

# **DISSECANDO O GEN**

**S. de Toledo Piza Jor.**

*Professor de Zoologia, Anatomia e Fisiologia da  
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"  
da Universidade de São Paulo*

Conhecem-se da literatura alguns casos bem interessantes de fatores genéticos, que sendo simples, isto é, comportando-se na segregação como uma unidade mendeliana simples, produzem, no entanto, efeitos múltiplos. Seria, por exemplo, o caso do gen W da *Drosophila*, que modifica a cor dos olhos e da membrana envolvente dos testículos e bem assim altera a forma da espermateca, a duração da vida, etc. Este e outros gens que agem da mesma maneira são designados por gens pleiotrópicos.

Como poderíamos interpretar a ação desses gens? Digamos inicialmente que ninguém jamais conseguiu explicar o mecanismo íntimo segundo o qual os gens desempenham no organismo o papel que lhes é atribuído. Os genetistas se limitam a afirmar que tais ou tais efeitos se devem à atividade específica de tais ou tais gens. Mas se lhes perguntarmos de que maneira trabalha o gen no desempenho da sua função, não saberão responder ou darão respostas somente aceitáveis por aqueles que não queiram se dar ao trabalho de submetê-las a um exame crítico. Dizer-se, por exemplo, que dada coloração das pétalas de uma flor se deve a um gen que altera a reação do meio é tão certo como dizer-se que a asa vestigial de um Díptero se prende à atividade de um gen que inibe o desenvolvimento normal do disco imaginal correspondente. Porém, modificar a reação do meio ou opor-se ao desenvolvimento de discos imaginiais são os fatos e não as explicações. O que queremos saber é justamente como trabalham os gens responsáveis, para modificar o pH do meio ou para obstar ao desenvolvimento da asa. Ninguém até hoje foi capaz de responder a essas questões fundamentais de modo satisfatório. É verdade que explicações têm sido tentadas. Porém, enquanto umas caem logo ao primeiro esbarro da crítica, outras subsistem como meras hipóteses à espera de uma demonstração que ainda estamos longe de poder encontrar. Vejamos um exemplo. A coloração de certas flores se deve à presença no citoplasma das células epidermais de um complexo orgânico do grupo das antocianinas. Eis o fato. De conformidade com os resultados das experiências de cruzamentos concluiu-se que as antocianinas são elaboradas por gens. Dando isso por demonstrado, temos aí outro fato. Como poderá um gen elaborar uma antocianina? Aqui temos o problema. Simplesmente se desdobrando e abandonando para o núcleo e depois para o citoplasma o produto desse desdobramento. E aqui, a explicação.

Analisemos essa explicação. Que um gen, pela faculdade de auto-síntese de que goza e que é a sua principal característica (DOBZHANSKY 1943) possa fabricar uma certa quantidade da

sua própria substância e abandoná-la para o meio em que se encontra, não passa de uma especulação como tantas outras que são tomadas muito a sério pelos divulgadores de matéria científica e apresentadas ao público como se constituíssem explicações para os fenômenos biológicos. O primeiro produto do gen seria então uma cópia livre do próprio gen (HALDANE 1941), que assim poderia entrar em reações com outros gens igualmente livres ou com produtos diversos do núcleo ou do citoplasma, para determinar no organismo o caráter que lhe é atribuído.

Acho muito pouco provável que essa possa ser a origem dos produtos gênicos. Primeiro, porque isso nos leva a uma concepção bem extravagante acerca da constituição química dos cromossômios, que se nos apresentariam como rosários das mais diversas e heterogêneas substâncias. Um cromossômio com cem gens seria uma cadeia química formada por cem substâncias diversas, algumas das quais extremamente complexas. Haveria gens aglutininas, gens precipitinas, gens antígenos, gens hormônios, gens enzimas, gens co-enzimas, gens proteínas, gens hidrocarbonados, gens ácidos, gens bases, gens minerais, gens orgânicos, gens solúveis e gens insolúveis na água. E seria muito de se extranhar o fato desses gens enquanto nos cromossômios não reagirem uns com outros, conservando, pelo contrário, indefinidamente, a mesma constituição, a despeito de poderem se aproximar e mesmo se tocar, dada a condição de extrema distensão e de enovelamento em que se encontram os cromossômios no estado metabólico (repouso) da célula. Aliás, essa é que deve ser a verdadeira conduta dos gens e o que se torna então extranhável é o fato dos gens libertos perderem as suas propriedades fundamentais: multiplicação por auto-síntese e preservação da sua constituição. Fica muito difícil de compreender como possam os gens antocianidinas (cianidinas, pelargonidinas, delphinidinas) se opor, quando concatenados no corpo dos cromossômios, à metilização que os transforma, quando livres, nas antocianinas (peonidina, petunidina, malvidina, etc.) responsáveis pela coloração das plantas! Parece mais razoável de conformidade com os conceitos teóricos que dominam a moderna genética, que o citoplasma das células entrasse com a matéria prima cujas reações os gens apenas controlassem. Entretanto, se se vier um dia a confirmar a especulação de HALDANE, segundo a qual os produtos gênicos seriam cópias livres dos respectivos gens, então teríamos os gens reagindo quimicamente uns com ou outros e se transformando, eles, os gens, objetiva, material, substancial e corpuscularmente nos caracteres a eles devidos. Se uma flor é vermelha por conter uma an-

tocianina que em determinado meio se apresenta com essa cor, se a antocianina é uma antocianidina metilizada e se a antocianidina é a cópia livre do gen, segue-se que gen e caráter, em essência, são uma e a mesma coisa. Dêsse modo desaparecerá a diferença entre genótipo e fenótipo e bem assim a epigênese cederá o seu lugar à preformação e a Genética caminhará para trás e pouco a pouco atingirá o seu ponto de partida. Ressalta daí a inconsistência de certas explicações.

Uma das hipóteses mais importantes da genética e que constitui a base sobre a qual se assentam as pedras fundamentais dêsse ramo monumental da Biologia é aquela que considera os gens como sendo partículas materiais alinhadas nos cromossômios, diferindo entre si pela constituição e por propriedades específicas. Nêsse conceito hipotético, que resume a definição do gen, se encontram pelo menos duas outras hipóteses: que o gen seja constitucionalmente diverso dos outros e que, talvez por êsse motivo, tenha propriedades também diferentes. Infelizmente o abuso de linguagem ou a força de expressão tão comuns em aulas e conferências converteram asunções ainda não demonstradas em fatos consumados, transformando conceitos hipotéticos em realidades objetivas. (Cf. PIZA 1944). Entretanto, estudando os cromossômios pelos métodos mais modernos e perfeitos de que dispomos, nada encontramos nêles que corresponda a uma diferenciação estrutural de partes. Serão por ventura os cromomérios os representantes materiais dos gens? Já JOHANNSEN (1926) afirmara num livro que se tornou clássico, que

"Eine dem morphologischen Geiste naheliegende Gefahr ist die, das man chromomeren — diese organoiden Gebilde — mit genen identifizieren möchte". (Pag. 648).

Fazendo há alguns anos (PIZA 1930) comentários acêrca da impropriedade dos cromomérios para representarem os gens, cheguei à conclusão de que essas particularidades morfológicas provavelmente não constituem diferenciações regionais da estrutura cromossômica e sim meros acidentes de um substrato que bem poderia ser de constituição uniforme. Recentemente RIS (1945), tratando pelo Kcn os cromossômios de vários Ortópteros, conseguiu distender os cromomérios, que assim se revelaram constituídos por simples acumulações regionais das espiras de um cordão de aspecto regular. Também se poderia arguir se os discos assinalados com grande evidência nos cromossômios salivares da *Drosophila*, da *Sciara* e de outros Dípteros não seriam os gens de que a genética tanto necessita.



Quanto a esse particular poderíamos responder que a despeito dos inúmeros trabalhos já realizados quer no domínio da morfologia, quer no da química, nada se encontra na literatura capaz de demonstrar a mais leve diferença qualitativa entre os discos cromossômiais. Podemos mesmo afirmar que apesar de tantos estudos não se conseguiu sequer compreender a estrutura dos cromossômios salivares. Ainda se discute sobre o número de cromonemas nêles presentes e sobre as particularidades estruturais ou químicas que possam distinguir os discos, das zonas interdiscais. Até mesmo o conceito de discos tem mudado ultimamente. KODANI (1942) concluiu dos efeitos do tratamento das glândulas salivares da *Drosophila* por hidróxido de sódio e uréia, que os discos não passavam de alças opostas, formadas de cada lado, por dois dos quatro cromatídios presentes nos cromossômios. Por seu turno RIS & CROUSE (1945) acham que os cromossômios salivares da *Sciara* são formados por filamentos uniformes e que os discos nada mais são que errônea interpretação de aspectos devidos à complexa espiralização regional de um feixe de cromonemas. Há até quem pense (HINTON 1946) que os cromossômios salivares sejam constituídos por uma série descontínua de elementos gênicos (os discos) separados por espaços tomados por substâncias não gênicas vindas do exterior (nucleoplasma). É verdade que tanto a região das alças de KODANI como a das espirais complexas de RIS & CROUSE podem corresponder a uma diferenciação estrutural de um substrato aparentemente homogêneo. Porém, mesmo os segmentos em que essas particularidades (discos, alças, espirais) se fazem notar sejam estruturalmente diferentes dos que se lhes interpretam nada indica que eles divirjam qualitativamente entre si. Vê-se do que acabámos de expor, que objetivamente falando-se, nada de material existe, que possa ser tomado como suporte dos gens, considerando-se êsses elementos com a significação que a genética lhes dá.

Se, como vimos, não foi ainda possível decompor os cromossômios em tantos segmentos distintos quantos exige a teoria do gen corpuscular, difficilimo será por certo localizar nêles as chamadas funções gênicas. Mas o genetista poderá com razão argumentar que o fato de se não ter ainda podido reconhecer regiões distintas ao longo dos cromossômios, não prova que essas regiões não existam. Perfeitamente. Porém, se o genetista chegar ao ponto de afirmar que a falta de provas a favor não vale como prova em contrário, terá simplesmente demonstrado a carência completa de argumentos em apóio da tese que pretende defender. Pode-se, pois, concluir, que a teoria do gen-partícula baseia-se em hipóteses ainda por demonstrar e que por conseguinte, quem fala atualmente em gen, ape-

nas se refere a um símbolo que se encontra por enquanto muito longe da tão almejada realidade.

Para mostrar a situação embaraçosa do genetista que procura defender a idéia de um gen-partícula, basta transcrever aqui um pequeno trecho de DOBZHANSKY (1941) :

"According to Goldschmidt, genes must either be separate by impregnable walls, or else they do not exist at all. If this were the only choice, his conclusion would be justified. But surely many more than these two alternatives are to be considered. Discrete entities like genes may be integrated into systems, chromosomes, functioning as such. The existence of organs and tissues does not preclude their cellular organization. Moreover, the degree of independence of cells varies from tissue to tissue; leucocytes may behave like so many amoebae, meristematic cells are associated more intimately, and in muscle fibers the boundaries between cells seem to disappear entirely" (pag. 110).

Vê-se por aí que a argumentação de DOBZHANSKY é fraca e contraditória. Quando êle afirma que entidades discretas como os gens podem se achar integradas em sistemas funcionando como tais — os cromossômios, está, evidentemente sem o querer, suprimindo uma das mais importantes características do gen, isto é, a sua independência funcional. De fato, se os gens forem independentes, podendo cada qual sofrer alterações mutacionais ou se separar dos seus vizinhos sem que êstes se alterem conforme escreve DOBZHANSKY à página 106 do seu importante livro, então o cromossômio, do ponto de vista genético, não constituirá um sistema. Se, pelo contrário, o cromossômio for realmente um sistema, êle deverá, como tal, sentir a influência da alteração ou supressão dos elementos que o integram e nesse caso o gen deixará de ser independente. De outro lado o fato dos tecidos serem constituídos por células, nada de comum apresenta com o cromossômio considerado como um sistema de gens. Os tecidos não passam de um agregação de elementos idênticos, executando independentemente as mesmas atividades e por êsse motivo não constituem sistemas. Ao passo que o cromossômio, como sistema, é formado por um conjunto de órgãos diferentes (os gens), dependendo estreitamente uns dos outros para o desempenho da função atribuída ao todo.

Estamos, por conseguinte, diante de um dilema : ou o cromossômio é um sistema e o gen deixará de ser independente, ou o gen é independente e o cromossômio deixa de ser siste-

ma. O que não pode existir é um sistema (o cromossômio) de órgãos independentes (os gens) como pretende DOBZHANSKY. Argumentos citológicos, fisiológicos e genéticos apoiam a conclusão de que o cromossômio é de fato um sistema e assim sendo funciona à maneira de qualquer outro sistema, isto é, como um todo. (Cf. PIZA 1939, 1941 e GOLDSCHMIDT 1938, 1940). O gen deixando por isso de ser independente, perde a sua individualidade, a sua autonomia e desaparece como pretendem GOLDSCHMIDT e PIZA.

Enquanto a genética não abrir mão do conceito insustentável de gen-partícula ela terá a cada passo que apelar para hipóteses subsidiárias, algumas das quais verdadeiramente pueris, sem o que seu mecanismo emperra ou deixa de funcionar. Veja-se a título de exemplo a ingenuidade de uma das explicações mais generalizadas das que se tem proposto ao fenômeno conhecido por "efeitos de posição".

Como se sabe, por "efeito de posição" designa-se uma variação hereditária devida à mudança de lugar do gen responsável, o que tanto pode ocorrer em consequência de uma inversão de um segmento cromossomal, como de uma translocação para o cromossômio homólogo ou para outro qualquer.

Após o exame detalhado dos cromossômios salivares da *Drosophila* os autores que têm estudado o fenômeno chegaram à conclusão de que realmente, em todos esses casos, nada mais se pode constatar além de uma transposição do "locus" em que se encontra situado o gen responsável. Dêsse modo estabeleceram que os efeitos do gen não dependem somente da sua constituição, mas também da posição que ocupa na série formada pelos outros gens. Ou, em outras palavras, que o gen sofre a influência dos seus vizinhos, uma vez que mudando de vizinhança produz um efeito diferente do que produzia antes. Para explicar isso alguns autores elaboraram uma teoria que se encontra resumida em GOLDSCHMIDT (1938) DOBZHANSKY (1941), STURTEVANT & BEADLE (1940) e que consta mais ou menos do seguinte :

Os produtos elaborados pelos gens reagem uns com os outros ou então com substâncias formadas na célula pela ação daqueles produtos. Supondo que de dois gens vizinhos A e B o primeiro (A) reage com uma certa substância do meio celular (X) dando um produto (C) que deve sofrer a ação do outro gen (B), segue-se que se o gen B mudar para uma posição distante de A, o produto por ele elaborado levará mais tempo para entrar em contato com a substância C resultante da ação de A sobre X, cuja concentração é maior nas proximidades de A. Nessas condições um outro produto gênico poderá entrar em

relação com C antes que o produto de B, alterando-se daí por diante o curso normal das reações.

