

MEIOSE NO MACHO DO ESCORPIÃO BRASILEIRO

TITYUS BAHIENSIS (*)

S. de Toledo Piza Jor.

Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz»
da Universidade de S. Paulo

I — A MEIOSE NORMAL

A — **Introdução** — Enquanto a história dos condriossômios e dos corpos de Golgi nas células germinais dos escorpiões tem sido trabalhada por alguns investigadores modernos (WILSON 1916, 1931; NATH 1925; WILSON e POLLISTER 1937) (**), o mesmo não se pode dizer relativamente à história dos cromossômios. Durante o longo período de rápidos progressos da Citologia, que começou com a redescoberta das leis de hereditariedade de Mendel, em 1900, excetuando-se estudos parcelados do presente autor (PIZA, 1939, 1939a, 1940, 1941, 1942), a espermatogênese nos escorpiões unicamente uma vez recebeu um tratamento mais ou menos completo. Foi SOKOLOW (1913), em cuja publicação se encontra referência à literatura mais antiga, quem publicou um detalhado trabalho sobre o comportamento dos cromossômios nas diferentes fases da meiose em duas espécies de escorpiões, ou seja, em *Euscorpium carpathicus* e *Buthus eupeus*.

Provavelmente o grande número de cromossômios e o seu pequeno tamanho são responsáveis por essa situação. A descoberta por nós feita de uma notável espécie (*Tityus bahiensis*) possuindo apenas seis grandes cromossômios vem colocar

(*) Este trabalho será a seguir integralmente reproduzido em inglês para fim de divulgação no estrangeiro.

(**) As referências bibliográficas encontram-se no texto inglês.

os escorpiões numa posição proeminente dentre os animais úteis às investigações citológicas, mormente considerando-se que ao gênero *Tityus* pertencem mais de noventa espécies ainda não investigadas e que os escorpiões podem geralmente ser tratados e manipulados muito facilmente no laboratório.

No presente artigo, além da descrição da espermatogênese normal, serão tratados alguns casos especiais, altamente interessantes, devidos a fragmentações espontâneas e translocações recíprocas de cromossômios.

B — Métodos — Após retirar o último segmento da cauda o animal é aberto vivo e fixado por meio de alfinetes à cera ou parafina do fundo de uma caixa de Petri e coberto com solução de Ringer. O testículo é rapidamente retirado e transferido para o fixador. Como fixadores foram empregados com bons resultados o líquido de Navashin, o Bouin-urêa recomendado por Carothers para insetos, o Bouin modificado por Allen-Baur e o líquido de San Felice. Os dois últimos, entretanto, deram sempre melhores figuras do fuso. O material foi incluído em parafina e cortado com 6-10 micra. As secções foram coloridas pela hematoxilina e pela violeta de gentiana. Os esfregaços em carmin acético ouorceína acética deram sempre belas preparações.

Tityus bahiensis pode ser coligido para estudos em qualquer época, porém, os melhores resultados foram obtidos com os indivíduos capturados no período de Outubro a Fevereiro.

C — Agradecimentos — É um prazer deixar aqui consignados os nossos melhores agradecimentos ao Prof. Franz Schrader e à Dra. S. Hughes-Schrader, ambos da Universidade de Columbia, N. Y., pelas valiosas sugestões e pela gentileza em lerem o manuscrito. Não lhes cabe entretanto nenhuma responsabilidade nas opiniões e interpretações contidas neste trabalho.

D — Os órgãos reprodutores — Os órgãos reprodutores do macho do *Tityus bahiensis* foram descritos num trabalho anterior (PIZA 1939b). Mais tarde (PIZA 1939c), submetendo es-

corpões vivos a excitações mecânicas locais do orifício genital por meio de uma agulha de laboratório ou produzindo-lhes uma excitação generalizada por meio da corrente elétrica aplicada a diferentes partes do corpo, foi possível demonstrar experimentalmente que as duas peças quitinosas laterais e independentes descritas como órgãos copuladores distintos e consideradas por PAWLOWSKY (veja para referência WERNER 1935) como peças de suporte dos órgãos paraxiais, são realmente hemipenes — visto que essas peças, saindo de um único orifício, se unem lateralmente para formar um tubo cheio de líquido espermático, o penis.

O testículo é formado por um longo e delgado tubo em forma de U, cujos ramos, ligados por curtos segmentos transversais a um tubo longitudinal mediano, abrem-se separadamente nos órgãos laterais. Todas as partes do testículo, quer longitudinais ou transversais, têm função espermatogênica. Unicamente as porções terminais do tubo em U, quando repletas de espermatozoides, perdem quase completamente a sua atividade gametogênica, convertendo-se em vesículas seminais suplementares. Não obstante, uma ou outra fase da meiose pode ser observada nas paredes dessas partes.

