

# ESTRUTURA DOS CROMOSÔMIOS \*

E. A. Graner

Escola Superior de Agricultura «Luz de Queiroz»  
Universidade de S. Paulo

Passarei resumidamente em revista as mais recentes idéias sôbre a estrutura daqueles corpúsculos de tão grande importância para os problemas da hereditariedade, muito conhecidos de todos pelo nome de **cromosômios**. Trata-se de um assunto que conta hoje com um número muito elevado de trabalhos originais, publicados por muitos investigadores e é conveniente porisso dizer, de antemão, não ser meu propósito rever aqui tôdas essas publicações, dada a natureza desta nossa reunião. Procurarei apresentar o tema em questão em forma bastante generalizada, na esperança de que a discussão, que à exposição se seguir, traga reparos aos pontos que forem considerados de maior importância.

Quando falar sôbre cromosômios, refiro-me aos cromosômios em geral, quer se tratem de cromosômios de animais ou de vegetais, quer se tratem de cromosômios mitóticos ou meióticos. Naturalmente, sempre que se fizer necessário, citarei o organismo trabalhado, bem como outros detalhes, pois é bem sabido que nem todos os organismos ou tecidos se prestam para um estudo detalhado da estrutura dos cromosômios.

A palavra **estrutura** significa já uma disposição especial das partes daquilo em consideração e penso porisso melhor começar este apanhado com uma breve introdução sôbre o cromosômio, com as suas principais variantes, a-fim-de melhor analisar o que de mais importante se nos afigurar sôbre as partes que, em conjunto, constituem êsse organóide de transcendental importância.

Sabemos todos que os cromosômios podem variar quanto a sua **forma**, seu **tamanho** e seu **número**. Poucas palavras serão necessárias para dar uma idéia do que seja tôda essa variação. A **forma** do cromosômio varia de acôrdo com a fase de divisão do núcleo, segundo o tecido em que se está operando essa divisão e na dependência das condições fisiológicas a que está exposto o tecido onde tal análise está sendo realizada. Uma vez que o exame dos cromosômios quase que só é possível em material morto, os mais variados métodos de fixação e coloração influem também bastante nas modificações por êles apresentadas. O mesmo que foi dito como influindo na variação da forma, aplica-se também como causando variação do **tamanho**. Não é preciso assim entrar em mais detalhes sôbre êsses dois pontos, bem fácil sendo realizar que um mesmo cromosômio pode mudar, num mesmo organismo, bastante quanto à sua forma e tamanho e estudos comparativos só podem ser realizados em condições bem especiais. A forma e tamanho dos cromosômios podem também ser controlados por fatores de natureza genética: basta citar por exemplo o caso da variação do tamanho, analisado por LESLEY e FROST em 1927, no gênero *Mathiola*. O **número** de cromosômios varia principalmente na dependência da espécie. Os números mais baixos até agora encontrados foram o de 2, para *Ascaris megalcephala*, variedade univalens, e o de 6 para *Crepis capillaris*. Os números mais altos podem ser contados em algumas centenas, encontrados em alguns organismos inferiores. Dentre as espécies com número baixo de cromosômios destaca-se também o escorpião *Tityus bahiensis* com 6, mas parece aquí tratar-se de cromosômios compostos, ficando porisso *Crepis capillaris* como uma das espécies onde o número menor foi encontrado. Muitos são os fatores

que podem determinar a variação do número, destacando-se os agentes da poliploidia, dentre os quais conhecemos a colchicina, muito utilizada recentemente em vários estudos experimentais.

A **individualidade** dos cromosômios está também perfeitamente estabelecida. Organismos favoráveis como *Drosophila* e *Zea* têm hoje todos os seus cromosômios perfeitamente identificados, graças aos trabalhos conduzidos por muitos cientistas, destacando-se os realizados nas glândulas salivares de *Drosophila* por DOBZHANSKY e nos microsporócitos de milho por McCLINTOCK.

Os cromosômios, vistos ao microscópio e depois dos métodos ordinários de fixação e coloração, apresentam-se como corpúsculos alongados ou arredondados, possuindo uma região mais clara, ligada aos seus movimentos durante a separação anafásica, e conhecida por **constricção primária, centromério**, ou ainda **cinetocore**. Esta região é bem visível em *Galtonia* (NAWASHIN), *Crepis* (TRAUKOWSKY), *Amphiuma* (SCHRAEDER) e *Zea* (McCLINTOCK), não o sendo porém em muitos outros organismos, não querendo isto dizer que ela não exista para estes últimos. Outras regiões são também encontradas nos cromosômios, conhecidas por **constricções secundárias**, diretamente ligadas à formação dos nucléolos (NAWASHIN, HEITZ, McCLINTOCK) e a outras estruturas do cromosômio, como por exemplo, os chamados satélites. Pouco ou nada mais do que isso se pode ver nos cromosômios tratados pelos métodos comuns empregados para a sua observação.