Vejamos quantas incongruências existem nessa explicação.

Em primeiro lugar ficou estabelecido que as reações devidas a atividades gênicas são específicas e se processam numa ordem definida, de sorte que cada reação prepara o meio para a reação seguinte. Portanto, se o meio C resultante da ação de A sobre X é o meio específico para a atividade de B, segue-se que nenhum outro gen, em consequência da sua especificidade, pode trabalhar nesse meio. É somente depois que B o transformar, que um novo gen poderá entrar em ação. Desde que o genótipo não sofreu alteração com a simples mudança de lugar do gen, é evidente que o único resultado que se poderia esperar era um pequeno atraso sem consequências no início da reação entre o produto de B e o seu substrato específico C. Esse pequeno atraso seria compensado pela maior quantidade de substância C que o produto de B iria encontrar já formada. De mais a mais a explicação esquece-se de que os gens trabalham no núcleo em repouso e que nesse estado os cromossômios se encontram enovelados e emaranhados, variando de célula em célula, bem como, no mesmo núcleo, de momento para momento, a distância que separa dois gens quaisquer do mesmo cromossômio ou de cromossômios diferentes. É fácil de compreender, que uma simples curvatura de um segmento cromossomal distendido pode aproximar dois gens que uma inversão separara por uma longa extensão. (\*)

A idéia de que os gens possam reagir diretamente uns com os outros e não por intermédio dos seus produtos para explicar os efeitos de posição levaria o genetista aos conceitos de PIZA e de GOLDSCHMIDT segundo os quais os cromossômios funcio-

---

(\*) Já estava escrito este artigo quando me chegou às mãos um trabalho de Goldschmidt (1946) do qual destaco o seguinte trecho, que encerra um conceito perfeitamente idêntico ao meu: "There are many serious objections to such a view, even assuming its possibility from a point of view of chemical kinetics see below). The chromosomes of the resting nucleus are probably in completely stretched condition and are floating in a liquid medium. It is hardly possible that in the case of a one — or two-band inversion the actual change in order of "genes" could influence primary reactions in their neighborhood, except by diffusion along the chromosomal surface. In such a set-up, further, any point of a chromosome has a chance of meeting any other point of the same or other chromosome, and this meeting should produce a position effect each time". (Pag. 18).

nam como um todo. Realmente, se um gen B, acostumado a trabalhar entre A e C (como por exemplo no cromossômio ABCDEF) passa a funcionar diferentemente só porque uma inversão o levou para as proximidades de F (AEDCBF) e como não se pode admitir que B, reagindo com F, se modifique sem modificar também o seu novo vizinho, segue-se que F igualmente se altera. Os gens E e A do mesmo modo se alteram pela mudança da posição do primeiro. Mas como qualquer modificação sofrida por um gen acarreta uma modificação compensadora do gen vizinho no sentido de restabelecer o equilíbrio das reações, conclui-se que todos os gens se modificam em consequência da inversão. O mesmo se daria com as mutações. A transformação de B em B' modificaria A e C, que passariam a A' e C'. Este último, reagindo com D, o transformaria em D' e dentro em pouco todo o cromossômio estaria transformado. Uma alteração localizada transformaria, por conseguinte, um todo primitivo T, num novo todo T', como pretende PIZA.

Efeitos de posição devidos a inversões de segmentos muito pequenos, que podem corresponder até a um único disco dos cromossômios salivares da *Drosophila* (GOLDSCHMIDT 1944) põem em séria dificuldade a teoria das distâncias dos produtos gênicos. (Cf. GOLDSCHMIDT 1946).

O fato das inversões dos cromossômios da *Sciara*, que podem ser analisadas nas glândulas salivares desse Díptero com o mesmo rigor com que o são na *Drosophila*, não produzirem efeitos de posição (CARSON 1944), a inexistência quase que absoluta desse fenômeno no milho, tão intensamente estudado do ponto de vista cito-genético e a ocorrência de inversões não acompanhadas de efeitos de posição na própria *Drosophila* levam-nos a pensar que ainda não se conseguiu entrar na pista que conduzirá à solução desse importante problema.

A idéia de gen copuscular levou a genética à necessidade de explicar o pareamento dos cromossômios homólogos na meiose como sendo devido a uma atração ponto por ponto. Conforme mostrei em outro trabalho (PIZA 1944), não se encontra em citologia nenhuma evidência de uma tal atração inter-gênica. Há, pelo contrario, bons argumentos de caráter objetivo que apoiam a idéia de que os cromossômios se atraem globalmente e que a coincidência dos pontos correspondentes nos dois elementos em conjugação é mera consequência da polaridade desses elementos e da justaposição dos cinetocores necessária a sua regular orientação e separação. Os estudos citológicos efetuados por MC CLINTOCK (1945) com *Neurospora crassa*, na qual os cromossômios primeiramente se contraem, para depois se parearem e em seguida distenderem-se, suportam o conceito de uma

atração g'obel. O melhor argumento citológico que se costuma invocar como suporte de uma atração ponto por ponto é o modo particular de pareamento dos cromossômios salivares dos Dípteros, nos casos em que um dos parceiros sofreu inversão de um segmento mais ou menos longo. Nessas condições, conforme se sabe, um dos cromossômios do par forma uma alça que o outro percorre em sentido contrário no segmento correspondente à inversão. Esse argumento, porém, perdeu muito do seu primitivo valor desde que foi mostrado (PIZA 1942), com base em observações realizadas com o *Tityus bahiensis*, que a existência de uma face de pareamento nos cromossômios (dorso-ventralidade) levaria aos mesmos resultados se o segmento invertido, ao se soldar aos outros dois segmentos, o fizesse de tal forma, que a sua face de pareamento ficasse em oposição à face de pareamento daqueles. Mesmo que se não recorresse à dorso-ventralidade, poderíamos interpretar as alças dos cromossômios nos casos de inversão, como sendo devidas à tendência natural que tem o segmento invertido de acompanhar a polaridade do segmento correspondente do outro cromossômio.

Se admitirmos a existência da polaridade segundo os dois eixos dos cromossômios e admitirmos a possibilidade de alteração da polaridade de um segmento invertido ou translocado, o que poderia depender das dimensões do segmento e da sua maior ou menor proximidade do cinetocore e se de outro lado reconhecermos que no pareamento a influência da polaridade longitudinal pode sobrepujar ou não a influência da dorso-ventralidade, estaríamos preparados para compreender as situações em que não há formação de alças na região da inversão e aqueles em que não há pareamento apesar de não ter havido inversão, tal como observou CAPSON (1944) na *Sciara*.

Um fato que a meu ver enfraquece grandemente a idéia clássica de uma atração gen-a-gen é tirado do comportamento dos cromossômios que sofreram mutações. Como sabemos, na homozigose, o mesmo gen se acha representado duas vezes, em posições correspondentes, no corpo dos cromossômios homólogos. Sofrendo um deles uma mutação, tão intensa que é capaz de transformar completamente o organismo, convertendo integralmente a fêmea em macho, como se dá, por exemplo, com o gen recessivo "transformer" (STURTEVANT 1945) e com tantos outros de efeitos tão drásticos que chegam a impedir o desenvolvimento (gens letais), nem por isso se assinala qualquer alteração da atração entre esse novo gen e o primitivo. Parece que se pode concluir, que, se os gens A e A se atraem especificamente, a atração deve desaparecer em virtude da mutação. Mas como em heterozigose os gens continuam a se atrair do

mesmo modo, segue-se que a atração não é específica e portanto não é um atributo gênico. Aliás, no conceito de homologia gênica não se leva em conta a constituição intrínseca dos gens, de sorte que dois gens homólogos podem diferir muito mais profundamente entre si, do que dois gens heterólogos quaisquer. E visto que os gens homólogos se atraem qualquer que seja a sua constituição, como compreender a não atração entre os gens heterólogos ou entre aqueles que se encontram no mesmo cromossômio?

A genética, sob diversos aspectos, muito se parece com certas religiões. Se os intérpretes da Bíblia se valessem dos ensinamentos da ciência, poderiam com facilidade oferecer versões aceitáveis de algumas passagens, que tomadas ao pé da letra, são verdadeiros absurdos. Mostrei recentemente, que se tomarmos a costela de Adão como significando um cromossômio, teremos uma explicação razoável do episódio da formação de Eva. (PIZA 1946). Estou, porém, seguro, de que o trecho bíblico continuará a ser tomado ao pé da letra continuando Eva a ser considerada como tendo sido feita de uma costela de Adão.

A questão do gen se parece com a da costela de Adão. Alguns intérpretes da genética (que no caso funciona como a Bíblia) firmaram a respeito do gen um conceito que em muitos particulares chega a ser absurdo... Mas preferem assim a vé-lo despido das faculdades verdadeiramente miraculosas que lhe conferiram.

Em outro trabalho afirmei que o pareamento dos cromossômios não passa de uma copulação, copulando os cromossômios assim como copulam os gâmetas e os núcleos gaméticos. (PIZA 1944). A copulação dos cromossômios homólogos, que é de fato específica, se poderá explicar à semelhança da copulação gamética ou da conjugação dos Ciliados, com base na produção de uma substância pelos membros de cada par, substância essa que agiria como uma sorte de fertilizina, determinando a união dos elementos homólogos. Entretanto, para manter a independência funcional dos gens, o genetista preferiria não tomar conhecimento de um mecanismo incomparavelmente mais simples e de acôrdo com fatos conhecidos da fisiologia da reprodução, para aceitar a situação complicadíssima de uma ação específica entre os gens, cada um dos quais elaboraria uma substância diferente da elaborada pelos demais e que iria atuar exclusivamente sobre o gen homólogo. Para o pareamento de um cromossômio provido de cem gens seriam necessárias cem substâncias ativas diferentes, agindo especificamente. Considerando-se, porém, o cromossômio, como uma unidade morfológica e funcional, que realmente é, uma única substância pro-

moveria o mesmo resultado. Essa extraordinária simplificação custaria, porém, o abandono da idéia de um gen corpuscular independente. Convenhamos que é extremamente penoso abandonar uma idéia firmada em convicções aparentemente inabaláveis. E quando sentimos estalarem os alicerces do monumento que ajudámos a construir, em vão buscamos mantê-lo em equilíbrio por meio de escoras e de amarras que apenas conseguem protelar o inevitável desfêcho. Só então compreendemos que a catástrofe poderia ser evitada se o nosso apêgo às idéias clássicas não nos tivesse impedido de aproveitar novos elementos oferecidos pela ciência para a consolidação do embasamento comprometido.

PIZA (1946) descreveu recentemente um caso de soldadura pelas extremidades não correspondentes de dois cromossômios homólogos do *Tityus bahiensis*, que serve muito bem para ilustrar a inoperância da atração ponto-por-ponto na melose. A soldadura referida resultou da perda de pequeninos fragmentos cêntricos de extremidades opostas dos cromossômios, os quais foram encontrados não pareados na metáfase de um dos espermatócitos primários do cisto em que o fenômeno foi observado. Da fusão dos dois membros do par resultou um cromossômio complexo de tamanho duplo, provido de um cinetocore em cada extremidade, que se comportava como um monovalente, não se orientando e, a avaliar pela sua posição nas células em comêço de anáfase, passando sem se dividir para um dos espermatócitos secundários. Se a atração ponto-por-ponto operasse, os dois cromossômios homólogos nêle incluídos deviam parear-se tal como acontece nas glândulas salivares dos Dipteros dando origem a uma configuração semelhante à que foi observada por CARSON (1946) no cromossômio X de *Scjara impatiens* em consequência de uma inversão subtotal. A conclusão foi que a soldadura dos dois cromossômios transformou-os numa unidade nova, sem correspondente no núcleo, e que por essa razão se comportava como um autênico monovalente. O não pareamento das partes do complexo prova a inexistência de uma atração de pontos. PIZA mostrou numa série de trabalhos (especialmente 1946 b, c) que os cromossômios dos Hemipteros originam-se da soldadura pela extremidade acêntrica das duas metades resultantes da divisão longitudinal de elementos telocêntricos e que apesar disso êsses cromossômios só se paream com outros cromossômios, jamais se dobrando para justaporem as suas duas metades. Isso vem mais uma vez mostrar que o pareamento não se deve a uma atração específica desenvolvida por gens. O pareamento de "repeats" e de fragmentos cromossômicos na melose ou nos núcleos somáticos



(cf. SWANSON 1943) não permite por enquanto qualquer conclusão definitiva.

Os cromossômos são individualmente distintos. Há nas células somáticas dos indivíduos diplóides dois cromossômos de cada uma das qualidades neles representadas. Na melose os cromossômos da mesma qualidade se unem para formar os pares. O pareamento é, por conseguinte, específico. Esse fenômeno tem sido também designado por conjugação e no entanto ninguém, que nos conste, fez, até agora, qualquer tentativa no sentido de entendê-lo à luz dos modernos ensinamentos colhidos do estudo da conjugação dos gametas em geral e de modo muito especial, das recentes pesquisas sobre a conjugação dos Ciliados.

Relativamente aos Ciliados sabemos de longa data que esses Protozoários se multiplicam assexuadamente por um processo de fissuração mediana que se repete inúmeras vezes, após o que os indivíduos resultantes entram em conjugação, para logo se separarem e de novo iniciarem sucessivas divisões. Os fenômenos nucleares que precedem a fissuração ou que se realizam por ocasião da conjugação encontram-se detalhadamente descritos nos tratados de Protozoologia. (REICHENOW 1929, CALKINS 1926 KUDO 1931, MINCHIN 1922). Num dos casos mais simples, observado em *Paramecium*, verifica-se que os conjugantes se unem mais ou menos estreitamente pela região ventral, fazendo coincidir os citóstomas para a permuta de núcleos. O macronúcleo de ambos se desintegra sem tomar parte no processo que se desenvolve. O micronúcleo, contrariamente, divide-se duas vezes, produzindo quatro pequenos núcleos, três dos quais desaparecem e o quarto se divide mais uma vez, sendo que um dos produtos dessa terceira divisão passa de um animal para o outro e, fundindo-se aí com o outro produto da mesma divisão, dá origem a um sincário do qual vão resultar um novo micronúcleo e um novo macronúcleo. Há, por conseguinte, uma permuta de partes entre os dois membros do par em conjugação, após a qual os animais se separam para, dentro de algum tempo, entrarem novamente a se multiplicar por via assexuada.