O testículo é inteiramente dividido em cistos cujo tamanho varia com o número e o desenvolvimento das células que contêm. O estado de cada cisto independe da sua situação no testículo, todas as fases da meiose sendo encontradas indiferentemente nos periféricos bem como nos centrais. No princípio as paredes dos cistos se encontram no centro dos tubos testiculares, não deixando aí nenhum espaço livre. Porém mais tarde, quando os gâmetas estão sendo descarregados dos cistos, aparece na parte mais central do testículo uma cavidade na qual os espermatozoides se acumulam e através da qual eles vão ter ao exterior. Células germinais em diferentes fases de sua evolução, destacadas dos cistos que limitam a cavidade, podem ser encontradas isoladas ou em grupos no meio da massa formada pelos espermatozoides.

Cada cisto considerado individualmente apresenta em geral todas as suas células no mesmo estado de desenvolvimento.

Entretanto, no interior de um cisto, algumas células grandemente avançadas ou retardadas têm sido observadas.

E — Os espermatogônios — Os espermatogônios, quando jovens, são pequenos elementos arredondados, com pouco citoplasma e um núcleo esférico de estrutura reticular, provido de dois pequenos nucléolos e de alguns pequeninos grãos de cromatina. (Fig. 1) (*) Eles enchem inteiramente os cistos espermatogoniais de diferentes tamanhos. Antes de se dividirem os espermatogônios crescem, conservando, entretanto, mais ou menos, a mesma relação nucleoplásmica. (Fig. 2). Os nucléolos desaparecem um depois do outro e o primitivo retículo torna-se cada vez mais distinto.

A prófase espermatogonial nada apresenta de particular interesse. Como na mitose ordinária o filamento nuclear torna-se progressivamente mais curto e correspondentemente mais grosso. (Figs. 3, 4 e 5). Os cromossômios são em número de seis. Da prófase avançada até a metáfase a duplicidade dos filamentos individuais pode ser reconhecida cada vez mais facilmente. Os cromossômios metafásicos são claramente divididos por uma fenda longitudinal. (Fig. 7). Eles são grandes elementos pouco diferentes em tamanho, sempre dobrados ou sinuosos da maneira a mais variada. (Fig. 6). Em nenhuma fase da divisão espermatogonial podem os centrossômios ser observados com clareza. Entretanto, na metáfase e na anáfase, nas condições as mais favoráveis, pode-se descobrir nos polos um apagado corpúsculo justamente no limite da visibilidade. (Figs. 7 e 8).

Os cromossômios metafásicos são distribuídos no plano equatorial sem nenhuma ordem aparente. Ali eles estão orientados de tal maneira que o plano do equador passa através da fenda que os divide. O fuso é constituído por fibrilas extremamente finas distribuídas ao longo de toda a superfície dos cromossômios voltada para os polos.

Durante a anáfase os cromossômios formam dois lotes simétricos que se separam paralelamente. (Fig. 8). Os cromossômios filhos conservam a forma dos cromossômios de que provieram,

(*) As figuras se encontram no texto inglês.

contram no meio da célula de tal sorte, que o plano equatorial passa através do espaço que separa os seus componentes.

Acontece algumas vezes que os cromossômios não se orientam normalmente, dando origem a figuras metafásicas nas quais um ou mais bivalentes se encontram distendidos de um polo a outro.

As vistas polares mostram que a posição relativa dos bivalentes, direitos ou curvos, pode ser vária. Eles se podem dispor paralelamente ou não, e bem assim em triângulo. (Fig. 12). Dois dos bivalentes são aproximadamente do mesmo comprimento, sendo o terceiro um pouco mais longo. Vistos dos polos os componentes de cada par apresentam uma linha mediana clara e muito fina, dificilmente visível, revelando desse modo já se encontrarem fendidos. (Fig. 12, célula da esquerda). Vistos pelas extremidades, o aspecto dos bivalentes confirma serem eles realmente quadripartidos. (Fig. 12, célula inferior direita).