Outras estruturas no geral só podem ser visíveis com **métodos especiais de tratamento**, desenvolvidos muito recentemente. Estes tratamentos consistem principalmente em expor as células ou tecidos em estudo à ação de água quente, vapores de amoníaco ou de ácidos, ou ainda sais em solução. Nada se sabe em definitivo sobre a ação desses agentes, sendo interessante notar que excepcionalmente, as estruturas mostradas com tais tratamentos podem ser também visíveis pelos mé-

todos ordinários de tratamento dos cromosômios. Após os tratamentos referidos, os cromosômios apresentam-se como sendo formados por um filamento todo enrolado em hélice, chamado **cromonema**, e uma substância envolvendo êsse filamento, denominada **matriz**. A presença-ausência desta substância matriz, envolvendo o cromonema, é bastante discutida (GOLDSCHMIDT, PAINTER, HEITZ, HUSKINS e outros). Dentre os que admitem a sua existência, há ainda os que a supõem como um produto qualquer do próprio cromonema e os que a consideram como uma substância independente do cromonema. Penso acertar em dizer que a matriz existe, de acôrdo com o que pôde ser verificado em vários tratamentos que em nossos laboratórios foram realizados, empregando solução de  $KNO_3$ . (BRIEGER 1939, GRANER, 1939). O cromonema não é um filamento uniforme e possui em tôda a sua extensão engrossamentos irregulares, como pequenas granulações de tamanhos variáveis, chamados **cromomérios**. Segundo os mais recentes trabalhos de CASPERSON, com raios ultra-violetas, o cromonema seria constituído de proteína, com base em globulina e histona, tendo os cromomérios proteína em combinação com ácido nucléico, êste último de 2 tipos, produzindo um a **eucromatina** e outro a **heterocromatina**, a primeira ativa e a última inativa geneticamente. Trabalhos mais recentes de GOLDSCHMIDT e KODANI classificam a heterocromatina como podendo ser também de 2 tipos, uma colorindo-se intensamente na mitose e outra não se colorindo e encontrando-se principalmente nos cromosômios salivares, entre cada 2 bandas cromáticas.

O cromonema não é um filamento simples mas sim um filamento composto de vários fios. O termo cromonema vem sendo empregado indiferentemente para designar o filamento visível no cromosômio e envolvido pela matriz, como também para designar cada um dos vários fios que o compõem. Nesta exposição o termo cromonema fica reservado para designar o filamento do cromosômio, sem nenhuma referência ao número de fios presentes e o plural cromonemas para designar os fila-

mentos de diferentes cromosômios. O termo **fios** será usado para identificar os fios que, em conjunto, constituem o cromonema.

O número de fios presentes no cromonema de um cromosômio é um assunto bastante controvertido. De acôrdo com tratamentos que realizei em raízes de *Allium*, penso poder afirmar que, na anáfase da mitose, dois fios são claramente visíveis no cromonema de cada cromosômio e o que está de acôrdo com o observado em *Tradescantia* por NEBEL. Assim sendo, cada cromonema entra já constituído de 2 fios para o estado de telófase e repouso e, como na seguinte anáfase êle reaparece duplo, deve haver evidentemente um momento onde se dá uma divisão longitudinal, momento êsse que fica entre a telófase anterior e a metáfase seguinte, muito difícil de se localizar exatamente, mas muito provavelmente durante o repouso aparente do núcleo, onde se devem processar os mais variados fenômenos do metabolismo nuclear. Com essa divisão longitudinal, 4 fios estão presentes na metáfase, (SHARP, *Trillium*) separando-se 2 fios para cada polo na anáfase. Admitindo-se agora que assim acontece para tôdas as mitoses, inclusive a última divisão nuclear que precede a meiose e, também, que o repouso-prófase da meiose implica, como na mitose, numa divisão longitudinal dos fios, teremos, seguindo-se o pareamento dos cromosômios homólogos, 8 fios na 1.ª metáfase meiótica. Com a separação dos cromosômios na 1.ª anáfase da meiose, teremos 4 fios para cada polo e, em consequência da 2.ª anáfase, 2 fios para cada uma das 4 células resultantes. A presença de dois fios na anáfase da 1.ª divisão do gônio foi observada por outros autores, indicando que a telófase-repouso-prófase da primeira divisão do gônio implica também numa divisão longitudinal dos fios. A união do gâmeta masculino com o feminino restabelece então o número diplóide de cromosômios, cada gâmeta transportando os cromosômios já constituídos de 2 fios e prosseguindo-se assim naturalmente o ciclo mitótico com relação ao número duplo de fios presentes num cromonema.