A recente descoberta de SONNEBORN (1937), segundo a qual, no *Paramecium aurelia*, os indivíduos pertencentes ao mesmo clone não se conjugam entre si e quando misturados com indivíduos de outros clones podem ou não entrar com eles em conjugação, levou-o ao estabelecimento dos tipos de pareamento.

De conformidade com os trabalhos desse autor (1938, 1939, 1939a e 1941), de JENNINGS (1938, 1939, 1939a) e de outros, as

espécies de Ciliados podem ser divididas em variedades que não se conjugam entre si, sendo que em cada variedade se podem encontrar dois ou mais tipos de pareamento. Tomemos para exemplo uma variedade provida de apenas dois desses tipos, os quais, sob o ponto de vista morfológico, em nada diferem entre si. Designemos esses tipos por A e B respectivamente. Os indivíduos do tipo A não se paream entre si, bem como os do tipo B. Misturados, o pareamento logo se processa entre os representantes de A e os representantes de B.

Reunindo-se dois clones de tipos diferentes a primeira coisa que se observa é a formação de agregados de diversos tamanhos. Dentro em pouco esses agregados se desmancham em pares que nadam livremente. O primeiro contato entre os dois conjugantes se dá por qualquer parte do corpo. Em seguida eles se movimentam um sobre o outro até se porem na posição adequada, aferindo por uma extensão maior ou menor da região ventral e justapondo as bocas para a permuta dos núcleos. Depois de um certo tempo durante o qual os pares nadam livremente, os dois conjugantes se separam, passando novamente a viver a sua vida individual, multiplicando-se repetidamente.

Em algumas espécies, como por exemplo em *Euplotes patella* (KIMBALL 1939), os pares se formam diretamente, sem uma prévia agregação.

Esses e outros estudos relativos à conjugação dos Ciliados (literatura em SONNEBORN 1941, JENNINGS 1941, KIMBALL 1943) oferecem-nos a chave que nos haverá de permitir decifrar o enigma do pareamento dos cromossômios na meiose. Vejamos quantas instrutivas analogias se podem encontrar comparando-se o comportamento dos Ciliados com o dos cromossômios.

Salientemos em primeiro lugar que os cromossômios vivem livremente no núcleo como os Ciliados em uma cultura em caixa de Petri. Os cromossômios espermatogoniais se multiplicam por fissuração à semelhança dos Ciliados. Porém, normalmente, os cromossômios-filhos se separam em células distintas, uma situação que se poderia imitar com o Ciliados, levando-se para recipientes diferentes os produtos de cada divisão. Depois de um certo número de divisões os cromossômios se conjugam, tal como se dá com os Ciliados. Num espermatócito antes da meiose se encontram n qualidades de cromossômios (cromossômios heterólogos) que se não paream como acontece com as variedades de Ciliados que se podem encontrar reunidas na mesma caixa de cultura. Cada qualidade de cromossômio do espermatócito é representada por apenas dois indivíduos de tipos diferentes (cromossômios homólogos) comparáveis, do ponto de

vista da fisiologia da conjugação, aos tipos de pareamento dos Ciliados. Por ocasião do pareamento os cromossômios se agregam num nóvelo inextrincável (sinizese) do qual eles saem aos pares (paquinemas) e se espalham livremente na cavidade nuclear (diciniese), tal como vimos acontecer com os Ciliados, que primeiramente se aglomeram para depois se separarem pareados. A semelhança do que se passa com os Ciliados, também os cromossômios primeiramente estabelecem contato por qualquer ponto de seu corpo para depois ajustarem a sua posição e fazerem coincidir os cinetocores. (Os Ciliados fazem coincidir as bocas). Enquanto se acham pareados, os cromossômios permutam partes (crossing-over) tal como os Ciliados e como estes, logo após se separam, multiplicando-se daí por diante por simples fissuração. Nas meioses em que não há sinizese o comportamento dos cromossômios se compara ao dos Ciliados (Euplotes) que se conjugam sem prévia aglomeração.

Alguns autores pretendem que as evidências apontadas em favor de uma atração dos espermatozoides pelos óvulos não são concludentes, chegando mesmo a duvidar que um tal fenômeno exista. (Cf. p. ex. WILSON 1925, MORGAN 1927). Todos são porém, unânimes em reconhecer que o óvulo maduro elimina pela sua superfície substâncias que atuam especificamente sobre os espermatozoides, ativando-os, aglomerando-os e aglutinando-os. Todos são também acordes em reconhecer que os espermatozoides reagem prontamente aos produtos de secreção do óvulo e que, diante de certas substâncias empregadas em laboratório, revelam acentuados fenômenos de quimiotaxismo. (Cf. LILLIE 1927, JUST 1939). Por conseguinte, se de um lado temos óvulos que no momento da fertilização eliminam substâncias que agem ativa e prontamente sobre os espermatozoides da mesma espécie e de outro lado espermatozoides extremamente sensíveis e que reagem positivamente à ação quimiotática de certas substâncias, não se pode descartar a possibilidade da existência de uma atração de ordem química do óvulo sobre o espermatozoide. Foi o que fez LILLIE (1939), concluindo, que embora o quimiotaxismo não seja o único fator determinante da aproximação dos gametas, ele não pode deixar de influir. O fato de alguns espermatozoides passarem pelas proximidades do óvulo sem desviarem para ele o seu curso, apontado como prova da inexistência de uma atração, pode simplesmente significar incapacidade daqueles espermatozoides de reagirem, como outros o fazem, às influências emanadas do óvulo. Pode bem ser — e isso me parece, pelo menos em certos casos, muito provável — que ação propriamente atrativa o óvulo só exerça a curta distância. Uma ação muito inten-

sa dessa natureza, abrangendo um grande raio, teria o inconveniente de arrastar para o óvulo um número excessivo de espermatozóides, o que, além de outras desvantagens, poderia acarretar uma perigosa polyspermia. Lutando contra isso, a ação do óvulo consistiria em ativar o movimento dos espermatozóides, alguns dos quais acabariam penetrando na zona de atração, sendo então orientados para a superfície ovular. A produção pelo óvulo de *Echinoides* de um filamento que se prende à cabeça do espermatozóide quando este se encontra ainda a uma certa distância da membrana vitelina, na substância gelatinosa que circunda o óvulo, fala a favor de uma ação de ordem química guiando o espermatozóide. Penso, concluindo, que podemos afirmar com CHIARUGI (1929) e outros, existir um quimiotaxismo que conduz os espermatozóides ao contato com o óvulo. Além, trabalhos recentes sobre os gamônios masculinos e femininos, ou sejam, andro e ginogamônios, acabaram definitivamente com as dúvidas a respeito do papel exercido na fecundação pelas substâncias químicas elaboradas pelos gametas. (Para detalhes e bibliografia v. BRACHET 1944).

Com relação à conjugação dos Ciliados, achamo-nos em situação idêntica. Também aqui sabe-se com segurança da produção de substâncias químicas que agem ativando e aglomerando os indivíduos que se devem palear. Entretanto, também aqui, as opiniões divergem relativamente à questão da atração. JENNINGS e SONNEBORN, dos seus estudos com o *Paramecium*, concluíram pela inexistência de atração. Esses autores acham que os Protozoários se encontram ao acaso, separando-se a seguir se forem do mesmo tipo de pareamento ou permanecendo unidos e entrando em conjugação se forem de tipos diferentes. Segundo KIMBALL (1943), cada tipo produziria uma substância diferente que ficaria à superfície do corpo e promoveria a aderência de um no outro, onde quer que se desse o contato. Do encontro fortuito de dois indivíduos do mesmo tipo, isto é, providos da mesma substância, não resultaria nenhuma aderência. O fato de indivíduos pertencentes ao mesmo tipo de pareamento ao se encontrarem, nadarem unidos por algum tempo, para depois se separarem, indica que se pode entender uma união mais duradoura dos indivíduos de tipos diferentes, sem fazer apêlo a qualquer substância de propriedades adesivas. Quer o encontro se dê entre indivíduos deste ou daquele tipo, o que entra primeiramente em jôgo é simplesmente a reação de contato. (V. JENNINGS 1942). Como se sabe, os Ciliados reagem ao contato dos corpos sólidos que encontram no meio, procurando entrar com eles em estreita união. Quando dois indivíduos se tocam, cada um se comporta em presença do outro

como se fôsse um corpúsculo sólido em suspensão, provocando a reação de contato, que por ser recíproca, é mais estreita e duradoura do que a reação unilateral determinada por qualquer outro corpo. Quando os Ciliados amadurecem para a conjugação a reação de contato permanece a mesma entre os indivíduos do mesmo tipo, transformando-se, porém, numa reação sexual, entre os indivíduos de tipos diferentes. Essa reação sexual é, por conseguinte, uma forma de reação de contato desenvolvida entre indivíduos sexualmente maduros e fisiologicamente diferenciados e deve durar todo o tempo necessário para a consumação do ato que lhes cabe desempenhar. Em se tratando de uma reação de contato, os conjugantes, uma vez unidos, por qualquer parte do corpo, poderão com facilidade se ajustar na posição mais favorável à troca dos núcleos e se separar uma vez concluído o ato sexual. Isso me parece mais difícil de entender se fizermos intervir qualquer secreção com propriedades grudadoras para explicar a permanência dos corpos em contato durante a conjugação.

A questão da atração é uma questão à parte. Sabe-se que os Ciliados secretam substâncias que passando para o meio influem de diversas maneiras sobre os indivíduos da mesma espécie que aí se encontram, a algumas das quais eles reagem quimiotaticamente. Sabe-se igualmente que por ocasião da conjugação há produção de substâncias químicas que põem os indivíduos em grande atividade, promovendo ao mesmo tempo a sua agregação. Temos, pois, os elementos para pensar na existência de uma atração química. É verdade que em se tratando de copulação entre indivíduos livres, extremamente móveis e muito sensíveis a diversas sortes de estímulos, a atração entre eles deve sofrer a influência de várias causas modificadoras. Parece-me que cada tipo de indivíduo produz uma substância diferente com ação quimiotática sobre o outro tipo. Essa substância difunde-se com certa lentidão no meio em que eles se movem ativamente, dando origem a áreas de concentração diferente que influem nos seus movimentos. A substância produzida por um dos tipos adere por algum tempo à superfície dos indivíduos do outro tipo, para ser logo daí lavada pela secreção destes últimos. E assim, um indivíduo do tipo A, ao se aproximar de um indivíduo do mesmo tipo, cujo corpo esteja envolvido na substância produzida pelos indivíduos do tipo B, junta-se com este. Dado o encontro, prevalece a reação de contato e enquanto isso o indivíduo se vai lavando da substância que o impregnava, o que facilita a separação. Se os tipos que se encontram são diferentes, entra em jogo a reação sexual e eles iniciam a conjugação. Parece-me que a ação da substân-

cia específica seja apenas a de promover o encontro. Uma vez realizado este, entra a funcionar a reação de contato ou a reação sexual.

Ao examinar culturas de Ciliados, tive muitas vezes a impressão de que um indivíduo persegue o outro a curta distância, para alcançá-lo ou para se desviar bruscamente da rota. Também pareceu-me que ao passarem muito próximo um do outro os indivíduos inevitavelmente se encontravam. Há, pois, indícios de atração. Em apóio à idéia de uma ação quimiotática, promovendo o encontro dos indivíduos de tipos diferentes, poderemos citar a observação de ENGELMANN com *Vorticella*. Esse autor verificou mais de uma vez, conforme relata CALKINS (1926), desvio de rota e perseguição seguida de união, que bem atestam influência de ordem química de um indivíduo sobre outro. Penso, porisso, que poderemos aceitar, com CALKINS, REICHNOW e outros eminentes protozoologistas, a existência de um quimiotropismo guiando os Ciliados de tipos diferentes para a conjugação

Estamos, por conseguinte, de posse de fundamentos biológicos que nos permitem compreender o pareamento dos cromossômicos. Os cromossômios homólogos são como os Ciliados de tipos diferentes. Paream-se como indivíduos, segundo os mesmos princípios que norteiam a copulação de gametas ou de células sexualmente diferenciadas. O não pareamento dos cromossômios na meiose de machos diplóides de *Abrobracon* e de outros Himenópteros cujos machos são normalmente haplóides concorda com a explicação acima proposta. O fato de haver em certas plantas pareamento de cromossômios na meiose de ramos estéreis que se tornaram férteis em consequências de uma duplicação espontânea ou provocada do número de cromossômios e outros semelhantes, não invalidam a interpretação que dei aos fenômenos de pareamento, porquanto, quer no domínio cromossômico, quer no dos Ciliados, certas condutas especiais não puderam ainda ser compreendidas. Assim, casos há em que os cromossômios, aparentemente normais de indivíduos diplóides, deixam de se parear por razões que ainda não foram apuradas. Igualmente, o pareamento dois-a-dois, constante, em indivíduos tetraplóides nos quais era de se esperar a formação também de grupos de três e de quatro, ao lado de alguns monovalentes, permanece ainda obscuro. Quanto aos Ciliados, a conjugação de indivíduos pertencentes ao mesmo clone e provenientes do mesmo carionídio, tal como se tem observado em *Paramecium multinucleatum*, *Paramecium caudatum* e até mesmo em *Paramecium bursaria* (V. referên-

cias em SONNEBORN 1941), requer novas investigações antes que busquemos encontrar uma explicação satisfatória.

Segundo estabeleceu HARTMANN para a alga *Ectocarpus siliculosus*, os gâmetas que copulam não são nem machos, nem fêmeas, num sentido absoluto. Quer dizer que um mesmo gâmeta pode comportar-se como macho ou como fêmea em relação a outros, o que, como se sabe hoje, depende das proporções relativas das substâncias (gamônios *cis* e *trans*) que cada indivíduo é capaz de eliminar. A sexualidade passa assim esfera qualitativa para a quantitativa, auxiliando-nos na interpretação dos casos obscuros do comportamento quer de gâmetas, quer de cromossômios. (Bibliografia em BRACHET 1944).