Cromossômios metafásicos providos de uma constrição muito acentuada, bem como cromossômios fragmentados em dois pedaços, têm sido ocasionalmente encontrados. (Figs. 14 e 15). Diferentes sortes de pontes têm também sido observadas, se bem que raramente. (Figs. 18, 19 e 20).

d) *Anomalias no pareamento* — Diversas sortes de anomalias no pareamento foram observadas em espermátocitos isolados, bem como em vários ou em todos os espermátocitos pertencentes ao mesmo cisto. Quando a anomalia é observada num único espermátocito, ela é provavelmente devida a qualquer coisa que se passou na última divisão do espermatogônio que precedeu à meiose. Quando, pelo contrário, diversas células de um cisto apresentam a mesma anomalia, o fenômeno que a determinou deve ter ocorrido numa das primeiras divisões dos espermatogônios que deram origem ao cisto. Anomalias de diferentes sortes têm sido observadas no mesmo cisto, afetando um, dois ou os três pares de cromossômios. Todas essas irregularidades são interpretadas (PIZA 1942a) como sendo devidas à fragmentação dos cromossômios, acompanhada ou não de reajustamento dos fragmentos. Dentre estas, as seguin-

tes são as mais frequentes: a) cromossômios pareados nas extremidades e largamente separados no meio; b) cromossômios pareados no meio do corpo e mais ou menos separados em ambas as extremidades; c) cromossômios pareados numa das metades do corpo e não pareados na outra; d) cromossômios inteiramente destituídos da habilidade de se parearem, dispostos separadaente na célula.

Deve-se salientar aqui, que os segmentos pareados, qualquer que seja a sua extensão, orientam-se normalmente com relação aos polos, enquanto que as partes não pareadas dos cromossômios parecem indiferentes a qualquer influência orientadora, assumindo livremente qualquer posição na célula.

DR^a. S. HUGHES-SCHRADER escreveu-nos ter observado idêntico comportamento anormal dos cromossômios em material que lhe levámos e gentilmente se ofereceu para pôr as suas lâminas à nossa disposição. Os esquemas em câmara clara que ela nos enviou mostraram entretanto que os seus achados são fundamentalmente da mesma natureza daqueles justamente referidos, de sorte que o exame das suas preparações tornou-se desnecessário.

e) O fuso — As vistas laterais dos bivalentes permite a análise das relações dos semifusos com os cromossômios. O semifuso em vista lateral tem a forma de um filme triangular de fina estrutura fibrilar, com a base ao longo de toda a superfície dos cromossômios voltada para o polo. Esse filme é limitado por duas fibrilas terminais distendidas entre o polo e as extremidades dos cromossômios. Devido à condição quadripartida dos cromossômios, as fibrilas terminais mostram uma notável espessura quando os cromossômios são olhados pelas extremidades. (Fig. 12, célula inferior direita). Um tal aspecto revela que os semifusos são inteiramente independentes entre si e que nenhuma fibrila continua pode ser descoberta no espaço que separa os bivalentes. (Fig. 12).

f) Anáfase — Sempre com as suas extremidades voltadas para os polos, os cromossômios separam-se, conservando-se em perfeito paralelismo. (Fig. 13). Em anáfase avançada,

provavelmente em consequência de uma diminuição de viscosidade, os cromossômios assumem uma forma curva muito característica. (Fig. 16). Algumas vezes acontece que essa transformação dos cromossômios inicia-se muito prematuramente, de sorte que, numa anáfase incipiente, quando os cromossômios se encontram ainda nas proximidades do plano equatorial, já mostram êles uma superfície mais ou menos irregular e uma forma curva muito pronunciada. Os movimentos assíncronicos dos cromossômios, observados repetidas vezes, vêm em apóio da completa independência dos semifusos. (Fig. 17).

No final da anáfase os cromossômios parecem estar claramente divididos em seus dois cromatídios. Em vista lateral, os cromossômios, já muito avançados em sua transformação, apresentam-se frequentemente como massas cromáticas irregulares, mais ou menos alongadas e caracteristicamente recurvadas para os polos.

g) *Telófase* — As três massas de cromatina correspondentes aos cromossômios tornam-se cada vez mais irregulares e finalmente formam uma massa única, a princípio densa e depois frouxa, sem qualquer limite individual distinto. As fibras interzonais que se desenvolvem durante a anáfase dão origem a um estreito corpo intercalar.

h) *Intérfase* — Durante a curta intérfase os cromossômios formam filamentos.

F — Segunda divisão meiótica — A prometáfase da segunda divisão dos espermatócitos é uma fase de grande interesse teórico. Os cromossômios são formados por dois cromatídios perfeitamente separados ao longo de todo o seu comprimento e mais ou menos frouxamente entrelaçados um no outro. As vezes êles se apresentam como dois filamentos independentes, dispostos lado a lado, porém bem separados. (Fig. 22). Por conseguinte, o que os mantém associados não pode ser aqui os cinetocores não divididos e sim uma força atrativa generalizada que se torna cada vez mais uniforme à medida que os cromatídios se contraem. Inserção no fuso, orientação e separação dos

cromatídios podem ocorrer mais ou menos prematuramente como na primeira divisão. Na metáfase os cromatídios são paralelos, bem separados e apresentam ambas as extremidades voltadas para o polo correspondente. (Fig. 23). O seu grau de condensação pode variar dentro de largos limites, como mostra a Fig. 23. Um diminuto centrossômio pode ser com dificuldade descoberto nos polos. Durante a separação na anáfase os cromatídios assumem uma forma arqueada muito pronunciada.