A introdução agora de um outro termo torna-se necessária. Vimos que cada cromonema é pelo menos duplo, como verificamos na anáfase da mitose. Cada um desses componentes recebe o nome de **cromatídio**; cromatídio, em outras palavras, significa  $\frac{1}{2}$  cromonema ou também  $\frac{1}{2}$  cromossômio. Seguem-se a telófase, o repouso e a prófase da mitose (envolvendo a divisão longitudinal de cada cromatídio ou  $\frac{1}{2}$  cromonema) e temos na metáfase 2 cromatídios, cada um por sua vez duplo ou constituído de  $\frac{1}{2}$ s cromatídios (2 fios). Com a anáfase, separam-se os cromatídios, um para cada polo, tornando-se cada cromatídio um novo cromonema e cada  $\frac{1}{2}$  cromatídio, por sua vez, um cromatídio. Na meiose, cada cromatídio, dividindo-se longitudinalmente e, mais o pareamento dos cromossômios homólogos, teremos reunidos 4 cromatídios, cada um por sua vez duplo. Separam-se na 1.<sup>a</sup> anáfase 2 cromatídios para cada polo, na 2.<sup>a</sup> anáfase 1 cromatídio para cada polo. Temos assim, nos gônios, também o cromatídio duplo: o cromatídio passa a ser o cromonema e os seus 2 componentes, por sua vez, os cromatídios.

O esquema acima parece verdadeiro para muitas plantas de cromossômios grandes. Muitos organismos não se prestam para tais estudos, sendo porisso difícil estabelecer se eles seguem a mesma regra.

O número de fios realmente presentes num cromossômio é porém um assunto bastante controvertido. Para não alongar demais esta exposição, basta citar que os trabalhos de NEBEL em *Tradescantia* e *Trillium* parecem revelar a presença de 4 fios já na telófase da mitose, como também na telófase da 1.<sup>a</sup> divisão do gônio. Assim, 4 fios devem estar presentes também na anáfase da mitose, se bem que este ponto não pôde ser ainda verificado com clareza. É bem possível que esta hipótese esteja correta, pois a presença de só 2 fios na anáfase de *Allium* nada indica que esses 2 fios já não possam, por sua vez, ser duplos, porém sem mostrar essa condição de duplicidade. Também o esquema descrito em nada se alteraria a não ser quanto ao número de fios, que passaria a ser dobrado: 4 fios na

anáfase mitótica, 8 na metáfase mitótica, 16 na 1.<sup>a</sup> metáfase meiótica, porém, todos intimamente associados, e só iniciando a separação progressivamente em pares, os cromatídios do esquema apresentado, das observações citológicas em geral e dos resultados genéticos obtidos. Numa anáfase mitótica, em vez da separação de fios de uma divisão longitudinal que se operou numa mitose  $n-1$ , teríamos então a separação correspondente a uma divisão longitudinal que se teria operado na mitose  $n-2$ .

É difícil, em virtude das dificuldades de observação, dizer-se que um ou outro esquema é o verdadeiro; ou ainda que o número de fios não possa ser maior, aproximando-se assim os cromosômios ordinários aos cromosômios encontrados nas glândulas salivares dos Dípteros. Também, outras modificações poderiam ser realizadas no caso da mitose pre-meiótica ser diferente das mitoses ordinárias, o que não me parece muito razoável, porém, possível. Penso que não se deve generalizar por demais estes pontos, sendo possível que os organismos não obedeam todos ao mesmo esquema, quanto ao número de fios presentes no cromosômio.