Qualquer definição que a ciência procure dar do gen, é evidente que ela pretende apresentá-lo como um elemento organizado e vivo. E como tal êsse elemento deve fabricar a sua substância à custa de substâncias diversas do meio celular, assimilando-as e incorporando-as. A principal característica dos corpos vivos é exatamente essa propriedade que só êles têm, de auto-síntese. O protoplasma, desde que apareceu pela primeira vez na terra, até os nossos dias, parece que se não modificou no que êle tem de básico. Os seres vivos evoluíram, diferenciaram organelas, complicaram a estrutura, multiplicaram a forma, mas não alteraram aquilo que êles possuem de essencial. Da ameiba ao homem o protoplasma conseguiu percorrer milênios de evolução sem perder qualquer de suas propriedades fundamentais. É provável que o protoplasma tenha, em todos os organismos, a constituição com que apareceu naquele remoto instante que assinalou o início da história da vida no nosso planeta. As reações em que êle toma parte são diferentes daquelas que se operam entre corpos brutos e nessa diferença reside tudo o que êle possui de mais importante. Assim, enquanto os corpos destituídos de vida reagem uns com os outros, para constituírem corpos novos, com propriedades inteiramente diversas daquelas que caracterizavam cada um dêles antes das reações, o protoplasma, ao reagir com a matéria bruta, modifica-a, transformando parte dela em protoplasma que incorpora ao já existente e parte em substâncias residuais que abandona. A característica dessas reações em que o protoplasma toma parte é que elas são unilaterais: os corpos que com êle reagem se transformam, ao passo que êle conserva inalterada a sua constituição. Parece que se pode concluir de um grande número de observações, que o protoplasma não reage diretamente com a matéria bruta e sim por intermédio de substâncias que êle é capaz de elaborar. A fisiologia da digestão oferece-nos os elementos para compreender o que se deve

passar entre o protoplasma e o material do meio com o qual é tem relações: substâncias específicas, digamos enzimas, por éle produzidas, promovem, umas, a decomposição da matéria bruta, pondo em liberdade os elementos com os quais outras sintetizam a parte a ser incorporada. E assim o protoplasma cresce. Entretanto, o genetista parece se esquecer d'esses dados fundamentais contidos na definição de tudo o que é vivo, quando procura explicar as mutações, ou sejam, as diferenças existentes entre os gens, com base em alterações de ordem química. Quer-me parecer que o genetista cai em contradição quando, ao definir o gen, salienta a sua propriedade essencial de auto-elaboração e portanto, de conservação de si mesmo, e, ao comparar os gens, busca na química as diferenças que presume existem entre eles. Se os gens são realmente vivos conforme a definição, éles não devem entrar corporalmente em reação com o meio e portanto não devem alterar a sua composição química. Aceitar que um gen seja capaz de adquirir ou perder determinadas moléculas ou agrupamentos moleculares, entrando por esse meio na posse de novas propriedades, é o mesmo que identificá-lo com a matéria bruta, que difere da viva exatamente por essa faculdade. Demais a mais esse processo, além de constituir uma fonte inesgotável de fáceis mutações, levaria os gens a alterações tão profundas, que d'elles poderiam fazer os mais variados compostos químicos. Enquanto uns gens permaneceriam proteínas, outros tornar-se-iam hidratos de carbono e outros graxas. Pela perda de uns agrupamentos químicos e pela aquisição de outros, o gen poderia passar de orgânico a mineral e até mesmo de molecular a atômico.

As alterações que transformam um gen em outro não devem pois ser de ordem meramente química. Não resta dúvida de que o ser vivo ou mais propriamente, o protoplasma, possui uma composição química. A vida não passa mesmo de uma aquisição da matéria bruta. A história da evolução do universo nos ensina que a matéria bruta sempre existiu e que a vida um dia se instalou nela como uma propriedade que até então nenhum corpo havia revelado. Pode-se porisso dizer que a vida é uma propriedade da matéria, que só apareceu quando ela, ao jôgo natural das leis que imperam no universo, adquiriu uma constituição semelhante à das proteínas e um estado semelhante ao estado coloidal, organizando-se num sistema físico-químico que repetidas vezes se modificou e se desintegrou, e que por fim, na hora zero da história da vida, estabilizou-se em consequência de uma faculdade até então inatingida — a faculdade de crescer pela incorporação ao sistema já forma-



do, da matéria sintetizada à custa de substâncias do meio exterior

O raciocínio que vimos seguindo leva-nos à conclusão de que a matéria viva, sob o ponto de vista químico, provavelmente não difere em nada da matéria bruta que hoje conhecemos. A propriedade de auto-síntese que a caracteriza e que ela somente adquiriu depois de haver chegado a uma constituição bastante complexa, pode bem ser uma consequência de um estado particular, não dependendo porisso de nenhum elemento especial. Entre uma proteína bruta e uma proteína viva deve tão somente existir uma diferença de estado e assim como falamos em estado coloidal e estado não coloidal, poderemos falar também em estado vivo e estado bruto da matéria. A proteína virus de STANLEY ajuda-nos a compreender essa diferença de estados. A passagem direta da matéria do estado vivo para o estado bruto é um fenómeno comum aos nossos olhos. A inversa, que não é menos comum, só indiretamente se pode verificar. A conversão da matéria do estado bruto ao vivo só se verifica através da atividade de seres vivos, que, por esse meio, crescem e multiplicam-se. Isso porém não exclui a possibilidade de uma nova transformação direta. Embora as atuais condições físicas e químicas da terra sejam bem diversas daquelas que vigoravam no remoto instante em que se constituíram os primeiros corpos orgânicos capazes de servir de substrato à vida, poderíamos aceitar a possibilidade de novas conversões de matéria bruta em viva, considerando que para tal já não é mais preciso partir das primeiras combinações do carbono com os metais mais pesados que formavam o núcleo da terra e depois com o vapor d'água da atmosfera. (\*) O ponto inicial para essa transformação seria hoje representado pelos últimos elos daquela primitiva série de corpos que terminam nos altos complexos orgânicos. Substrato para a vida não mais precisa formar-se, pois que proteínas e seus derivados são de comum ocorrência na terra dos nossos dias. O que nos parece pouco provável é que os seres que por ventura surgissem hoje como o produto de uma transformação direta da matéria bruta fossem capazes de se diferenciar, de evoluir, ou mesmo de se perpetuar naquela for-

---

(\*) Uma exposição bastante clara dos fenómenos que se devem ter desenrolado desde que a matéria destinada à formação do nosso globo se destacou da estrela que se constituiu em sol e nos quais o elemento carbono desempenhou o principal papel, encontra-se no excelente livro de OPARIN (1938)

ma primitiva de organização. Os seres de outros tempos encontraram uma terra esterilizada que permitiu o seu desenvolvimento. Nos primeiros dias da evolução os organismos rudimentares que habitavam a terra pouco diferiam entre si e lutavam pela existência com armas aproximadamente iguais. A terra, despovoada, tinha lugar para todos. E como inúmeras tentativas devem ter fracassado antes que a matéria conseguisse inaugurar o processo de auto-síntese que assinalou o aparecimento da vida, os primeiros seres que se formaram devem ter encontrado abundante material orgânico para a sua nutrição. A competição deve ter-se iniciado muito mais tarde, quando as águas já pululavam em microorganismos. Atualmente isso não mais se verifica. Os novos seres que se formarem serão presas fáceis de seres mais evoluídos, já adaptados e treinados nos combates da vida. A luta pela existência acabará com eles no instante mesmo da sua formação.

As enzimas indispensáveis à vida do protoplasma e por meio das quais ele promove o desdobramento da matéria bruta e a sua transformação em substâncias capazes de serem incorporadas à matéria em estado vivo, devem ser produzidas pelo próprio protoplasma. E como essas enzimas não devem resultar do desdobramento do substrato químico do protoplasma, nem tão pouco de reações que alterem a sua constituição, segue-se, que, para produzi-las, o protoplasma age apenas como um catalisador, isto é, funciona como se ele próprio fosse uma enzima. A matéria prima com que ele trabalha pertence, pois, ao meio, e não à sua constituição. A auto-síntese não sendo possível sem o concurso de enzimas, temos que o que permitiu a conversão da matéria bruta em viva foi a propriedade que ela adquiriu de, funcionando como enzima, jogar com o material do meio no sentido de formar com rapidez novas enzimas necessárias ao desdobramento de determinadas substâncias e à síntese de outras.

Dada a especificidade das enzimas, temos que o que dita a ordem de entrada delas em ação é a composição química dos corpos que se põem em relação com o protoplasma. Suponhamos que ao protoplasma vai ter uma nucleoproteína e que nesse protoplasma, além de uma protêase que desdobra aquele complexo em proteína e ácido nucléico, encontram-se mais as seguintes enzimas: uma polinucleotidase que desdobra o ácido nucléico em nucleotídios, uma nucleotidase que transforma os nucleotídios em nucleosídeos e ácido fosfórico e finalmente uma nucleosídate que decompõe os nucleosídeos em bases da purina ou da pirimidina e açúcar. Ora, torna-se evidente que nenhu-

ma dessas enzimas que atuam sobre o ácido nucléico e seus produtos pode entrar em atividade antes daquela que age especificamente sobre a nucleoproteína desdobrando-a em proteína e ácido nucléico. Também a nucleosídase não poderá trabalhar sem que primeiro a nucleotídase desdobre os nucleotídeos e nem esta, por seu turno, antes que a polinucleotídase fragmente a molécula do ácido nucléico. De outro lado, se o que vem ter ao protoplasma é já um nucleosídeo, claro é, que de todas as enzimas aí presentes, só a nucleosídase é chamada à atividade. Em presença do ácido nucléico e dos produtos intermediários do seu desdobramento, as diversas enzimas referidas podem agir concomitantemente. Pelo contrário, na ausência desses compostos, nenhuma delas entra em ação, sem que com isso se oponham à atividade daquelas que se destinam ao desdobramento ou à síntese de outros compostos que tenham por sua vez entrado em contato com o protoplasma. Vemos, pois, que o que determina a entrada em atividade deste ou daquele produto do protoplasma, o que estabelece a ordem em que cada um deve intervir e o que marca o início e o fim de sua atuação, são os compostos que vêm ter em contato com ele e os produtos de suas primeiras transformações.

Que as enzimas de que o protoplasma se serve para a manutenção da sua vida sejam um produto de elaboração e que a sua qualidade e a sua atividade aumentem ou diminuam com a presença ou a ausência das substâncias para as quais elas são específicas, a fisiologia nos dá um grande número de provas. O que não sabemos, porém, é se na ausência prolongada de uma dada substância, a enzima respectiva chegue a desaparecer por completo, ficando o protoplasma apenas com a faculdade de elaborá-la de novo, tão depressa a substância em questão venha outra vez pôr-se em contato com ele. Como no organismo animal a produção de certas enzimas é privativa de determinadas células e estas só se diferenciam tardiamente, segue-se que o protoplasma carrega consigo, não as enzimas propriamente, mas a faculdade de produzi-las nas condições requeridas criadas pela diferenciação. Assim, certas enzimas específicas do fígado ou do pâncreas só se produzem depois que as células hepáticas ou pancreáticas tenham se diferenciado. O protoplasma, portanto, atravessa uma longa evolução antes que as condições exigidas para uma determinada atividade se realizem no organismo. O mesmo poderíamos dizer relativamente aos hormônios. Cada tipo de célula, de conformidade com a sua diferenciação, elabora um determinado hormônio. As primeiras células de um organismo têm um protoplasma com

uma soma enorme de potencialidades que mais tarde se objetivarão em: um número restrito de substâncias ativas, de conformidade com o rumo que cada célula toma no desenvolvimento. O organismo que se desenvolve, por conseguinte, considerado como um todo vai progressivamente diferenciando regiões, cada uma das quais oferece ao protoplasma das células que a constituem um meio propício à consecução desta ou daquela atividade. Sabemos que os hormônios são produzidos por determinados órgãos e por conseguinte, por células especializadas e que embora circulem por todo o organismo, só influem sobre determinadas partes. A diferenciação do organismo no que se refere aos hormônios, conduz, pois, a duas especializações diferentes: uma dá origem às células capazes de elaborar os hormônios e outra às células que, não possuindo essa faculdade, são, porém, as únicas capazes de reagir à presença deles

De conformidade com uma opinião corrente em genética os gens trabalham no organismo, diretamente ou por intermédio dos seus produtos, como se fôsem enzimas. Mas como os gens são específicos e só intervêm sobre determinadas reações, segue-se que se os corpos que tomam parte nessas reações não estiverem presentes, eles não poderão agir. A atividade dos gens depende, por conseguinte, da presença de certas substâncias, isto é, de um certo e determinado meio. A conclusão a tirar é, pois, que os gens não entram em atividade sem serem solicitados e não controlam as reações em que tomam parte, sendo, pelo contrário, controlados por elas. Este ponto merece alguma atenção. Admite-se geralmente que os gens controlam as reações que se processam no organismo. Porém, controlar uma reação quer dizer dar-lhe início, imprimir-lhe uma direção, regular-lhe a velocidade e marcar-lhe o fim. Entretanto, nenhum desses papéis se poderá atribuir aos gens se os considerarmos como elementos que funcionam por intermédio de substâncias de ação catalítica, isto é, de enzimas. É sabido que as enzimas não promovem reações, mas apenas aceleram-nas; não regulam a velocidade dessas reações, o que está sob o controle imediato de fatores do meio (temperatura, pH, presença ou ausência de certas substâncias, acumulação ou supressão dos produtos finais, etc.); não lhes imprimem uma direção no sentido do desdobramento ou da síntese, pois que isso depende da composição química das substâncias sobre as quais vão agir e portanto, também, da permanência no meio ou da retirada, deste ou daquele produto das reações; e finalmente, não suspendem as reações o que automaticamente se dá quando o

desdobramento ou a síntese se completa. É claro que o genetista ao afirmar que o gen age como enzima e controla as reações, comete uma nova contradição, pois se o gen funciona como enzima, ele não exerce controle algum sobre os fenômenos em que intervém. Dessa contradição se poderá sair com facilidade aceitando-se que de fato o gen funcione como enzima, sendo como tal controlado pelos agentes do meio. Aquela contradição, aliás, só resulta de uma opinião preformada, segundo a qual os gens, como entidades permanentes, determinam e controlam os processos que fazem de um ovo um organismo.

Ninguém sabe como os gens trabalham. Apenas se fazem conjecturas. Uma coisa, porém, podemos tomar como certa. É que os gens, qualquer que seja o conceito que deles façamos, não são nada mais, nada menos, que protoplasma. Sendo protoplasma eles não são nem enzimas nem hormônios, embora possam produzir substâncias com função quer de enzimas, quer de hormônios. E como nas células o protoplasma se diferenciou em organelas especializadas com as quais o trabalho foi dividido, segue-se que onde quer que se localize a função gênica, ela só poderá se exercer com o concurso de outros elementos resultantes da divisão do trabalho. Assim sendo, se atribuirmos aos gens a faculdade de produzir substâncias com propriedades de enzimas, não podemos fugir à admissão da colaboração de outras partes da célula. O gen, para produzir uma substância ativa deve funcionar como um plastídio ou qualquer outro organóide. É verdade que quanto mais nos aprofundamos na análise dos fenômenos vitais, mais embaraçosa se torna a nossa situação e nos perdemos facilmente na complexidade dos fatores que entram em jogo. É lógico que um plastídio ou um gen ao efetuar o seu trabalho, necessita de matéria prima. Essa matéria prima não é a substância fundamental que os constitui, quer dizer, não é protoplasma e sim produto de sua atividade. Por conseguinte, se alguns dos outros colaboradores não funcionar, nem o plastídio nem o gen, poderá concluir qualquer atividade. Por mais simples que pareça ser um elemento, se o trabalho depender dele, para o resultado final ele será tão importante como os mais complexos membros do sistema.

