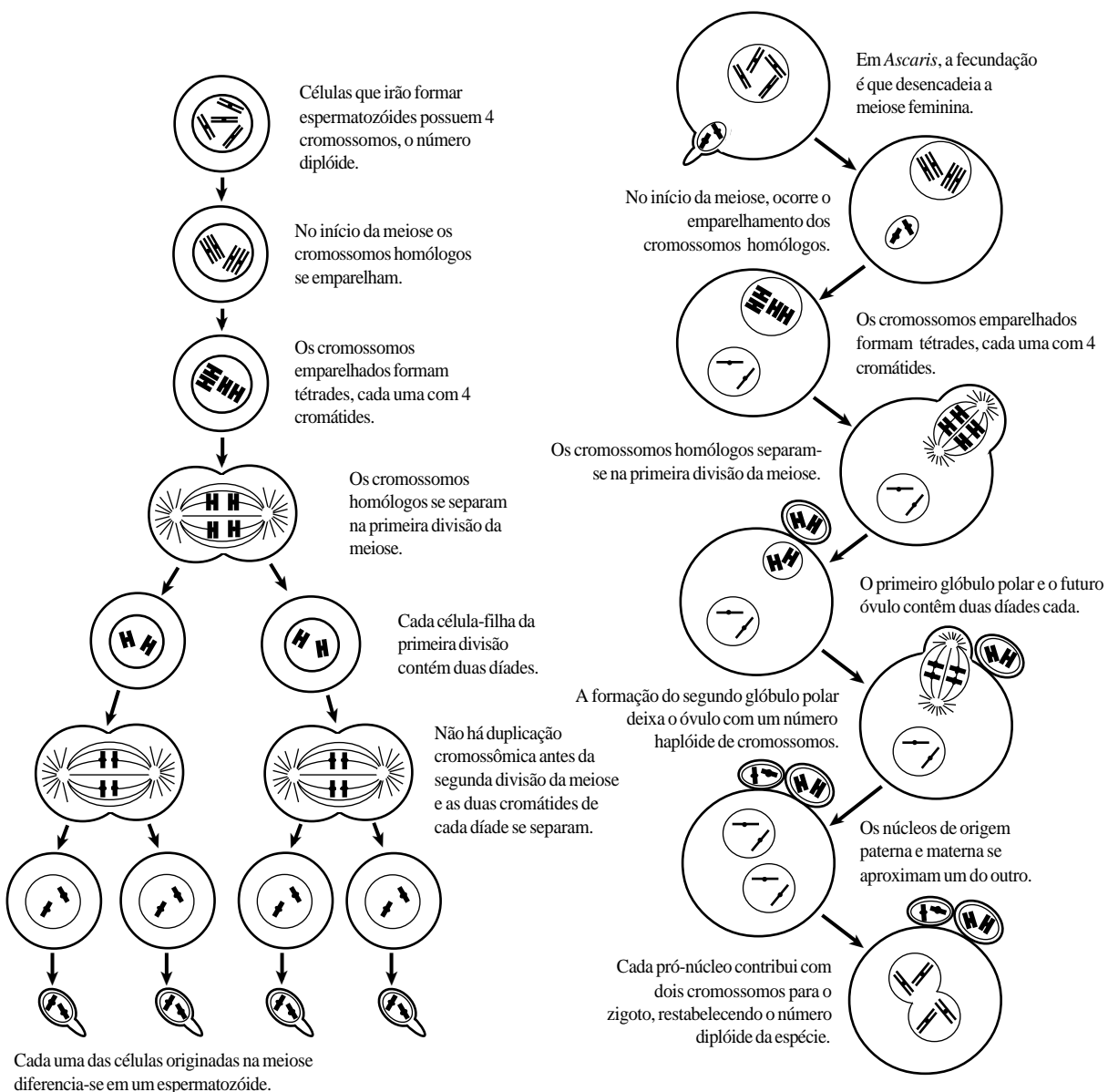


Figura 7. Representação esquemática da meiose masculina, à esquerda, e da meiose feminina, à direita em *Ascaris* de cavalos.

primeira divisão meiótica os cromossomos de cada par se separam, indo uma díade (cromossomo duplicado) para cada pólo. No entanto, ao contrário da primeira divisão meiótica da fêmea, no macho são produzidas duas células de igual tamanho. Na segunda divisão meiótica não há replicação cromossômica, as díades se dividem e cada célula-filha termina com dois cromossomos.