II — ALGUNS CASOS ESPECIAIS

Num animal como o *Tityus*, com cromossômios providos de um cinetocore em cada extremidade, aberrações espontâneas devidas principalmente à formação de pontes seguidas de fragmentação dos cromossômios, seriam bem de se esperar. Felizmente, uma tão singular peculiaridade morfológica na estrutura cromossômica, é amplamente compensada por um acurado mecanismo de orientação que previne quase completamente a formação de pontes. Estas, entretanto, têm sido observadas numa porcentagem relativamente baixa dos casos examinados.

Além de algumas pontes típicas formadas durante a anáfase dos espermatogônios e dos espermatócitos primários, foi uma vez observado um caso bastante singular de conexão cromossômica entre duas células vizinhas que se encontravam justamente em metáfase. Cada célula possuía um fragmento pareado com a extremidade de um elemento monovalente que passava de uma célula à outra. Essa extraordinária ocorrência pode ser interpretada, pelo menos parcialmente, como sendo devida à fragmentação de apenas uma das metades de um cromossômio espermatogonial, o qual, ao envés de orientar-se normalmente na metáfase da divisão que precedeu à meiose, tivesse se distendido perpendicularmente ao plano do equador. Como o cromossômio não fragmentado conservou a sua integridade durante o repouso do núcleo, passando através do citoplasma, de uma célula a outra, não pode ser explicado. Pode-se pelo menos assumir que a membrana nuclear formada durante a telófase e bem assim a membrana que separava as duas

células eram incompletas no ponto em que se encontrava o filamento cromossômico. Essa observação foi feita em um esfregaço em aceto-carmim.

Em um trabalho anterior (PIZA 1940) foram descritos casos muito interessantes de fragmentações espontâneas de cromossômios, algumas seguidas e outras não, de permuta de partes. Em outro trabalho (PIZA 1942) êsses casos foram citados em apóio da opinião segundo a qual os cromossômios se atraem como um todo e não ponto por ponto como é postulado pela teoria do gen. No presente artigo serão tratados dois novos casos, altamente significativos, nos quais se descobriu um modo completamente diferente de associação em cruz de cromossômios que permutaram partes. Êsses casos foram já apresentados como prova da dorso-ventralidade dos cromossômios, mas não foram ainda detalhadamente descritos.

A — PRIMEIRO CASO: UMA CRUZ E UM BASTONETE, RESUMIDAMENTE O CASO XI

Visto que no *Tityus* a anáfase pode começar antes que os cromossômios tenham atingido a sua condensação final, torna-se difícil determinar as dimensões definitivas dos cromossômios. Entretanto, no caso XI, em situações consideradas como as mais favoráveis para a estimação das dimensões, dois cromossômios espermatogoniais mostraram ser menores que os demais. Quanto à forma e ao comportamento, êsses cromossômios são inteiramente comparáveis aos dos indivíduos normais. Na prófase da primeira divisão do espermatócito também não se pode apontar diferença alguma para com o normal. Na prometáfase, entretanto, aparece um longo bivalente semelhante àqueles da fase normal correspondente, ao lado de uma associação em cruz igualmente longa dos dois outros bivalentes. (Figs. 24 e 25). A êste tempo, como nos casos normais, os cromossômios já se acham prêsos ao fuso. A orientação é também aqui um período de longa duração. Porém, quando êle se finda, no momento em que os cromossômios atingiram sua máxima condensação, os elementos da cruz — uma breve cruz com três

braços aproximadamente iguais e um quarto muito menor, mostram qualquer cousa de altamente interessante na relação mútua dos seus componentes. Os cromossômios associados, ao invés de conservarem o mesmo paralelismo nos diferentes braços da cruz, tal como foi claramente observado num outro caso (PIZA 1940), comportam-se no presente de uma maneira algo diferente, de sorte que a cruz, em vista polar, mostra dois braços com elementos paralelos e dois com elementos superpostos. (Fig. 36). Esse comportamento particular tem sido interpretado (PIZA 1942, 1943) como sendo devido a uma inversão da dorso-ventralidade em dois componentes da cruz. O pareamento resultante dessa inversão acha-se esquematizado na Fig. 26 A, na qual o cromossômio branco sobrepõe-se aos braços de dois outros elementos com o fim de juxtapôr a sua face ventral à face correspondente dos segmentos invertidos. O tipo de configuração mostrado na Fig. 26 B é o esperado quando não se verifique a inversão da dorso-ventralidade.