O citoplasma é indispensável à vida da célula. A sua atividade no metabolismo e portanto na preparação do material com que trabalham os diferentes organóides é fora de qualquer dúvida. Os gens nada fariam sem o seu concurso. Entretanto, não podemos determinar a parte que lhe cabe nos fenô-

menos hereditários, simplesmente por ser êle um complexo indissociável e aparentemente homogêneo. Afora os casos em que podemos reconhecer nêle a presença de elementos figurados de valor morfogênico sôbre os quais podemos agir, nada mais existe que possa receber um tratamento experimental. Com os gens não se dá o mesmo. Estando êles localizados em estruturas reconhecíveis e que podem ser removidas ou transferidas para outros organismos, foi possível constatar a necessidade da sua presença para a produção de determinados caracteres. Da verificação de que um caráter não aparece na ausência de certo gen, não se pode concluir que o gen seja o determinante específico do caráter. Êle é um simples colaborador. Pode até acontecer que a sua contribuição, comparativamente, seja insignificante. Sendo, porém, essencial, para o prosseguimento da série de reações que preparam o caráter, em chegando o momento de sua intervenção e não se achando êle presente, a cadeia se interrompe, os fenômenos tomam outro curso e o caráter esperado não se manifesta ou se modifica. Uma mutação, por seu turno, pode se dar em qualquer dos membros de um sistema coordenado. Suponha-se que a mutação se operou no gen, continuando na mesma os outros órgãos do sistema. As reações dar-se-ão como de ordinário até o momento da entrada do gen em atividade. Daí para diante os resultados se alteram porque a contribuição do elemento mutado tornou-se diferente da costumeira. Mas se a mutação se der num outro órgão o resultado será igualmente diverso do habitual. A partir do momento em que o órgão mutado entra em ação as reações no sistema começam a tomar um novo rumo e quando o gen vier a cooperar já encontrará o sistema alterado. O comportamento das mutações não gênicas, pela natureza do seu substrato, não se pode estudar, embora possam também elas dissociar-se como acontece com as gênicas. Porém, é claro, que se o caráter mutado for mendelizável, jamais ocorrerá ao genetista que êste possa ter tido por origem alterações no funcionamento de órgãos não cromossômicos do sistema.

O genetista, embora aceitando que o gen trabalhe segundo o meio, pensa ser êle, o gen, o controlador do meio e o determinador do caráter. Esquece-se por conseguinte que trabalhar segundo um meio é fazer o que o meio permite, é ser controlado pelo meio. Entretanto, essa idéia de que o gen só entra em ação se o meio estiver preparado para isso, leva-nos à suposição de que o gen, em tôdas as partes do organismo onde o caráter em que êle intervém (ou que elê determina, na linguagem da genética) não se manifesta, permanece em estado de espera,

isto é, em inatividade. Isso quer dizer, em linguagem objetiva, que os gens que devem caracterizar os pêlos do animal, nada têm que fazer nos órgãos internos ou nas partes externas des-tituídas de pêlos. E como há gens que só trabalham em áreas extremamente restritas do organismo, chegaríamos, por essa via, a resultados bastante extravagantes. Parece, porém, que esse raciocínio ultra simplista e inteiramente incompatível com a complexidade dos fenômenos biológicos não deve prevalecer. O gen não tem momentos de inatividade; ele nunca aguarda uma oportunidade para entrar em ação. Todas as oportuni-dades são a sua oportunidade. Trabalha sempre, ininterrupta-mente, onde quer que se encontre. Daí a conclusão de que todos os gens cooperam para a produção de todos os caracteres. BRINK (1929), no seu estudo sobre a fisiologia do gen "waxy" do mi-lho, escreve :

"It might reasonably be supposed that the genes call forth a consecutive series of reactions, each reaction pro-viding the necessary physiological basis for the succeeding one. Each gene becomes functional when its appropriate substratum emerges in response to the activities of genes already in play. The phenotypic effects show that there is wide diversity in the properties of the individual heredi-tary elements and it is a logical inference that each gene requires certain specific intra-organic environmental con-ditions in order to function. If this be granted it follows that the genes will come into action in orderly sequence. While the genes are the same in every cell they will func-tion in a everchanging way as they alter the circumstan-ces under which they operate. According to this hypoth-esis each gene comes into play upon the completion of certain earlier events primarily controlled by other genes. Each factor may not be physiologically active at all stages. Some genes may be narrowly restricted in their operation; others may function over a wide range of ontogenetic con-ditions. At one stage in development a particular gene may act in one way and at another stage in a different manner because the milieu has at been changed in the interval." (Pag. 521).

E pouco além :

"The suggestion that the genes, sough remaining the same in every cell, may nevertheless govern differentia-

tion by series of chain reactions, each reaction changing the substract upon wich the gene complex impinges, which, in turn, opens the way for further physiological events. will strike the chemist and the physiologist with a familiar ring." (Pag. 522).

Pelo que vemos no pequeno trecho acima transcrito e que corresponde a uma opinião geralmente aceita em genética, o gen pode ser considerado como desempenhando dois papeis no organismo: um determinando o caráter que lhe é atribuído e outro preparando o meio para que outros gens possam determinar outros caracteres. A primeira vista parece que somente o primeiro papel é específico. Mas, pensando bem, veremos que esse papel específico só se exerce em um certo e determinado meio preparado pelos demais gens e que, por conseguinte, a ação do meio na determinação do caráter é tão específica quanto a ação do próprio gen a que o caráter é atribuído. E como em qualquer momento da história do organismo um gen específico trabalha em um meio igualmente específico, segue-se que o trabalho dos gens que preparam o meio é também específico. A atividade do gen, pois, quer na determinação do caráter, quer na preparação do meio, é sempre específica. De fato, se uma chave é específica no sentido de ser a única capaz de abrir certa porta, a porta não deixa de ser igualmente específica no sentido de só se deixar abrir por aquela chave. E assim todos os gens têm a mesma responsabilidade na caracterização do organismo, trabalhando todos, ativamente, em todos os momentos da sua história. A idéia de que um gen aguarda em inatividade o momento de entrar em ação, isto é, espera que os outros gens lhe preparem um meio específico, não deve, pois, prevalecer, porquanto o meio é sempre específico para a atuação de todos os gens e todos os gens trabalham ao mesmo tempo na preparação de todos os meios. Os gens estão permanentemente em atividade. É verdade que eles esperam por um meio adequado ao desenvolvimento de determinada função. Mas isso não significa que eles permaneçam em repouso enquanto esperam. Eles nunca repousam. Enquanto aguardam certas circunstâncias, trabalham nas circunstâncias prévias. Eles passam de meio a meio, de atividade a atividade, sem parar em parte alguma.

Temos então, conforme dissemos um pouco acima, que todos os gens são igualmente responsáveis por todos os caracteres, não se podendo atribuir a nenhum deles aquela ação específica imediata sobre um determinado caráter. Se alguma es-



pecificidade existir, essa só poderá ser aquela que se refere ao modo único de cada gen colaborar com todos os outros numa determinada parte e num determinado momento da história do organismo. Nessas condições não seria possível eleger um determinado gen como o autor de determinado caráter. Caráter é o resultado final e visível de uma série de fenômenos inteiramente desconhecidos, que se pode representar por um símbolo. Assim, poderíamos designar por V os acontecimentos que se desenrolam no organismo de uma mosca a partir da entrada do ovo em desenvolvimento e acabam pela produção de um indivíduo adulto exibindo olhos vermelhos. V representaria portanto o resultado da atividade de todo um organismo. O genetista, porém, baseado em teorias que ele presume bem fundamentadas, transfere para um determinado gen o símbolo que deveria exprimir, conjuntamente com outras, as atividades de todos os elementos do genótipo. O resultado aparente será o mesmo. O real, entretanto, poderá ser fundamentalmente outro e revelar a arbitrariedade do conceito do gen. Suponhamos um inseto de olhos vermelhos que se cria no laboratório. Esse inseto dá origem a uma mutação eosina que se comporta de conformidade com as leis mendelianas. Embora não se tenha ainda localizado o gen original e o mutado, não resta dúvida, em face do seu comportamento nas experiências de cruzamentos, que eles sejam aleles, isto é, que um seja mesmo o resultado de uma mutação do outro e que portanto ocupem a mesma posição em dois dos cromossômios homólogos da guarnição do inseto. Chamemos de V ao gen original. Encontram-se com ele no mesmo cromossômio, mais os gens X, Y e Z. O cromossômio original, de acordo com a genética, seria XYZV, ao passo que o cromossômio mutado seria XYZV'. A mutação de V para V' teria transformado o olho vermelho em olho eosina. Aceitando, para fins de discussão, que exista de fato um gen V responsável pelo olho vermelho do inseto, pergunta-se se o olho eosina seria realmente o produto de uma mutação daquele gen. O genetista diante dos resultados de cruzamentos responderá, sem pestanejar, que sim. Eu, porém, retrucarei, que pode ser que sim, mas também pode ser que não. E argumentarei segundo o raciocínio da própria genética: o gen V produz o olho vermelho no ambiente que lhe prepararam os outros gens. Portanto V está agindo no meio resultante da interação de XYZ com todos os outros gens. Se os gens trabalham diferentemente de conformidade com o meio (Cf BRINCK, pag. 522) teremos que, se qualquer deles mutar, o meio se altera e conseqüentemente o caráter resultante do trabalho

de um gen particular. Se os gens entram em atividade na ordem **XYZV** e a mutação se verificar, digamos, em **X**, que passará a **X'** a reação de **Y** mudará e bem assim a de **Z**. O resultado é que quando **V** entrar em atividade o meio (**M'**) será bem diferente daquele original (**M**) e nesse novo ambiente êle produzirá um olho eosina em lugar do olho vermelho. O resultado global é o mesmo e o simbolismo genético poderá continuar a representá-lo por **V** como se êle fôsse devido a uma mutação de **V**. A realidade biológica porém, pode ser, como vimos, bem outra.

O genetista reconhece situações em que o resultado esperado não aparece. Com o fim de esclarecê-las apela para a intervenção de outros gens (modificadores, supressores, ativadores, intensificadores, diluidores, aceleradores e tantos outros) e com isso nada mais faz do que deslocar o problema. Vai criando novas e novas entidades, que cada vez mais complicam a situação. E para que o sistema possa funcionar atribui a entidades hipotéticas faculdades verdadeiramente miraculosas e sem paralelo em toda a biologia. Afirmar, como a genética o faz com tanta simplicidade, que o gen fabrica uma antocianina, uma enzima ou um hormônio, é atribuir-lhe funções que sómente estruturas muito complicadas seriam capazes de desempenhar. Semelhantes atividades são atributos de células e não de gens e segundo se depreende do importante trabalho de BOWEN (1929) ao citoplasma cabe a parte específica do fenômeno de elaboração. Aliás, conforme se sabe hoje, o núcleo passou para um plano secundário, não sendo o principal formador e nem o depositário das enzimas que trabalham na célula, como antes se acreditava. (Cf. BRACHET 1944). O genetista procura sair dessa dificuldade dizendo que cada gen trabalha de colaboração com todos os outros e com o citoplasma. Mas isso então significa que o que trabalha de cada vez é a célula toda e não o gen. E se é a célula toda que trabalha, quer dizer que todos os gens estão em atividade em todos os momentos da vida do organismo e que por conseguinte a atividade deles muda conforme a parte do corpo que a célula deve formar, uma possibilidade já reconhecida por alguns autores. (MORGAN 1924, 1934, STERNE 1936). Nessas condições desaparece a diferença específica entre os gens, já não se devendo falar em gens de olhos, de antenas, de patas, de asas, de coloração, ou seja lá do que for. A questão fica assim muito simplificada, livrando a genética da acusação inaceitável, que muitos ainda fazem, segundo a qual, enquanto certos gens trabalham em determinadas partes do corpo, outros ficam aí inativos.

Alguns trabalhos interessantes de embriologia experimental mostram claramente que certos caracteres considerados pela genética como sendo produzidos por um único par de gens com atuação localizada em determinados órgãos, se devem, na realidade, ao mau desempenho de funções que interessam a economia geral do organismo e que por isso podem repercutir de maneira característica em diversos órgãos, sem que nesses órgãos haja qualquer gen operando de modo específico. É, por exemplo, o caso do gen "creeper" da galinha.

Trata-se, como se sabe, de um gen dominante  $Cp$ , letal em homozigose ( $CpCp$ ) e produzindo, quando em heterozigose ( $Cpcp$ ), uma série de graves malformações interessando principalmente as asas, as patas e os olhos. Nestes últimos o gen em questão, além de outras, determina uma anomalia conhecida por "coloboma", devida ao fato da fissura coroidiana não se fechar, em consequência do que a retina, dobrando-se sobre os bordos da abertura, forma uma duplicação que avança por uma extensão maior ou menor da área que no olho normal deveria ser ocupada pela coróide.

A genética classifica o gen "creeper" como sendo um gen pleitrópico, isto é, um gen com atuação localizada em diferentes partes do organismo (asas, patas, olhos), produzindo em cada uma dessas partes, uma anomalia característica. Assim, o coloboma seria o resultado da atuação do gen  $Cp$  nos tecidos do olho. Entretanto, os trabalhos de HAMBURGER (1942) e de GAYFER e HAMBURGER (1943) oferecem-nos elementos que permitem concluir que as modificações operadas no olho da galinha não podem ser atribuídas a uma atuação local de gens. De fato aqueles autores fizeram uma série de transplantações ortotópicas de primórdios de olho de diferentes constituições genotípicas. Assim, tecidos embrionários destinados a produzir o olho de um organismo normal ( $cpcp$ ) foram implastados na região correspondente de um embrião homozigoto para o gen "creeper" ( $CpCp$ ). O resultado foi o aparecimento de um olho colobomatoso e a conclusão é que o caráter coloboma não se deve à ação local de gens específicos nos tecidos formadores do olho, porquanto esses tecidos provierem de um organismo normal em que o gen "creeper" não existia. A transferência de um primórdio ocular de um embrião homozigoto para o gen "creeper" para um embrião desprovido daquele gen, deu um resultado a meu ver ainda mais interessante, porquanto mostrou que não obstante presente em dose dupla, um gen de efeitos tão drásticos mesmo quando em doses simples ( $Cpcp$ ), foi incapaz de produzir o coloboma num organismo de constitui-

ção normal. Fica pois mais uma vez comprovado que o caráter coloboma não se deve à atuação no olho de gens específicos e sim é a consequência de uma condição muito mais geral e remota que modifica o desenrolar habitual dos fenômenos de desenvolvimento.