Assim, a partir de cada célula diplóide original, com quatro cromossomos, formam-se quatro células, cada uma com dois cromossomos, o número haplóide. Não há outras divisões dessas células e cada uma se diferencia em um espermatozóide.

Uma diferença fundamental entre a mitose e a meiose é que na mitose há uma duplicação de cada cromossomo para cada divisão celular; na meiose há somente uma duplicação de cada cromossomo para duas divisões sucessivas. Então, a mitose é um mecanismo que mantém a constância do número cromossômico nas divisões celulares enquanto a meiose reduz esse número à metade.

Fertilização e restabelecimento do número diplóide de cromossomos

O fato básico da fertilização, de que é o espermatozóide e não o líquido seminal o desenca-

deador do desenvolvimento do ovo, foi descoberto por J. L. Prévost e J. B. Dumas em 1824. No entanto, o real papel do espermatozóide não foi estabelecido nesse trabalho. Como relatado anteriormente, foi George Newport (1854) quem demonstrou que o espermatozóide penetra no óvulo das rãs. Mas o que acontece então?

Ascaris mostrou-se um material muito bom para o estudo dos detalhes da fertilização, novamente devido ao fato de possuir poucos e grandes cromossomos. Van Beneden e Boveri descreveram o processo em detalhe. (Fig.8)

A figura 8 mostra desenhos de Boveri, publicados em 1888. A primeira ilustração (A) é de um corte de um ovo logo após a entrada do espermatozóide. O pró-núcleo paterno aparece no quadrante inferior direito. As duas massas irregulares fortemente coradas são os dois cromossomos – dois é o número haplóide. A estrutura formando uma cápsula dobrada imediatamente acima do pró-núcleo paterno é o acrossomo, que é a parte da cabeça do espermatozóide composta por material do aparelho de Golgi. A massa granular escura no centro do óvulo é o centrossomo, que também se origina do espermatozóide. Existem quatro corpos escuros, aproximadamente na posição correspondente à das 12 horas; os dois superiores são os cromossomos do segundo corpúsculo polar. Os