É evidente que a cruz, tal como a conhecemos na metáfase, representa o resultado final de um processo de pareamento iniciado muito antes na prófase. Temos a firme convicção de que o verdadeiro modo de pareamento dos cromossômios é aquele mostrado na Fig. 26 A. A sobreposição em dois braços da cruz é simplesmente a consequência da torsão determinada pela contração do elemento que cruza aqueles braços e ao qual eles se acham unidos. A prematura dissolução da união dos cromossômios no braço mais curto da cruz, observada inúmeras vezes, parece dever-se ao efeito da torsão a que acabamos de nos referir.

Algumas vezes três, ou mesmo os quatro braços da cruz, em vista polar, parecem formados por elementos mais ou menos perfeitamente sobrepostos, o que pode ser atribuído à transmissão do efeito de torsão a todo o bloco de cromossômios. Entretanto, geralmente, dois ramos da cruz orientam-se corretamente na metáfase. Não obstante isso, a separação dos elementos pareados procede-se normalmente, dando origem a espermátócitos secundários providos de três cromossômios. Pontes, porém, têm sido observadas com pouca frequência, mostrando que

apenas raramente alguns componentes da cruz não podem separar-se com regularidade.

Quais os ramos da cruz que mostram associação paralela ou associação cruzada, depende do acaso. Assim, o braço mais curto da cruz, que pode ser distinguido muito mais facilmente que os outros, aparece muito frequentemente tanto em associação paralela como em associação cruzada.

B — SEGUNDO CASO: UMA CRUZ E TRÊS BASTONETES,

RESUMIDAMENTE O CASO XIII

O presente caso é incontestavelmente muito mais interessante do que o precedente, em consequência do maior número de cromossômios que entram em jôgo. Referência a êste caso, que só agora será descrito, foram já feitas. (PIZA, 1942, 1943).

Os espermátogônios antes da metáfase não se podem distinguir por nenhuma característica particular dos daqueles indivíduos normais. Na metáfase, entretanto, ao envés dos seis longos, curvos ou sinuosos cromossômios da guarnição normal, há dez cromossômios mais curtos, que em vista lateral mostram-se fendidos como os normais. Um pouco antes dos cromossômios assumirem a sua forma final, é mais fácil de se reconhecer que êles são de tamanhos diferentes. (Fig. 27).

A prófase da primeira divisão do espermátócito compara-se exatamente à normal. Na prometáfase, entretanto, podem-se distinguir nos espermátócitos primários três longos filamentos bivalentes e uma associação em cruz igualmente longa e muito semelhante à do primeiro caso. (Fig. 28). Como no caso precedente ou nos casos normais todos os cromossômios nessa ocasião já se acham prêsos ao fuso. Na metáfase êsses cromossômios aparecem formando uma cruz exatamente da mesma natureza daquela do caso precedente, bem como três bastonetes (dois do mesmo tamanho e um terceiro muito menor), que se dispõem ao acaso na célula. (Fig. 29). A cruz bem como os cromossômios em forma de bastonete usualmente se orientam como no caso precedente. Entretanto, orientação anormal tem

sido observada algumas vezes. Assim, cruces apresentando dois braços estendidos no plano equatorial e os outros dois dirigidos para polos opostos, e bem assim um, dois ou todos os três bastonetes dispostos paralelamente ao eixo do fuso, foram repetidamente encontrados.

Cromossômios providos de uma profunda constrição expondo-os a subsequente fragmentação, fragmentos com um único cinetocore retardados no fuso ou inteiramente destituídos de cinetocore e em consequência disso vesiculados (Fig. 21), diferentes sortes de pareamento anormal e de comportamento aberrante dos cromossômios, têm sido também encontrados.

Usualmente os cromossômios se separam sem qualquer embaraço, dando origem a espermátocitos secundários com cinco pequenos cromossômios de diferentes tamanhos. (Fig. 32).

Cistos de espermátocitos primários tetraplóides foram observados. Os cromossômios dessas células comportam-se da maneira esperada, entrando em associações bivalentes ou polivalentes. A formação de uma cruz, de duas cruces independentes ou de uma associação muito confusa dos oito elementos pertencentes a ambas as cruces, conjuntamente com grupos bivalentes, trivalentes ou tetravalentes de cromossômios, são de comum ocorrência. Uma das placas metafásicas menos complicadas é a representada na figura 31. Esses espermátocitos tetraplóides originaram-se provavelmente de espermatogônios cuja divisão cromossômica não foi acompanhada de divisão celular. De fato, espermatogônios com número duplo de cromossômios têm sido encontrados, não somente nesse indivíduo, como também nos indivíduos normais. Ocasionalmente foram encontrados, não apenas no presente caso, espermátocitos primários cujos cromossômios, depois de separados no início da anáfase, entravam em transformações telofásicas sem deixarem a região equatorial da célula, dando desse modo origem a células interfásicas tetraplóides. Essas células, quando entram novamente em atividade cinética dão origem a espermátocitos secundários diplóides.