Diante desses resultados o caminho a seguir pela genética para pôr os seus dados em acôrdo com os dados da embriologia experimental, seria modificar o conceito de gen pleiotrópico. O pleiotropismo poderia por exemplo ser aplicado só aos efeitos e não às causas. Um gen pleiotrópico seria aquele que, à semelhança dos demais gens, atuaria de maneira específica modificando estruturas fundamentais das quais dependeria o desenvolvimento ulterior de outras partes do organismo. E desse modo uma única intervenção oportuna do gen poderia exercer uma influência secundária capaz de modificar de maneira mais ou menos profunda e variada diferentes caracteres do organismo. Entretanto, essa nova definição de gen pleiotrópico não suprimiria a idéia de ação localizada. Apenas a recuaria para uma estrutura mais primitiva de um estado menos avançado do organismo em desenvolvimento. Aliás, conforme afirma HAMBURGER (1942), o começo lógico de uma pesquisa sobre o modo de ação do gen do ponto de vista embriológico está em se procurar acompanhar a modificação estrutural condicionada pelo gen, até o ponto em que ela primeiro desvia visivelmente do curso normal do desenvolvimento.

Os múltiplos efeitos do gen "creeper" na galinha são devidos a uma perturbação geral do desenvolvimento do embrião em consequência de uma deficiente nutrição dos tecidos resultante de notável anomalia circulatória. De posse desses conhecimentos CAIRNS (1941) conseguiu reproduzir em indivíduos normais as malformações atribuídas ao gen "creeper", interrompendo experimentalmente as comunicações vasculares entre o corpo do embrião e o saco vitelino. Isso mostra que bastaria uma única intervenção gênica no sistema vascular do organismo para produzir por meios indiretos os conhecidos efeitos nos olhos, nas asas e em outras partes do corpo. É evidente que o gen deve intervir em tempo de desviar o curso normal do desenvolvimento do aparelho circulatório, atuando quer no corpo do embrião, quer nas paredes do saco vitelino. Porém, a partir de um certo limite além do qual seria tarde demais para agir, ele poderia entrar em ação cada vez mais prematuramente, impedindo a anastomose dos capilares vitelinos ou reduzindo o seu número, suprimindo algumas ilhotas sanguíneas da mesoderme no embrião de poucas horas de incubação, como até

mesmo poderia agir no disco germinativo antes da gastrulação. Mas, se a genética abrir mão do efeito direto do gen na parte do corpo em que o caráter se manifesta (asa, pata, olho), ela terá de ir recuando de órgão em órgão, de tecido em tecido, de célula em célula, até atingir o óvo — ponto de partida de todas as atividades que promovem a diferenciação do organismo e a caracterização de todas as suas partes. De fato, se o gen que interrompe uma nervura da asa de um Díptero não atua na nervura e sim na asa que se desenvolve, poderemos recuar sem inconveniente a sua ação para o esboço do disco imaginal da asa, ou para uma determinada célula da blastoderme que dá origem ao esboço, ou para a região do blastema que se converteu na célula em questão, ou, o que é o mesmo, para uma determinada área do citoplasma ovular. Quando a genética fizer esse recuo do caráter ao óvo ela terá na realidade feito um extraordinário avanço. Ela se terá pôsto de pleno acôrdo com a embriologia e com a fisiologia, terá abandonado uma dialética cheia de contradições que nada tem conseguido no sentido de uma verdadeira explicação dos seus fatos e se identificará com a biologia, da qual muitas de suas hipóteses a têm divorciado.

É um fato conhecido de longa data, que submetendo-se um organismo normal à ação oportuna de agentes adequados, se consegue reproduzir um grande número de formas inteiramente comparáveis às produzidas naturalmente pela atuação de gens bem conhecidos. Dêstes agentes o calor ocupa o primeiro lugar. Já em 1896 STANDEFUSS mostrara que pela aplicação de temperaturas extremas às crisálidas de Lepidópteros obtinham-se cópias bem caracterizadas de várias raças geográficas dêstes insetos. Embora a literatura registre de quando em vez alguns casos da mesma natureza em diferentes animais, foi sômente com a utilização da *Drosophila* que o problema pôde receber o tratamento que merecia. A essas reproduções não gênicas de caracteres condicionados por gens deu GOLDSCHMIDT o nome de fenocópias. (Para detalhes e literatura cf. GOLDSCHMIDT 1938). Esse autor, que foi, sem dúvida, o primeiro a dilatar e aprofundar as pesquisas nêsse campo, resume do seguinte modo o resultado dos seus trabalhos :

Submetendo-se larvas de *Drosophila* de determinada idade a temperaturas variando de 35 a 37 gr. C., as moscas resultantes exibem um grande número de variações somáticas e dentre estas numerosas fenocópias de conhecidas mutações. Praticamente aparecem cópias de quase todas as mutações dos pêlos, das asas e dos olhos, e bem assim, de algumas muta-

ções da forma do corpo e dos apêndices. Muitas fenocópias constituem uma série correspondente à formada pelos alelos múltiplos já conhecidos, bem como às que se poderiam esperar de certos gens dos quais não se descobriram ainda as formas alélicas. Conforme mostrou GOLDSCHMIDT, o que aliás era de se supor, os resultados obtidos dependem do grau da temperatura aplicada, da duração da aplicação, da constituição genética do indivíduo e do estado do desenvolvimento em que ele se encontra no momento de ser submetido à experiência. De todos esses pontos, o que me parece mais interessante é o último, isto é, o estado do desenvolvimento do organismo por ocasião do tratamento.

Ficou estabelecido que para produzir o seu efeito o agente deve atuar durante um determinado período da vida do organismo em formação, fora do qual o organismo deixa de reagir de maneira apreciável. Esse período no qual o organismo se mostra sensível às influências modificadoras, reagindo de maneira mais ou menos pronunciada de conformidade com as circunstâncias, foi chamado período sensível ou crítico. Não só a duração do período crítico varia, como também a sua localização relativamente ao tipo de fenocópia a ser produzido. Isto quer dizer, em outras palavras, que o organismo pode, por exemplo, se mostrar sensível num período muito limitado de sua vida larvária ou num período mais extenso e que esse período pode se achar mais próximo ou mais afastado do término do estágio larval. Assim, enquanto as fenocópias correspondentes à mutação "scalloped" só se conseguem fazendo a temperatura agir num período muito próximo da pupação, as fenocópias correspondentes às asas vestigiais e aos olhos "barra" têm um período crítico mais amplo e mais afastado do estágio pupal. Em muitos casos conseguiu-se evidenciar a coincidência que existe entre o período crítico e o desenvolvimento de estruturas larvárias responsáveis pela formação dos órgãos que aparecem modificados no adulto. Por exemplo, o período crítico para as alterações que reduzem o número das facetas oculares vai do instante em que os discos imaginiais dos olhos começam a se separar dos discos antenais até o início da diferenciação das facetas.

GOLDSCHMIDT, estudando os efeitos da temperatura na produção das fenocópias e comparando-os com os produzidos pelos gens correspondentes chegou a interessantes conclusões a respeito do modo de ação destes últimos. Os gens agriam no organismo à semelhança da temperatura, modificando a velocidade dos processos ou simplesmente das reações que nele se

desenvolvem. Porém, acompanhar GOLDSCHMIDT nesse terreno em que êle baseou a sua importante teoria, exigiria rever tôda a volumosa obra daquele autor, o que não cabe nos limites dêste pequeno trabalho. (Cf. PIZA 1944).

Os fatos relativos às fenocópias, de alta significação geral, são muito expressivos sob dois aspectos particulares: mostram de maneira bastante clara e irretorquível que as particularidades morfológicas que caracterizam os seres podem ser produzidas por fatores não gênicos e que a ação modificadora do caráter não atua diretamente na parte do corpo que o exhibe e sim num esboço ou primórdio já determinado, porém ainda lábil ou não conformado, que só mais tarde irá se desenvolver.

Com relação ao primeiro ponto, queremos assinalar, que à parte a questão da hereditariedade, que constitui outro problema, a morfogênese em si, ou seja, a elaboração de uma forma diferente da forma inicial, não é atributo de gens específicos e sim uma consequência de alterações na marcha geral dos fenômenos que se desenrolam no organismo todo. Havendo mais de um fator produzindo o mesmo efeito (gens, temperaturas, raios X, etc.), a especificidade evidentemente desaparece.

De todos os fatores capazes de produzir uma determinada forma, o que opera no organismo nas condições normais da vida é o gen. Mas por gen, na minha opinião, se deve entender todo o sistema que se constitui no momento em que o espermatozóide penetra no óvulo para fertilizá-lo, pois dêle depende a forma final do organismo. Esse sistema chama-se óvo. Uma mosca de asas normais seria aquela que tivesse para ponto de partida um sistema-óvo que poderemos chamar de "normal" com relação às asas. Uma mosca de asas vestigiais seria, por seu turno, aquela, cujo desenvolvimento partisse de um sistema-óvo "vestigial". Em qualquer dos casos o caráter considerado dependeria da constituição e do funcionamento do sistema inicial. O sistema-óvo, como qualquer outro sistema, é integrado por um certo número de órgãos, que trabalham desde o início na mais franca colaboração. (Citoplasma, condriossômos, cromossômos, plasmosômos, etc.) Quase nada sabemos a respeito do modo de ação de cada órgão e muito menos de suas relações funcionais. Quando, em consequência da especialização e da divisão do trabalho, um determinado órgão está exercendo uma certa atividade, ignoramos quais os outros órgãos de que aquêle mais depende para a consecução imediata do papel que num dado momento lhe cabe desempenhar. O que podemos de ante-mão afirmar é que sozinho, isto é, sem o concurso de outros elementos do sistema, êle nada poderá fazer.

nomina os órgãos vitais. Órgãos muito especializados, destinados ao desempenho de funções que não sejam vitais, para trabalhar ou se conservar em condições de poderem fazê-lo, dependem, em primeiro lugar, dos órgãos vitais e em segundo, de outros órgãos que com eles colaboram diretamente. Entretanto, o sistema pode ser privado dos órgãos não vitais, conservando-se em vida a despeito de não mais ser capaz de desempenhar o papel que de modo especial estava confiado àqueles órgãos. Quanto mais simples for o sistema, mais estreita será a dependência dos seus órgãos. Assim, um sistema constituído por dois órgãos apenas — e esse seria o mais simples de todos os sistemas — não poderá evidentemente privar-se de qualquer deles. Cada órgão do sistema pode por sua vez constituir um sistema menor. A célula, por exemplo, seria um sistema de dois órgãos, o citoplasma e o núcleo, cada um dos quais constitui um sistema menor. Sistemas, pois, se integram, para formar sistemas cada vez mais complexos. Os sistemas integrantes constituem os órgãos e o sistema integrado o organismo. Entretanto, para que um sistema seja considerado organismo é preciso que ele possa viver independentemente. Assim, uma célula vivendo independentemente na natureza é um organismo, integrada no organismo passa a ser apenas um órgão.

Com isso eu quis afirmar que tudo o que se passa no organismo é obra do organismo todo. Os órgãos são apenas os instrumentos por meio dos quais o organismo desempenha as suas funções. As funções, num sentido largo, são, pois, do organismo e não dos órgãos. Os dentes não mastigam; é o organismo que mastiga por meio dos dentes. Os pulmões não respiram; é o organismo que respira com o auxílio dos pulmões. Os intestinos não digerem e nem absorvem os produtos da digestão; é o organismo que o faz por intermédio daqueles órgãos. Seguindo a mesma ordem de idéias teremos que as chamadas funções gênicas da genética clássica não pertencem a órgãos especiais — os gens, e sim ao organismo todo. Os caracteres a eles atribuídos são na verdade produzidos pelo organismo funcionando como um todo.

Muitos genetistas, seguindo a teoria de GOLDSCHMIDT do modo de ação dos gens, pensam, como já disse, que cada gen espera o momento oportuno de entrar em atividade, o que só consegue quando os outros gens lhe tenham preparado o meio para isso. Portanto, se o gen tem um momento de entrada em ação, quer dizer que antes desse momento ser alcançado ele se acha em expectativa, isto é, em inatividade. (Cf. PIZA 1941).



Para substituir esse ponto de vista, a meu ver inaceitável, poderemos adotar um outro, muito mais lógico e em plena harmonia com os fatos não só da genética, mas de toda a biologia e bem assim, de acordo com os princípios básicos em que essas ciências se fundamentam. Esse novo ponto de vista consistiria em reconhecer, conforme mostrei em páginas anteriores, que todos os gens trabalham ao mesmo tempo em colaboração com os outros elementos da célula e que esse trabalho de conjunto modifica-se com o desenvolvimento nas diferentes partes do organismo. Essa maneira de encarar a questão é-nos imposta pelo exame dos resultados cada vez mais numerosos de investigações no campo da embriologia experimental e se nos apresenta como a única que no momento nos parece capaz de tirar a genética do artificialismo perigoso para o qual a compele vertiginosamente a teoria do gen corpuscular. Fundadores e construtores da genética clássica, haviam já vislumbrado o caminho que acabo de apontar, assumindo, porém, uma atitude de expectativa. (MORGAN 1924, 1934, STERN 1936, v. também comentário em PIZA 1941). O momento é, porém, chegado, de tomarmos decisivamente por essa via, nova e ampla, que nos conduzirá a uma compreensão bem mais biológica dos fenômenos de hereditariedade.