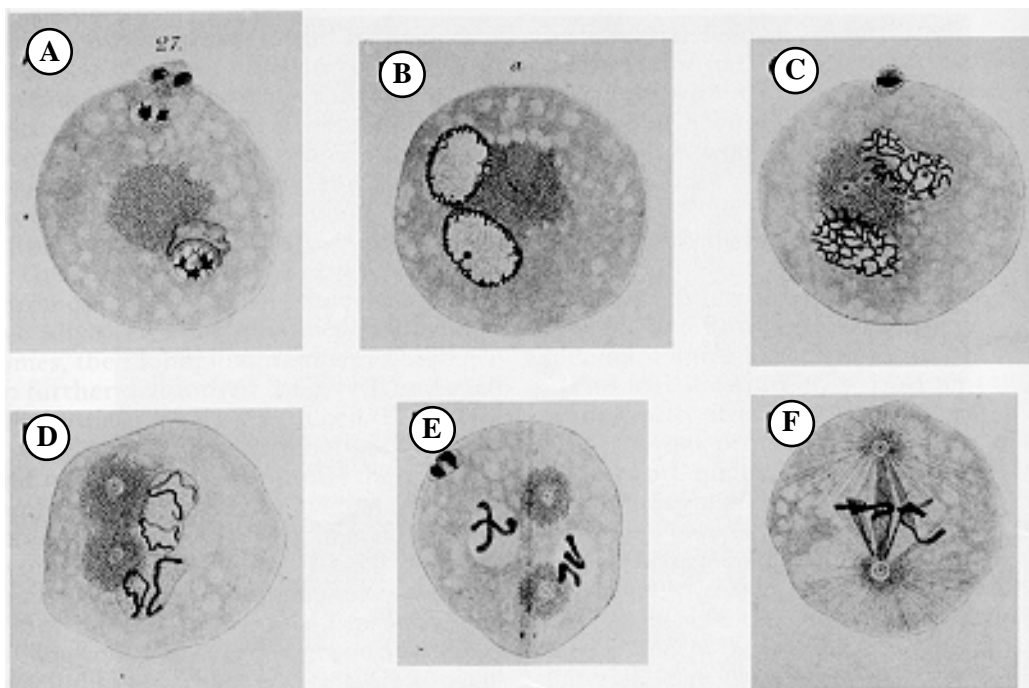


Figura 8. Ilustrações de Boveri da fertilização em *Ascaris* Veja explicação no texto. (Boveri, 1888)

dois de baixo são os cromossomos, em número haplóide, do pró-núcleo materno. O segundo corpúsculo polar aparece nos cortes de embriões mostrados em (C) e (E).

Em (B), os pró-núcleos materno e paterno já se aproximaram um do outro e seus cromossomos tornaram-se indistintos. Em (C) os cromossomos alongaram-se bastante e, embora agora saibamos que existem apenas dois cromossomos em cada pró-núcleo, isto não pode ser visto na ilustração (este é um exemplo claro da grande dificuldade enfrentada pelos citologistas para chegarem à conclusão de que o número de cromossomos de qualquer espécie é constante e que os cromossomos são individualmente únicos – na maioria das vezes eles pareciam tão emaranhados como um prato de espaguete). Pode-se distinguir dois grânulos escuros no centrossomo: os centríolos.

Em (D), os cromossomos tornaram-se distintos uma vez mais [de (B) a (C) eles estavam em um estágio modificado de “repouso”] e vê-se dois em cada pró-núcleo. O centrossomo dividiu-se em dois, cada um deles com um centríolo no centro. Este processo continua através de (E). Em (F), os quatro cromossomos, dois de cada pró-núcleo, estão alinhados no fuso e, logo depois disso, pode-se ver que cada um está duplicado, isto é, composto por duas cromátides. As cromátides irão se separar para formar cromossomos independentes que vão para pólos opostos da célula.

A forma do aparelho mitótico está bem mostrada em (F). Em cada extremidade do fuso encontra-se um minúsculo centríolo, cercado por uma área granular escura – o centrossomo. Em material bem preservado, pode-se observar fibras irradiando de cada centrossomo, formando um áster. Outras fibras se estendem de um centrossomo ao outro, formando o fuso. Em (F), célula em metáfase da primeira divisão embrionária com os cromossomos alinhados na placa equatorial.

Significado da formação dos gametas e da fertilização

Tudo estava acontecendo como previsto por Weismann. As células que iriam, muitas gerações mais tarde, formar os gametas, tanto no ovário como no testículo de *Ascaris*, começavam com quatro cromossomos, o número diplóide. E, estas células se dividiam repetidamente, sempre por mitose.

Nos machos, as duas últimas divisões das células formadoras de espermatozoides no testículo eram,

no entanto, meióticas e não mitóticas. Durante estas duas divisões, as células se dividiam duas vezes mas os cromossomos se replicavam somente uma vez. Essas divisões celulares eram iguais, isto é, produziam, cada uma delas, duas células de mesmo tamanho. Isso resultava em quatro células de igual tamanho, cada uma com dois cromossomos, o número haplóide. As quatro células, então, se diferenciavam nos espermatozoides.