Os espermátocitos secundários dividem-se normalmente.

Algumas células providas de dez cromossômios menores foram encontradas, se bem que raramente. (Fig. 35). Essas células parecem originar-se de um prematuro relaxamento da força atrativa que mantém juntos os cromatídios, de modo que cada um dêles aparece na metáfase como se fôsse um cromossômio independente. Nessa circunstância parece muito provável que ocorra na anáfase uma distribuição irregular dos cromatídios. Orientação anormal dos cromossômios foi vista frequentemente. (Figs. 33 e 34).

Um cisto foi encontrado no presente caso, cujos espermátocitos primários apresentavam na metáfase duas cruzes e um único bastonete, o que significa que, como no caso da primeira cruz, uma nova permuta de partes entre cromossômios pertencentes a dois dos três pares independentes dêste indivíduo deu origem a uma outra cruz. (Fig. 30). Esta, entretanto, mostra-se um pouco diferente da primeira por possuir um dos seus ramos não muito menor do que os outros três.

III — DISCUSSÃO

O modo de origem dos corpos tetradiformes que dão os cromossômios espermatogoniais; a prófase da primeira divisão meiósica durante a qual deixa de verificar-se a fase universal da zigotene, sendo o estado paquitene considerado como o resultado da contração progressiva de um simples filamento não pareado; a divisão transversal dos cromossômios dos espermátocitos secundários e muitas outras peculiaridades da meiose de *Euscorpius* e *Buthus* tais como foram constatadas por SOKOLOV (1913) e CARNOY (1885) requerem novas investigações, visto parecer que diversos fatos fundamentais foram incorretamente interpretados por aqueles autores.

Nos parágrafos seguintes será discutido o comportamento dos cromossômios do *Tityus* durante a meiose.

a) Os Cinetocores — Embora o método de Benda para o cinetocore não tenha ainda sido tentado, parece fora de dúvida que os cromossômios do *Tityus* sejam providos de um cinetocore em cada extremidade. Um dos melhores argu-

mentos em favor de uma tal afirmativa é a acentuada repulsão em ambas as extremidades dos bivalentes nos espermátocitos primários, bem como dos cromatídios na metáfase e no começo da anáfase nos espermátocitos secundários. Como uma prova adicional às já apresentadas em trabalhos anteriores, pode-se citar aqui a existência nalgumas células de fragmentos vesiculados fora da área do fuso, e bem assim de fragmentos retardados movendo-se perpendicularmente ao plano equatorial. Estes últimos são considerados como possuindo um único cinetocore localizado na extremidade voltada para o polo, ao passo que os primeiros devem ser inteiramente desprovidos de cinetocores.

A sugestão feita por HUGHES-SCHRADER e RIS (1941), de que os cromossômios do *Tityus* podem possuir um cinetocore difuso ou pelo menos uma série de cinetocores individualizados distribuídos ao longo de todo o seu comprimento, é contrariada não somente pelo comportamento dos fragmentos acima referidos, como também por toda a história dos cromossômios normais. Se assumirmos que cada fibra do fuso observada na face polar dos cromossômios seja a expressão material da atividade de um cinetocore localizado, então os cinetocores devem ser extremamente numerosos e os cromossômios deveriam comportar-se como se fôsem providos de um cinetocore difuso. Mas, se uma ou outra dessas alternativas fôsse verdadeira, os cromossômios jamais deixariam de se orientar normalmente ou orientariam apenas uma parte do seu corpo ficando o resto pendente fora do fuso, e nem os fragmentos vesicular-se-iam ou mover-se-iam paralelamente ao eixo do fuso. Se os cromossômios fôsem providos de um cinetocore difuso ou de uma série de cinetocores localizados, os cromossômios inteiramente destituídos da propriedade de se orientarem não deveriam existir. Longos cromossômios com uma série tão numerosa de cinetocores ou com um cinetocore difuso, ao moverem-se, exatamente se eles se encontrarem distendidos na parte mais central do plano equatorial, devem levar a região mediana do corpo para a frente e não para trás, visto como a influência que os polos exercem sobre eles deve ser mais forte na região me-