Um raciocínio muito simples vai mostrar-nos que os gens devem de fato trabalhar diferentemente nas diversas partes do organismo em formação. Tomemos primeiramente como premissas necessárias à compreensão do assunto, alguns fatos, que por constituírem verdadeiros axiomas da biologia, não exigem demonstração. Por exemplo: Uma célula nervosa é diferente de uma célula muscular e isso devido ao fato de cada uma delas ter seguido um rumo diverso na diferenciação. Ao se diferenciarem numa ou noutra direção as células se modificaram como sistemas, isto é, todas as suas partes se alteraram. O núcleo da célula nervosa é por conseguinte diferente do núcleo da célula muscular. Essa diferença não é uma simples diferença de forma; é também uma diferença de função e esta existiria mesmo que se não pudesse descobrir as divergências estruturais. Aliás, em muitos casos em que uma divergência real existe, quer entre células ou partes de células, quer entre organismos, nenhuma particularidade estrutural se pode encontrar responsabilizável por aquela divergência. Essa seria então uma divergência funcional, isto é, fisiológica. E desde que as funções sejam diferentes os órgãos responsáveis devem também sê-lo a despeito da nossa incapacidade em descobri-lo. Assim, os Clílios da mesma espécie, pertencentes a variedades que

se não conjuguem, são diferentes embora não possamos descobrir onde resida essa diferença; os cromossômos não homólogos de um indivíduo qualquer são diferentes apesar de se apresentarem, como frequentemente acontece, com as mesmas dimensões e as mesmas formas; o sangue humano, qualquer que seja o seu tipo, não acusa nenhuma particularidade estrutural que permita distingui-lo do sangue de outros tipos, a despeito de conhecidas diferenças.

Ao compararmos órgãos ou indivíduos devemos, pois, estabelecer uma distinção entre forma, estrutura e constituição. A forma e a estrutura podem ser diretamente apreciadas, ao passo que a constituição só o poderá por meios indiretos, ou seja, pela função. Da mesma forma, estrutura e constituição seriam por exemplo os órgãos correspondentes de dois indivíduos do mesmo clone ou nascidos da poliembrionia. Da mesma forma e estrutura, porém de constituição diferente, seriam os órgãos correspondentes de indivíduos pertencentes a espécies distintas. As glândulas mamárias da égua e da asna, as glândulas veneníferas da jararaca (*Bothrops jararaca*) e da calçaca (*Bothrops atrox*) estariam nesse caso. As diferenças que se não descobrem na forma e na estrutura dos citados órgãos, são reveladas pela composição química, pela dose mínima mortal ou pelo modo de ação dos produtos quando inoculados no mesmo animal. Também certos microorganismos indistinguíveis que só se deixam reconhecer pelo fato de serem patogênicos ou inócuos, por viverem em hospedes diferentes ou pelo seu comportamento em face de substâncias químicas que desdobram ou fazem entrar em fermentação, só divergem pela constituição. (Exemplos e bibliografia em ROBSON 1928). Tecidos e órgãos pertencentes a animais distintos podem, pois, ter a mesma forma e a mesma estrutura. A constituição, porém, será tanto mais diferente quanto mais afastado for o parentesco zoológico dos seres que se comparam.

O protoplasma é fundamentalmente o mesmo em toda a parte, como a vida é fundamentalmente a mesma onde quer que se manifeste. Mas, tanto o protoplasma como a vida diferem especificamente de conformidade com a diferenciação que se processa quer no organismo que se desenvolve, quer na espécie que evolui. E essa diferenciação responsável pelas divergências ontogenéticas ou filogenéticas, onde quer que se observe, interessa sempre ao organismo todo. Duas espécies distintas não diferem somente pelos caracteres que o especialista do grupo reconhece, mas integralmente. Todas as suas partes, mesmo aquelas indistinguíveis sob o ponto de vista da forma

ou da estrutura, são especificamente distintas. O mesmo se dá com os elementos anatômicos que constituem o organismo. Uma célula nervosa e uma muscular, embora fundamentalmente formadas das mesmas partes essenciais, diferem integralmente pela especialização. Sem perder qualquer de suas propriedades essenciais o protoplasma se diferencia em células distintas, da mesma maneira que o ser vivo, sem perder os atributos da vida, se modifica para formar as espécies. Uma célula nervosa e uma muscular do mesmo indivíduo são como duas espécies evoluídas de um ancestral comum: integralmente distintas. O citoplasma de uma é diferente do citoplasma da outra, assim como o núcleo de uma difere do núcleo da outra. O núcleo de uma célula nervosa difere do núcleo de uma célula muscular por todos os seus constituintes e assim teremos que os cromossômios da célula muscular são diferentes dos cromossômios da célula nervosa. E nem poderia ser de outra maneira. A diferenciação é da célula toda e não apenas de uma de suas partes. Não cabe nos conceitos da biologia a idéia de que só o citoplasma se diferencia, ficando o núcleo sempre o mesmo em todas as células. Se fosse assim, poderíamos dizer que uma célula nervosa tem núcleo muscular ou uma célula muscular núcleo nervoso, o que seria absurdo. O núcleo, na diferenciação celular, modifica-se tanto quanto o citoplasma. Os cromossômios, embora geralmente do mesmo aspecto, diferem de um tipo de célula para outro. Numa célula muscular eles são cromossômios musculares, numa célula glandular são glandulares. Em cada tipo de células os cromossômios desempenham uma função específica. Aliás, não seria cabível aceitar que a função dos cromossômios nas glândulas seja a mesma função que têm os cromossômios nas células nervosas. Os gens, por conseguinte, trabalham diferentemente nas diversas partes do organismo.

A historia do desenvolvimento dos animais a partir do ovo vai nos auxiliar a compreender o mecanismo da hereditariedade. Se acompanharmos a segmentação de um ovo de anfíbio, material que escolhemos devido ao grande número de dados experimentais que pode nos oferecer, iremos cada vez mais apreciando a inutilidade do conceito clássico da ação dos gens.

O óvulo dos Anuros apresenta dois hemisférios, um dos quais, o hemisfério animal, encerra o núcleo envolvido por citoplasma praticamente puro, ao passo que o outro, o hemisfério vegetativo, se acha tomado de vitelo, o qual, diminuindo de proporção, penetra até certo nível no hemisfério animal, em cuja periferia se nota uma camada de substância escura. Assim

constituído, o óvo dos Anuros têm uma simetria radial, isto é, qualquer plano que passe pelo eixo que liga os dois pólos o divide em duas partes sensivelmente iguais. As características dêsse óvo, devidas sobretudo à grande quantidade do material vitelino acumulado num dos hemisférios e à situação do núcleo e da substância escura no hemisfério oposto, não dependem de nenhum gen específico. São propriedades do óvo considerado como um todo. E visto que a extremidade anterior do embrião se forma do lado do pólo animal e a posterior do lado do vegetativo, segue-se que essa primeira e importante determinação relativa à posição da cabeça e da cauda do futuro ser resulta da polaridade do óvo e independe da ação de gens.

O espermatozóide fecundante penetra no óvo em qualquer parte de uma faixa relativamente larga do hemisfério animal. A cabeça e a peça intermediária, avançando para o centro dêsse hemisfério, arrastam um pouco da substância escura da periferia, a qual fica por algum tempo assinalando o caminho por elas percorrido. A penetração do espermatozóide no óvo provoca da parte dêste as reações que se traduzem por uma redistribuição das substâncias do citoplasma e que acabam pela determinação da bilateralidade e da dorso-ventralidade do futuro organismo e bem assim pelo estabelecimento da posição do primeiro sulco de clivagem. (V. crítica dêste ponto em NEE-DHAM 1942 p. 217 e seg.).

Todos êsses fenômenos de alta significação, que de maneira tão prematura determinam os lados direito e esquerdo, bem como as faces dorsal e ventral do organismo que vem de iniciar o seu desenvolvimento, a despeito da sua enorme importância, independem da ação específica de gens. São uma simples consequência de um comportamento global bio-físico-químico do sistema representado pelo óvo. Esse primeiro conjunto de fenômenos se conclui pela divisão completa do óvo segundo um plano que passa pelo seu eixo, em dois blastômeros perfeitamente iguais, com o que se encerra definitivamente a primeira etapa da vida do organismo, ou seja, a sua fase uni-celular. O organismo é agora inteiramente diferente do que era antes, pois passou a ser constituído por duas células que reagem entre si e com o meio, uma delas formando a metade direito do seu corpo e a outra a metade esquerda. A face dorsal dêsse organismo corresponde à face dorsal do óvo e continua assinalada pela presença do crescente cinzento que se formara nas proximidades do equador e em oposição ao ponto de entrada do espermatozóide e que bissectado pela clivagem, repartiu-se, sem alterar a sua posição, pelos dois primeiros blastômeros.

O segundo sulco divide o organismo de duas células por um plano longitudinal mediano perpendicular ao seu plano de simetria, transformando-o num organismo de quatro células, duas dorsais contendo a substância do crescente cinzento e duas ventrais destituídas dessa substância. Este organismo difere, por conseguinte, do precedente, por uma notável diferenciação do citoplasma de suas células. Apesar de se achar contida em duas apenas das quatro células do organismo, a substância do crescente cinzento é indispensável para que esse organismo, através de etapas sucessivas, chegue ao término de sua evolução, porquanto, sem ela, a gastrulação não seria possível e a série de acontecimentos que se desenrolam a partir do ovo, mais cedo ou mais tarde seria interrompida. Isso nos mostra como o organismo, considerado como um todo funcional, depende de suas partes.

O organismo de quatro células, diferentes duas a duas pela constituição do seu citoplasma, se converte em um organismo de oito células, sendo quatro menores (micrômeros) do lado do pólo animal e quatro maiores (macrômeros) do lado oposto. Essa diferença de tamanho entre as células anteriores e posteriores é mera consequência de uma divisão desigual e simultânea das quatro células do organismo que lhe deu origem. E essa divisão segundo um plano que passa acima do equador das células é simplesmente devida à concentração do vitelo no hemisfério vegetativo. Por conseguinte, tão acentuada e característica diferenciação do embrião de oito células é o resultado de uma conduta global do embrião de quatro células, que se dividiu desigualmente em virtude de uma causa mecânica que nada tem que ver com uma atuação específica de gens.

Além dessa diferenciação do tamanho das células, uma outra, de suma importância para os fenômenos que se vão seguir e que igualmente não é o trabalho de gens, refere-se à localização da substância do crescente cinzento somente em dois dos quatro blastômeros dorsais.

Depois de algum tempo todas as células do embrião se dividem segundo um plano meridional e o embrião se transforma em um organismo de 16 células, 8 menores encimando 8 maiores. Logo a seguir as células dos dois grupos se dividem por um plano perpendicular ao da divisão precedente e o embrião passa a ser constituído por 32 células. Já se nota a partir desse momento a influência retardadora do vitelo nos blastômeros inferiores. Daqui por diante as células pequenas passam a se multiplicar mais rapidamente que as grandes e tanto umas como outras perdem aquele ritmo inicial com que se di-

vidiam. Dentro em pouco o embrião se vê transformado numa blástula, ou seja, numa cavidade limitada em cima e dos lados por um grande número de células pequenas e tendo por assoalho um maciço formado por células que aumentam de tamanho daí para o pólo vegetativo.

Partindo do ovo e chegando à blástula vimos uma sucessão de organismos diferentes, constituídos por um número cada vez maior de células, funcionando como organismos e como organismos dando origem a formas cada vez mais complexas, em que os elementos anatômicos se vão diferenciando de outros pela repartição desigual de substâncias contidas no citoplasma celular e que em consequência disso, sem deixarem de ser partes integrantes do todo que constituem, vão se comportando diferentemente, uns se multiplicando mais depressa, outros mais devagar. E tudo isso, sem nenhuma intervenção específica de gens.

Os núcleos funcionam globalmente nas células em que se encontram e ainda plásticos, cada qual trabalha de acôrdo com os outros órgãos do sistema a que pertence, representado pelo citoplasma e pelas organelas e substâncias nêle contidas. Sendo todos iguais do ponto de vista gênico, os núcleos funcionam diferentemente segundo se acham numa célula pequena do pólo animal ou numa célula grande, carregada de vitelo, do pólo vegetativo. Tôda essa diferenciação que vai do ovo à blástula se processa sob a liderança do citoplasma, a cuja atividade o núcleo não faz mais que adatar-se. A segmentação do ovo é uma repetição de processos globais de sistemas compostos por órgãos cada vez mais numerosos (células), nos quais citoplasma e núcleo funcionam por seu turno globalmente, como partes de sistemas menores. O desenvolvimento ficaria bem definido com estas considerações de WIEMAN (1930) :

"The transformation of the single-celled fertilized egg into the multicellular embryo is a manifestation of protoplasmic activity in which cell formation serves the function of increasing the size of the organism and segregating protoplasmic substances, as a preliminary step in the differentiation of tissues and organs." (Pag. 62).

Vimos que não obstante passar por uma série de estádios diferentes o organismo do Anuro se vai formando sem que se possa atribuir a qualquer gen a responsabilidade pelas diferenciações assinaladas. Vejamos se daqui por diante os gens entram a trabalhar especificamente.

Todas as células da blástula têm o seu destino traçado. Depois que VOGT (1929) demarcou-lhe à superfície as chamadas áreas presuntivas, tornou-se fácil àqueles que se acham familiarizados com o desenvolvimento embrionário dos Anfíbios, reconhecer nelas as regiões que dentro em pouco deverão iniciar a formação da corda dorsal, da placa neural, da parte anterior e posterior do tubo digestivo, do tegumento, da mesoderme, das patas, dos olhos, dos ouvidos, enfim, das partes fundamentais (primórdios) dos diferentes órgãos da futura larva. Para isso, torna-se, porém, necessária, uma alteração na posição das células que formam a blástula, devendo umas se aprofundarem para constituir o encéfalo e a medula nervosa, o esqueleto e os músculos, o tubo digestivo, ficando outras à superfície para formar a pele e parte dos órgãos dos sentidos, a ventosa, etc. Essa profunda modificação começa por uma pequena depressão que se esboça medianamente na região dorsal da blástula, no limite dos hemisférios, ou mais propriamente, na região do crescente cinzento. As células da blástula, embora ainda não diferenciadas histologicamente e plásticas, pois que o seu destino pode ser experimentalmente alterado, possuem no embrião normal, uma determinação especial. Se elas se mantiverem nas posições que devem ocupar no decurso do desenvolvimento, acabarão inevitavelmente por se constituírem nas partes do corpo que se esperam das áreas presuntivas a que pertencem. Isso nos faz antever a influência que certas partes do corpo exercem na determinação de outras e o quanto a estrutura definitiva de uma célula depende de fatores extrínsecos.

Vimos um pouco acima, que na região do crescente cinzento, isto é, no ponto em que o meridiano dorsal da blástula cruza um paralelo que passa a pequena distância do equador, aparece uma depressão que marca o início da gastrulação.