Depois de muitos ciclos celulares de divisões mitóticas, algumas das células ovarianas aumentavam bastante em tamanho, formando os ovócitos. Como no caso dos machos, ocorriam duas divisões meióticas do material nuclear com somente uma única replicação dos cromossomos. A primeira divisão da célula era tão desigual que a maior parte do material permanecia na célula que iria originar o óvulo e só uma ínfima quantidade era incluída no primeiro corpúsculo polar. Isto se repetia na segunda divisão, produzindo um minúsculo segundo corpúsculo polar e um grande óvulo. Todavia, os núcleos do segundo corpúsculo polar e do óvulo eram idênticos – cada um continha um número haplóide de dois cromossomos.

A meiose em *Ascaris* produzia, portanto, o espermatozoide monoplóide e o óvulo monoplóide. A união deles originava o zigoto diplóide – o início de um novo verme nematóide. Os processos estão sumarizados na figura 7.

Estava claro pelo trabalho de van Beneden, Boveri e outros que cada genitor transmite o mesmo número de cromossomos ao zigoto. Além disso, os cromossomos no núcleo materno e paterno pareciam ser idênticos. Estas duas observações podiam ajudar a explicar o que já se acreditava há algum tempo: que a contribuição hereditária de cada genitor é aproximadamente a mesma.

Este era um campo de pesquisa excitante e importante e logo muitos pesquisadores estavam estudando uma grande variedade de plantas e animais. Com poucas exceções, o que se encontrou em *Ascaris* mostrou-se verdadeiro para todos os outros organismos. Certamente existiam pequenas variações, mas um estudo intenso serviu somente para aumentar a profundidade do nosso entendimento do processo global. Um conceito de aplicação universal havia sido descoberto.

As extraordinárias observações sobre o comportamento dos cromossomos na mitose, meiose e fertilização, feitas entre 1870 e 1890,

principalmente na Alemanha, forneceram um quadro geral para a transmissão de geração a geração das estruturas fundamentais responsáveis pela herança.

Pode-se argumentar, com razão, que esses estudos não forneceram qualquer evidência crucial de que os cromossomos seriam, de fato, a base física da hereditariedade. Eles apenas sugeriam que os cromossomos poderiam desempenhar tal papel. Nem mesmo durante as últimas duas décadas do século XIX se chegou próximo à descoberta de como seria possível estabelecer o papel de uma estrutura celular na herança. Tanto a Citologia como o que atualmente chamamos de Genética estavam no estágio de ciência normal Kuhniana, esperando pela chegada de um novo paradigma. Isso iria ocorrer, de uma forma dramática, no ano de 1900.

Mas antes de entrarmos no século XX, podemos concluir com este sumário de E. B. Wilson sobre o que havia sido estabelecido durante o florescimento da Citologia no último quarto do século XIX.

“O trabalho da Citologia neste período de estabelecimento de seus fundamentos construiu uma base ampla e substancial para as nossas concepções mais gerais de hereditariedade e seu substrato físico. Foi demonstrado que a base da hereditariedade é uma consequência da continuidade genética das células pela divisão e que as células germinativas são o veículo da transmissão de uma geração para outra. Acumularam-se fortes evidências de que o núcleo da célula desempenha um papel importante na herança.

Descobriu-se o significativo fato de que em todas as formas ordinárias de divisão celular o núcleo não divide “em massa” mas que primeiro ele se transforma em um número definido de cromossomos; estes corpos, originalmente formados por longos fios, dividem-se longitudinalmente para efetuar uma divisão merismática da substância nuclear inteira.

Provou-se que toda fertilização do óvulo, envolve a união ou estreita associação de dois núcleos, um de origem materna e o outro de origem paterna. Está estabelecido o fato, algumas vezes chamado de “lei de van Beneden” em homenagem ao seu descobridor, que estes núcleos germinativos primários dão origem a grupos semelhantes de cromossomos, cada um contendo metade do número encontrado nas células do corpo. Demonstrou-se que quando novas células germinativas são formadas cada uma volta a receber apenas metade do número característico de cromossomos das células do corpo.