diana do que nas extremidades. Além disso, o movimento de um corpo linear delicado como um cromossômio, no interior de um cone flúido, indo da base em que se acha distendido para o ápice, sendo mais fácil na linha que liga o ápice ao centro da base do que em qualquer outra linha, haveria de fazer com que o corpo se dobrasse no ponto correspondente àquela linha. Enretanto, isso nunca foi observado com os cromossômios do *Tityus*. A despeito da provável existência de uma corrente periférica dos polos para o equador das células, como foi observado há muito tempo por ZIMMERMANN (1890) na pele da rã, por NUSBAUM (1893) na endoderme do embrião da rã e por muitos outros investigadores durante a clivagem do ovo de diversos animais (veja para referências CHAMBERS 1924) — uma corrente cuja influência opor-se-ia ao movimento das extremidades dos cromossômios na direção oposta — os cromossômios do *Tityus* sempre se movem com ambas as pontas voltadas para os polos. Torna-se dêsse modo evidente, que se os cromossômios possuissem uma série de cinetocores, aqueles localizados nas extremidades deveriam ser mais poderosos que os outros, ou, se o cinetocore fôsse do tipo difuso seria necessário assumir que a sua atividade cinética é maior nas extremidades. Tanto num caso como no outro os cromossômios comportar-se-iam como se fôsem providos de um único cinetocore em cada extremidade.

b) O fuso — As evidências em mão falando conclusivamente contra a existência de mais de dois cinetocores terminais, fez-se, com o intuito de explicar a presença de um componente do semifuso ao longo de todo o corpo dos cromossômios, a assunção de que os cinetocores, não obstante localizados, podem ter uma atividade difusa. (PIZA 1942, 1943). Com uma tal assunção e admitindo-se que um cromossômio possa perder a extremidade que às vezes êle carrega prês a ao seu corpo como um satélite, fica-se preparado para compreender, de um lado, como um diminuto fragmento possa produzir fibras fusoriais e mover-se como os cromossômios não fragmentados, e de outro, como possam existir cromossômios que somente em

uma das extremidades produzem fibras e se orientam normalmente.

Fragmentos vesiculados foram considerados como tendo-se originado da região mediana dos cromossômios e por conseguinte desprovidos de cinetocores, ao passo que fragmentos que se movem paralelamente ao eixo do fuso foram considerados como peças terminais providas de um único cinetocore.

A inserção muito prematura dos cromossômios no fuso, referida pela primeira vez em um breve trabalho sobre a meiose do *Tityus* (PIZA 1939) e recentemente observada por HUGHES-SCHRADER (1942) no *Nautococcus*, oferece um forte argumento em favor da idéia amplamente discutida em um outro trabalho (PIZA 1943), da completa inutilidade das fibras do fuso para mover e orientar os cromossômios.

c) Dorso-ventralidade dos cromossômios — Se os cromossômios são realmente diferenciados em um lado ventral (lado do cinetocore) e em um lado dorsal como afirmou PIZA (1940), e se eles se paream apenas pelo lado ventral, os cromossômios fragmentados que permutaram partes devem reunir-se de duas maneiras diferentes para formar associações em cruz. Visto que os fragmentos se podem unir com ou sem uma prévia rotação de sorte que a parte ventral de um pode alternar-se com a parte ventral do outro ou continuar-se com ela, deve-se esperar a formação de cruces de braços sobre-cruzados, bem como cruces com os componentes dos quatro braços perfeitamente paralelos. (Fig. 26).

Cruces paralelas, demonstrando que as partes ventrais dos fragmentos reunidos se acham voltadas para o mesmo lado, foram encontradas em um testículo previamente descrito (PIZA 1940). Cruces com ramos cruzados como se encontram representadas na Fig. 26 A, mostrando, pelo contrário, que os fragmentos se reuniram com as partes ventrais voltadas para lados opostos, são típicas dos dois casos tratados no presente trabalho.

Com a ajuda do conceito da dorso-ventralidade poderemos compreender por que motivo os cromossômios algumas vezes

paream-se apenas numa ou nas duas extremidades ou num segmento intercalar, simplesmente assumindo que após a segmentação em um ou dois pontos, seguida de reajustamento de partes, resultaram cromossômios com descontinuidade do lado ventral.

Cromossômios assim constituídos podem orientar-se e mover-se de modo anormal, porém, não obstante isso, separam-se regularmente. Geralmente, nos bivalentes modificados pela rotação de segmentos, apenas as partes pareadas apresentam orientação normal.