Verificamos então que cada cromosômio é constituído sempre de uma substância chamada matriz, envolvendo dois cromatídios e sabemos que os cromatídios são as unidades da segregação mendeliana e do "crossing-over". Os cromatídios serão porisso agora considerados também como unidades das estruturas apresentadas pelo cromonema do cromosômio. O cromonema encontra-se, no geral, enrolado quando o cromosômio está no seu estado mais condensado (metáfase, anáfase). Este enrolamento é bastante variável e aparece mais geralmente sob a forma de uma hélice. Esta hélice tem sido referida comumente como espiral e com este nome é muito mais conhecida. Trata-se porém de uma verdadeira hélice e não de uma espiral e porisso com aquela denominação será considerada a seguir. Cada volta de uma hélice corresponde ao que se denomina um passo, mas como as voltas da hélice formadas por um cromonema são muito irregulares, o termo passo não será

aquí empregado e será substituído simplesmente pela designação "volta", (*coil*, da literatura inglesa e americana). Os enrolamentos mais estudados são aqueles encontrados na meiose e também nas plantas de cromosômios grandes. Os cromosômios meióticos contêm então uma hélice e o filamento desta hélice forma muitas vezes uma outra hélice menor em toda a sua extensão, dando tais estruturas as maiores e as menores voltas do filamento (**major and minor coils**), como observado em *Tradescantia*. Também o filamento que forma a grande hélice pode apresentar-se apenas ondeado em todo o seu comprimento, como acontece em *Trillium*. Os cromosômios mitóticos também apresentam um enrolamento em hélice, semelhante à grande hélice dos cromosômios meióticos, porém quase sempre de diâmetro menor. As voltas da hélice somática são referidas como **voltas somáticas** para diferenciá-las das voltas maiores e menores da hélice meiótica. Algumas voltas da hélice do cromosômio anafásico permanecem muitas vezes sem se desenrolar, aparecendo na prófase seguinte e as quais foram designadas por voltas remanescentes (**relic coils**) por DARLINGTON. Também, o mesmo autor designou por voltas relacionais (**relational coils**) as voltas que se encontram entrelaçadas. Dois tipos de entrelaçamento podem no entanto ser observados: as voltas se encontram entrelaçadas de tal sorte que só o desenrolamento da hélice permitiria facilmente a sua separação. Tais voltas podem se originar da divisão longitudinal dos fios e a sua separação seria facilitada durante o repouso. Às voltas deste tipo de entrelaçamento foi aplicada a designação de voltas plectonêmicas (**plectonemic coil**) em contraste às voltas paranêmicas (**paranemic coil**) presentes no outro tipo de entrelaçamento, quando 2 hélices relacionais podem se separar facilmente sem se desenrolarem, como acontece quando do enrolamento de 2 fios que já se achavam mais ou menos separados. Tais estruturas podem facilmente ser imitadas por meio de fios de arame e pode-se assim verificar que muitos desses entrelaçamentos, que à primeira vista parecem impossíveis de ser separados, separam-se facilmente. De-

ve-se ainda levar em conta que os fios presentes no cromossômio são de natureza coloidal e porisso bastante plásticos.

As estruturas de voltas maiores e menores, presentes nos cromatídios, foram descritas desde 1933, por vários autores japoneses e foram vistas pela primeira vez em *Tradescantia* por FUJII em 1926. No entanto, enquanto que as voltas maiores vistas nos cromossômios meióticos são realmente voltas da hélice, as voltas menores não passam muitas vezes de ilusão ótica, determinada pela estrutura cromomérica dos fios.

As estruturas em hélice devem evidentemente contribuir para as alterações do comprimento dos cromossômios, observadas durante as diferentes fases da divisão nuclear. O cromossômio apresenta-se muito menor na metáfase do que no estado paquitene. Para alguns autores, o cromossômio leptotene apresenta-se já ondeado ou em hélice, correspondendo estas voltas às voltas menores. Sendo assim, a diferença de tamanho apresentada pelo cromossômio na metáfase e no leptonema seria determinada pela formação de uma nova hélice, as voltas desta correspondendo às voltas maiores. Parece entretanto difícil imaginar que só as voltas maiores possam determinar a grande diferença de tamanho entre o cromossômio metafásico e o cromossômio no estado leptotene. Supondo-se porém que o cromossômio na fase leptotene seja um fio sem qualquer ondeamento ou voltas de hélice, o pareamento na fase zigotene torna-se mais fácil de ser realizado e a formação depois das 2 hélices (voltas maiores e menores) poderia explicar a grande contração apresentada pelo cromossômio na metáfase (HUSKINS e outros).

As voltas presentes na hélice não precisam estar orientadas sempre na mesma direção. Assim é que se tem observado alterações na sua direção, dependendo estas mudanças de vários fatores. Os quiasmas, o ponto de inserção, podem mudar a direção das voltas, sendo o número de vezes de troca quase sempre proporcional ao comprimento dos cromossômios.