Acumularam-se evidências, especialmente pelos estudos admiráveis de Boveri, que os cromossomos de sucessivas gerações de células, que normalmente não são vistos nos núcleos em repouso, na realidade, não perdem sua individualidade, ou que de uma maneira menos óbvia eles se adaptam ao princípio da continuidade genética. Desses fatos, tirou-se uma conclusão de que os núcleos das células do corpo são diplóides ou estruturas duplas, descendentes igualitários dos grupos de cromossomos de origem materna e paterna do ovo fertilizado. Esses resultados, continuamente confirmados pelos trabalhos dos últimos anos [isto é, ciência normal], gradualmente tomaram um lugar central na Citologia; [...] Uma nova era de descobertas agora se abre [um novo paradigma]. Assim que o fenômeno mendeliano tornou-se conhecido ficou evidente que em linhas gerais, ele forma um complemento para aqueles fenômenos que a Citologia já tinha tornado conhecido a respeito dos cromossomos.”

Esta citação é parte da famosa *Croonian Lecture to the Royal Society of London* proferida por Wilson em 1914. Nessa época as relações entre cromossomos e herança já haviam sido testadas e se **mostrado verdadeiras acima de qualquer suspeita..**

EXERCÍCIOS

PARTE A: REVENDO CONCEITOS BÁSICOS

Preencha os espaços em branco nas frases de 1 a 6 usando o termo abaixo mais apropriado.

- (a) anáfase (c) metáfase (e) prófase
(b) meiose (d) mitose (f) telófase

- () é um tipo de divisão nuclear em que os núcleos-filhos conservam o mesmo número de cromossomos do núcleo original.
- A migração dos cromossomos para os pólos ocorre na ().

3. () é um tipo de divisão nuclear que reduz à metade o número de cromossomos nos núcleos-filhos.

4. Cromossomos arranjados na região equatorial da célula caracteriza a fase da divisão chamada ().

5. () é a primeira fase da divisão celular, na qual os cromossomos se tornam evidentes.

6. () é a fase final da divisão celular, em que os núcleos se reorganizam.

Preencha os espaços em branco nas frases de 7 a 11 usando o termo abaixo mais apropriado.

(a) corpúsculo polar (c) haplóide (e) ovogônia
(b) diplóide (d) ovócito

7. () é uma célula que está sofrendo meiose e dará origem a um gameta feminino.

8. Uma célula animal feminina que irá sofrer meiose é chamada ().

9. () é o termo usado para designar uma célula que possui dois conjuntos de cromossomos.

10. () é o nome das minúsculas células que se formam no decorrer da meiose feminina.

11. () é o termo que designa uma célula que possui apenas um conjunto de cromossomos.

Preencha os espaços em branco nas frases de 12 a 17 usando o termo abaixo mais apropriado.

(a) cromátide (d) pró-núcleo
(b) díade (e) sinapse
(c) fertilização (f) tétrade

12. Dois cromossomos emparelhados no início da meiose formam um(a) ().

13. O emparelhamento de cromossomos na meiose é chamado ().

14. () é o nome do núcleo do espermatozóide ou do óvulo imediatamente antes de eles se fundirem para formar o núcleo do zigoto.

15. Um cromossomo duplicado, formado portanto por dois filamentos idênticos, é chamado ().

16. () é nome que se dá a cada um dos dois filamentos que formam um cromossomo duplicado.

17. A fusão de dois gametas com formação de um zigoto é chamada ().

PARTE B: LIGANDO CONCEITOS E FATOS

Utilize as alternativas abaixo para completar as frases de 18 a 21.

a. fertilização b. meiose c. mitose

18. Na () ocorre uma replicação cromossômica para duas divisões celulares.

19. Na () ocorre uma replicação cromossômica para uma divisão do citoplasma.

20. Apenas células diplóides se dividem por ().

21. Células diplóides e haplóides se dividem por ().

Utilize as alternativas abaixo para completar as frases de 22 a 25.

a. células diplóides
b. células haplóides

22. Ovogônias são sempre ().

23. Gametas são sempre ().

24. Zigotos são sempre ().

25. Meiose produz sempre ().

26. Dos cinco eventos listados a seguir, quatro ocorrem tanto na mitose quanto na meiose. Indique qual deles acontece essencialmente na meiose?

a. Condensação dos cromossomos.
b. Formação do fuso.
c. Emparelhamento dos cromossomos.
d. Migração dos cromossomos.
e. Descondensação dos cromossomos.