d) Os Cromossômios se atraem como um todo e não ponto por ponto — O segundo caso particular tratado neste artigo, isto é, o caso de uma cruz e três bastonetes (XIII), oferece boa evidência adicional em suporte à opinião segundo a qual os cromossômios se atraem como um todo e de modo nenhum ponto por ponto como geralmente se afirma. Nesse caso, ao invés dos 6 cromossômios do testículo normal, temos 10 cromossômios, dois dos quais, pertencentes a pares diferentes, trocaram partes, dando origem a uma cruz de quatro elementos, enquanto os seis restantes formaram os três bastonetes dos espermatócitos primários. A julgar pelo comportamento dos cromossômios na metáfase e no início da anáfase, os componentes da cruz bem como os bivalentes em forma de bastonete, são providos de um cinetocore em cada extremidade. É difícil decidir-se se alguns pelo menos dos cromossômios presentes são exatamente os mesmos do testículo normal. Para fim de discussão podemos considerar que os elementos associados na cruz e num dos bastonetes sejam os seis cromossômios normais do *Tityus*. Nessas condições, os outros quatro elementos que formam os dois pares restantes outra coisa não podem ser senão repetições totais ou parciais dos cromossômios normais. Por conseguinte, se a atração ponto por ponto prevalece, por que motivo os pontos repetidos jamais entram em associação com os pontos correspondentes dos cromossômios normais? Para responder a essa questão seja-nos permitido referir ao caso de um testículo já discutido (PIZA 1942), que exibia espermatogônios de 18 cromossômios e espermatócitos primá-

rios com 9 pares regulares. A despeito da indubitável presença de muitos pontos repetidos, uma associação superior à bivalente jamais foi encontrada nesse testículo. Para explicar êsse facto temos que considerar que os 18 cromossômios em questão, quer normais ou modificados por fragmentações, seguidas ou não de reajustamento ou perda de partes, consituíram, apesar-da presença dos mesmos pontos em vários dêles, 9 diferentes pares. Portanto, quando dois cromossômios inteiramente homólogos se encontram em presença um do outro, êles se atraem como dois todos, não se deixando influenciar pela existência de partes homólogas em outros cromossômios. Assim sendo, qualquer modificação que afete do mesmo modo dois cromossômios homólogos de um lote, origina um novo par de elementos que deixam de mostrar afinidades para com os cromossômios de que eram homólogos antes da modificação. Devido a isso, dois pequeninos fragmentos podem comportar-se como um par distinto, jamais se unindo com as partes correspondentes de outros cromossômios, contanto que êles sejam inteiramente homólogos e possuam um cinetocore. Entretanto, fragmentos providos de cinetocore podem parear-se com as partes correspondentes de um cromossômio inteiro das quais êles são homólogos, contanto que êsses fragmentos não encontrem homólogos independentes. Quando mais de dois cromossômios inteiramente homólogos acham-se presentes na mesma célula, tai como foi observado no cisto tetraplóide do caso XIII, êles se comportam como nos casos conhecidos de polissomia ou poliploidia.

RESUMO

A meiose normal no macho do *Tityus bahiensis* e bem assim alguns casos especiais de grande interêsse foram descritos e amplamente discutidos no presente trabalho. Os principais resultados alcançados podem ser resumidos como segue:

1) Os cromossômios do *Tityus* são providos de um ponto de inserção em cada extremidade. Devido à atividade dêsses pontos de inserção desenvolve-se um componente dos semi-fusos ao longo do corpo de cada cromossômio. A-pesar-disso, a atividade cinética permanece maior nas extremidades, determinan-

do aí forte repulsão que se observa na metáfase dos espermátocitos.

2) Os cromossômios separam-se paralelamente, tendo ambas as extremidades voltadas para o polo correspondente. Nas anáfases avançadas êles encurvam-se para os polos.

3 — Na metáfase os cromossômios pareados mostram-se bem separados, senão cada qual constituído por dois cromatídios. Uma delicadíssima linha clara ao longo do seu comprimento é a única indicação da duplicidade de cada componente dos pares.

4) Na prófase da primeira divisão do espermátócito não se pode reconhecer quer um estado diplotene típico, quer uma diacinese.

5) Os cromossômios nunca se apresentam reunidos por quiasmas.

6) Na segunda divisão do espermátócito os cromatídios mostram-se perfeitamente separados ao longo de todo o seu comprimento, de sorte que o que os matém lado a lado outra cousa não é senão uma atração mútua generalizada.

7) As fibras do fuso constituem-se muito prematuramente e não desempenham papel algum quer na orientação dos cromossômios, quer na sua movimentação.

8) Os cromossômios são dorso-ventralmente diferenciados e só se paream pela face ventral (a face dos pontos de inserção).

9) Os cromossômios homólogos se atraem como dois todos e não ponto por ponto como geralmente se admite.

Observação:

O meu primeiro artigo sôbre a meiose do *Tityus* (PIZA 1939) saiu com uma quantidade tão grande de faltas, que a sua re-impressão foi considerada necessária. Entretanto, a Revista que o publicou foi interrompida em consequência da guerra, de maneira que se tornou impossível a publicação do texto corrigidos. O emprêgo de "cromatídio" em lugar de "cromossômio" e de "quiasma" para designar também as configurações em cruz resultantes de translocações recíprocas, foram os principais enganos.