Tôdas estas observações estão baseadas em estudos feitos

com organismos de cromosômios grandes, principalmente certas plantas como *Tradescantia*, *Trillium*, *Lilium*, *Rhoeo* e outras. Organismos com cromosômios pequenos não se prestam para tais estudos, mas daí não se deve deduzir que essas estruturas não podem ser generalizadas.

Até agora referi-me à estrutura dos cromosômios, como ela aparece na mitose ou meiose. Devo dizer também algumas palavras sobre a estrutura apresentada pelos cromosômios das células da glândula salivar dos Dípteros. Os cromosômios nestas células aparecem tão grandes, cerca de 100 vezes maiores que os de uma metáfase mitótica, que é de se pensar não haver nenhuma dúvida quanto à estrutura por eles apresentada. Porém, também aqui existem várias opiniões contraditórias.

O estudo da estrutura dos cromosômios nas glândulas salivares tem despertado a atenção de vários pesquisadores, não só pelo interesse em se encontrar qualquer coisa sobre a natureza do gen, como também pela luz que tais estudos possam trazer para o conhecimento da estrutura dos cromosômios ordinários.

Além do tamanho, outro característico interessante destes cromosômios é apresentarem-se eles em **sinapse somática**. Também, toda a parte heterocromática reúne-se num ponto central conhecido por **chromocentro**. Assim, na *Drosophila melanogaster*, para fora do chromocentro, ficam os braços direito e esquerdo dos cromosômios II e III, por estar a parte heterocromática destes cromosômios principalmente na região de inserção, localizada mais ou menos na parte central do cromosômio; um pequenino braço correspondendo ao cromosômio IV e um único braço do cromosômio X, por estarem a região de inserção e a parte heterocromática localizadas na extremidade deste cromosômio. O cromosômio Y, quando presente, fica também confundido com o chromocentro, visto ser quase que exclusivamente de natureza heterocromática.

O cromosômio salivar apresenta em toda a sua extensão duas partes distintas, uma cromática e outra acromática, a

primeira formando distintos discos ou bandas, não como anéis em volta de um cilindro mas como moedas localizadas dentro de um cilindro. Cada cromosômio tem a sua constituição característica determinada pela grossura e outras diferenças estruturais dos discos. A estrutura dos discos varia bastante, podendo-se apresentar sólida, granular, vesicular e possivelmente com muitas formas intermediárias a estas.

Descoberto por **BALBIANI**, cerca de 30 anos atrás, foram os cromosômios salivares estudados por **ALVERDES** em 1912, que os descreveu como possuindo discos, correspondentes a voltas do cromonema. Em 1935 **KOLSTOFF** e **BRIDGES** descreveram os cromosômios salivares como constituídos de muitos fios dispostos em sua periferia. **PAINTER**, **GRIFFIN**, **KOLLER**, **BAUER** (1937) descreveram êsses cromosômios como sendo constituídos de fios, porém não só na periferia, mas também no seu interior, fios êstes reunidos e formando vários feixes. **METZ** (1941) procurou encontrar uma estrutura baseada em poucos fios, o grande tamanho do cromosômio sendo devido ao crescimento dêsses fios por meio de formação de vesículas.

As mais recentes idéias sôbre a constituição dos cromosômios salivares, obtidas por meio de tratamento com álcalis, são as de **GOLDSCHMIDT**, **KODANI** e **CALVIN**, que descreveram êsses cromosômios como sendo constituídos de somente 4 fios, os discos ou bandas cromáticas não correspondendo mais à reunião dos cromomérios de muitos fios, mas sim a voltas dos mesmos fios, com migração para estas de grande parte do ácido nucléico do cromosômio.

Os pontos principais de tôdas estas diferentes opiniões resumem-se no seguinte: o cromosômio salivar seria constituído de poucos ou de muitos fios. Vários argumentos foram apresentados por **METZ** contra a idéia do cromosômio salivar como sendo formado por uma reunião de muitos fios, mas parece ser esta ainda a idéia mais aceitável e mais compatível com o que até agora se sabe a respeito da estrutura dos cromosômios nas divisões meióticas e mitóticas.

---

NOTA:— A "Revista de Agricultura", a cargo de cuja redação está a revisão das provas dos trabalhos publicados neste número, lamentavelmente deixou passar no presente artigo "gonio,s" em lugar de "gone,s" como se acha no original, pedindo porisso desculpas ao autor por êsse involuntário descuido. Neste artigo, pois, onde se lê "gonio", "gonios", deve-se ler "gone", "gones" respectivamente.