Utilize as alternativas abaixo para completar as frases de 27 e 28.

a. Antonie van Leeuwenhoek
b. Nehemiah Grew
c. Robert Brown
d. Robert Hooke

27. () é considerado o descobridor da célula.

28. () foi o descobridor do núcleo celular.

Utilize as alternativas abaixo para completar as frases de 29 a 33.

a. August Weismann c. Theodor Schwann
b. Rudolph Virchow d. Walther Flemming

29. A idéia de que a formação do corpúsculo polar é uma estratégia para a redução do material hereditário do óvulo foi lançada em 1887 por ().

30. Um dos formuladores da teoria celular foi ().

31. A célebre frase “*omnis cellula e cellula*”, indicando que toda célula provém da divisão de outra célula, foi cunhada em 1855 por ().

32. () é considerado o descobridor da mitose pelo fato de ter demonstrado que os eventos cromossômicos observados em células fixadas e coradas ocorriam nas células vivas.

33. A teoria celular mostrou que, apesar das diferenças visíveis a olho nu, todos os seres vivos são iguais em sua constituição básica, pois

- a. são capazes de se reproduzir sexuadamente.
- b. são formados por células.
- c. contêm moléculas.
- d. se originam de gametas.

34. Os vírus não são exceções à teoria celular pois

- a. são formados por células.
- b. formam gametas.
- c. são organismos vivos.
- d. só conseguem se reproduzir no interior de uma célula viva.

PARTE C: QUESTÕES PARA PENSAR E DISCUTIR

O número diplóide de cromossomos da espécie humana é 46. Essa informação deve ser usada para responder as questões 35 e 36.

35. Determine o número de filamentos cromossômicos (cromátides) presentes em um núcleo celular humana em

- a. prófase mitótica.
- b. prófase I da meiose.
- c. prófase II da meiose.
- d. telófase mitótica.
- e. telófase I da meiose.
- f. telófase II da meiose.

Obs. No caso das telófases, considere apenas um dos núcleos em formação.

36. Determine o número de filamentos cromossômicos (cromátides) presente em cada um dos tipos celulares relacionados a seguir.

- a. Espermatozóide.
- b. Óvulo.
- c. Primeiro corpúsculo polar.
- d. Segundo corpúsculo polar.
- e. Ovócito primário.
- f. Ovócito secundário.

37. Qual é a hipótese central da teoria celular?

38. Por que foi difícil estender o conceito de célula para os animais?

39. Que critério Schwann utilizou para estabelecer relações de semelhança entre as unidades microscópicas que compõem o corpo dos animais e das plantas?

40. Que tipo de observação permitiu concluir que espermatozóides eram células?

41. Por que não se deve chamar o núcleo interfásico de núcleo em repouso, como faziam os antigos citologistas? Por que era usado aquele nome?

42. O que Weismann imaginou ser necessário para manter a constância do número de cromossomos através das gerações?

43. Identifique as principais diferenças entre mitose e meiose.

44. Analise os tipos de argumento usados para justificar a idéia de que a informação hereditária estaria contida nos gametas.

45. Que tipo de raciocínio dedutivo levou os antigos citologistas a concluir que a mitose não poderia ser o único tipo de divisão celular?

46. Qual é o significado da meiose e da fertilização no ciclo de vida dos organismos?

47. Que importantes paradigmas direcionaram as pesquisas citológicas nos primeiros dois terços e no último terço do século XIX, respectivamente?