Nos ovos em que o material vitelino acha-se mais ou menos uniformemente distribuído pelo citoplasma e em que, devido a isso, a segmentação, sobre ser total, pode ser mais ou menos igual, como no caso do *Amphioxus*, dando origem a uma blástula provida de ampla cavidade limitada por uma só camada de células, a formação da gástrula se desenvolve de maneira bastante simples: — por invaginação. A depressão que se forma à superfície (arquentério) vai-se aprofundando e invadindo a blastocele (cavidade de segmentação), até que as suas paredes se adaptam às paredes daquela. Nos Anfíbios isso não é possível em virtude do bloco espesso de células vitelinas que constituem a maior parte da blástula e que reduzem a blás-

tocele a uma pequena cavidade do hemisfério animal. O processo de gastrulação se desenvolve, pois, aqui, em grande parte, por epibolia. A cavidade inicial, estreita e arqueada para o pólo vegetativo, marca o começo de uma invaginação incompleta em que somente as células de seu bordo superior se dobram para o interior. Assim se esboça, na área ocupada pelo crescente cinzento, o lábio dorsal do blastopório. Aprofundando-se cada vez mais e invadindo a blastocele as paredes do arquentério se vão distendendo para os lados e progressivamente envolvendo o maciço formado pelas células vitelinas. O blastopório, cada vez mais arqueado, se completa e se reduz a um pequeno orifício circular obturado por um tampão vitelino. A gástrula está então, praticamente completa e nela se podem reconhecer os três folhetos germinativos, ou sejam, a ectoderme, a endoderme e a mesoderme.

Tôda a complicada série de acontecimentos que se terminam pela formação do organismo provido de um revestimento externo e de uma cavidade digestiva entre os quais se encontra a mesoderme, é a consequência de um processo global por que passou o organismo primitivo, isto é, a blástula, e se deve a um estímulo inicial que parte da região do crescente cinzento. Essa área, assinalada pelo lábio dorsal do blastopório, tem a extraordinária propriedade de provocar, numa blástula normal, a formação da cavidade que a transforma em gástrula. Sem o crescente cinzento a gastrulação não seria possível, o que mostra que para se constituir uma gástrula são necessárias, no mínimo, duas cousas: uma blástula capaz de reagir e uma substância capaz de provocar a reação. Essa substância, contida nas células do crescente cinzento, mais uma vez nos mostra o quanto o comportamento global do organismo pode depender da atividade específica de uma parte limitada do seu corpo. Essa atividade não se deve a gens. Os gens sendo os mesmos em tôda parte e a gastrulação começando sempre num determinado ponto da parede dorsal da blástula, torna-se evidente que a causa determinante desse fenômeno, que é uma causa localizada, não é gênica. E a prova de que não existem gens específicos atuando em determinado ponto da blástula para iniciar aí a formação da gástrula, está em que a transplantação do lábio dorsal do blastopório de uma gástrula para diferentes áreas do corpo de uma outra, nelas provoca a gastrulação, tomando parte no fenômeno (e isso é importante) não só os tecidos do doador, mas também os do hóspede. Há, por conseguinte, uma verdadeira indução exercida pelo tecido labial sobre os tecidos da gástrula que o recebeu. Dessa gastru-



lação induzida pode resultar um embrião secundário completo ao lado do embrião normal, o que valeu ao lábio dorsal do blastopório a denominação de "organizador" que lhe deram SPEMANN & MANGOLD.

É bastante claro que a ação indutora, ou evocadora como alguns preferem, desenvolvida pelo organizador, não é uma ação gênica no sentido clássico. Não há gens para a gastrulação e por conseguinte a indução da gástrula não pode ser atribuída a uma substância que se originasse do gen à maneira simplista com que, na opinião do genetista, aquela partícula miraculosa elabora um complexo químico tão intrincado como seja por exemplo uma antocianina. Não, aqui não há nenhuma "gastrulidina" de origem gênica. O que existe é uma substância, específica no sentido da indução que determina, produzida somente por determinadas células da blástula. Estas células diferentes das outras, não o são pelos seus gens e sim pela composição do seu citoplasma. O citoplasma do ovo é diferenciado e enquanto o núcleo, em todas as mitoses que efetua, se vai dividindo equacionalmente, dando sempre produtos do mesmo valor genético, o citoplasma vai, desde o início, repartindo diferencialmente as substâncias que contém. Somente as células que recebem o material do crescente cinzento e que vão formar o lábio dorsal do blastopório são capazes de provocar a formação de uma gástrula. Na ausência dessa substância, que a experiência pode eliminar, nenhum gen será capaz de produzir outra dotada da mesma propriedade e não haverá porisso gastrulação. O evocador contido no citoplasma das células do lábio dorsal do blastopório é uma substância química, que exerce a sua ação mesmo que as células que a possuem tenham morrido. A transplantação de tecidos mortos ou a inoculação de extratos, como se sabe, têm ação indutora.

Até aqui os gens ainda não agiram. Avancemos para ver se descobriremos o momento em que essas entidades entram em ação.

Se acompanharmos o desenvolvimento da gástrula vamos ver que ela se alonga e que aquelas áreas presuntivas assinaladas à superfície da blástula, algumas das quais passaram para o interior, tomam a situação dos órgãos que futuramente irão formar. Medianamente na região dorsal, logo acima do teto da cavidade gástrica, constitui-se, na mesoderme do embrião, a notocorda, assinalando a posição da futura coluna vertebral. Por sobre esta, na ectoderme, espessa-se a placa neural, que se transforma em goteira e depois em tubo destinado a dar origem às diferentes partes do sistema nervoso central. O tubo

neural produz lateralmente as vesículas oculares, que se invaginam para formar as cápsulas oculares, defronte de cuja bôca a epiderme se modifica para constituir o cristalino. Um pouco para trás a epiderme dá, para dentro, origem às vesículas auditivas e forma, na região ventral da cabeça, as dobras que irão constituir a ventosa. E assim, as brânquias externas, os sacos nasais, o estomodeum (intestino anterior), o proctodeum (intestino posterior), a cauda, as patas anteriores e posteriores se vão esboçando externamente de áreas presuntivas pré-estabelecidas, enquanto internamente os rudimentos do coração, do fígado dos tubos uriníferos e de outros órgãos vão por seu turno aparecendo. A arquitetura do organismo vai, dêsse modo, a pouco e pouco, delineando-se, à medida que os terrenos destinados à construção dos órgãos definitivos vão sendo demarcados. Nesse estado do desenvolvimento os órgãos são representados por rudimentos ainda não conformados e histologicamente não diferenciados, o que quer dizer que eles ainda não exibem nenhum traço marcante da estrutura que vão adquirir. Apesar disso, porém, cada esboço representa, desde já, o órgão que vai formar e nas condições normais não formará senão esse órgão. Entretanto, como de acôrdo com a idade da gástrula um esboço transplantado para um região diferente daquela em que se constituiu pode alterar o seu destino para dar origem, de conformidade com a sua nova situação, a um outro órgão, segue-se, que abaixo de uma idade crítica em que o destino do esboço se estabelece de modo definitivo para não mais ser alterado em situação alguma, as áreas prospectivas ou rudimentos orgânicos só possuem uma determinação que se pode chamar de "espacial" ou "de posição". O futuro do esboço que ainda não alcançou a determinação definitiva depende da sua posição no corpo do embrião. Se ele conservar o lugar que lhe compete, acabará por perder a plasticidade e então virá a ser, irrevogavelmente, o órgão que dele se esperava, onde quer que seja levado a se desenvolver. Caso contrário, poderá dar formação a um órgão inteiramente distinto.

A embriologia experimental demonstra que embora a zona mediana dorsal da gástrula possua uma certa tendência para se invaginar independentemente e formar o tubo neural, nas condições normais em que o desenvolvimento se processa esse tubo é induzido pelo contato das células da mesoderme que lhe ficam por baixo. Do mesmo modo, o contato da cápsula ocular com a ectoderme provoca a formação, por parte desta, do cristalino. São muitos os exemplos que poderíamos citar da ação dos organizadores no desenvolvimento. Partes embrionárias que

se vão diferenciando vão provocando a diferenciação de outras. Sem a gastrulação não se poderia esperar a formação do tubo neural e por conseguinte, do sistema nervoso, porque o desenvolvimento daquele tubo depende do contato da ectoderme com a mesoderme axial que resulta da invaginação das células do lábio dorsal do blastopório. Sem o tubo neural não poderíamos esperar a formação da vesícula ocular, porque esta não passa de um divertículo lateral da porção anterior daquele mesmo tubo. Sem a vesícula ocular não teríamos um cristalino, porque este resulta de um contato da cápsula ocular com a face interna da ectoderme adjacente. Há, por conseguinte, no organismo, uma série bem concatenada de acontecimentos, cada um dos quais depende de um acontecimento anterior e provoca o acontecimento seguinte.

Os órgãos ou tecidos (organizadores) vão agindo uns sobre os outros por intermédio dos evocadores, que, como sabemos, são substâncias químicas. A evocação do tubo neural se consegue, não somente com estratos do organizador respectivo, mas até com substâncias preparadas sinteticamente. Isso confirma a natureza química dos evocadores. E a ninguém consta que os evocadores sejam produtos gênicos. Não há gens específicos para a neurulação do embrião, nem também para a produção de uma cápsula ocular, de um cristalino, de um coração ou de um fígado. Porém, mesmo que assim não fôsse, isto é, que existisse, por exemplo, nas células do primórdio ocular, um gen cujo produto gozasse da propriedade de induzir as células ectodermais em contato com a cápsula ocular a modificarem a sua estrutura para se converterem na lente do olho, mesmo assim chegaríamos a resultados em desacôrdo com os preceitos estabelecidos pela genética clássica. De fato, sabe-se que a cápsula ocular transplantada para outras regiões do corpo da gástrula induz a formação do cristalino onde a ectoderme, nas condições normais, não deveria formar esse órgão. O mesmo acontece quando implantamos na área ocular do embrião um fragmento de tecido de valor presuntivo diferente, o qual, ao contato da cápsula ocular, se transformará em cristalino. Em linguagem genética esses resultados exprimem a maneira diversa do genótipo responder às influências do meio orgânico, de conformidade com a situação das células em que se encontram os gens. Assim, respondendo à atuação deste ou daquele evocador, isto é, deste ou daquele meio, entram em atividade gens de patas, de ventosa, de brânquias, de olhos, etc. Dêsse modo chegaríamos a um resultado bastante interessante, que é o seguinte: os gens sendo sempre os mesmos em toda a parte, o

que chama à atividade este ou aquele gen é um evocador específico (considerado para discussão como um produto gênico) diferente em cada parte do embrião. Porém, a causa criadora dessa diferença não encontra explicação nos arraiais da genética. Os motivos pelos quais na área presuntiva de olho trabalha o evocador de cristalino, na área de pata o evocador de pata, na de ventosa o de ventosa e assim por diante, o genetista não saberá explicar de maneira satisfatória. No entanto, a explicação existe: é que os evocadores não são produtos de gens específicos e sim substâncias elaboradas pela células funcionando como sistema, contidas no citoplasma e repartidas diferentemente.

Sabe-se, de outro lado, que depois de um certo tempo as áreas presuntivas do embrião tornam-se definitivamente determinadas para só constituírem os órgãos a que se acham normalmente destinadas. Decorrido esse tempo cessa a plasticidade do primórdio e o seu destino se fixa. Para onde quer que seja transportado, aí dará ele origem àquele mesmo órgão que daria se fôsse mantido na sua posição original. Provam-no as repetidas experiências de transplantação de rudimentos dos mais diversos órgãos do embrião. Em linguagem genética isso quer dizer que os gens passam também por importantes transformações no decurso do desenvolvimento embrionário. No princípio qualquer gen poderá indiferentemente entrar em atividade conforme o meio em que se encontrar a célula. Depois de algum tempo um certo gen recebe a determinação definitiva e a partir desse momento ele se torna prepotente e nenhum outro será capaz de intervir para mudar o rumo por ele imprimido ao esboço que se desenvolve, o qual acabará por constituir o órgão esperado onde quer que seja enxertado e a despeito da solicitação exercida sobre outros gens pelos evocadores ativos na região. Eis aí um conceito embriológico novo, deduzido do modo de ação dos gens: gens indeterminados ou plásticos e gens determinados.

Esse rápido escorço do desenvolvimento dos Anfíbios mostra-nos, sem que necessitemos discutí-las mais pormenorizadamente, as razões pelas quais existe um período crítico durante o qual os esboços de órgãos se mostram sensíveis às ações modificadoras do meio. É o período da plasticidade. Antes da sua determinação definitiva o primórdio submetido aos agentes modificadores pode mudar o seu destino e transformar-se num órgão diferente. Uma vez determinado o órgão como pata, como brânquia ou como olho, ele se constituirá em pata, brânquia ou olho, embora possa ser modificado em particularidades anatô-

micas que ainda não receberam a determinação. Quanto mais cedo na história do desenvolvimento de um esboço atue o agente modificador, tanto mais generalizada, naturalmente, a modificação. Depois que todas as partes do órgão que se desenvolve se acharem definitivamente determinadas, ainda assim ele poderá ser alterado em suas particularidades pelos fatores que agirem antes de se concluir a sua diferenciação histológica. Concluída esta, só será possível alterar a forma e o volume do órgão. Estamos, portanto, de posse dos elementos que nos farão compreender a produção das fenocópias pela ação da temperatura e de outros agentes e bem assim a maneira pela qual as mutações alteram os caracteres do indivíduo. Parece-me, que tanto num caso como no outro, o resultado obtido não se deve a uma alteração da velocidade das reações dos produtos gênicos operantes no organismo, como pretendem GOLDSCHMIDT e seus adeptos. Se o desenvolvimento de uma estrutura depende de um evocador e a produção deste se retarda, retarda-se igualmente o desenvolvimento de todas as estruturas que estiverem na dependência de evocadores produzidos por aquela. Essa retardação, contanto que não ultrapasse um certo limite tolerável, não deve provocar nenhuma modificação de estruturas. Além do limite de tolerância duas cousas podem ocorrer: ou o esboço inicia a sua diferenciação sem o estímulo do indutor e produz um órgão rudimentar ou mal conformado, ou perdendo a competência, não produz órgão algum. O que me parece muito pouco provável é que o esboço ainda indeterminado, em virtude de um atraso na produção do evocador que deve atingi-lo, possa receber a determinação de outro evocador. Nos Anfíbios isso não é possível porque a evocação se faz por contato do organizador com o esboço que deve ser determinado. Nos Insetos o desenvolvimento depende de substâncias que se difundem pelo ovo e depois pelo embrião. (SEIDEL 1936). Mas, que se saiba, essas substâncias não fazem senão ativar esboços determinados por processos que não foram ainda esclarecidos. Das inúmeras experiências que se conhecem de transplantação de discos imaginiais de todas as idades, pode-se concluir que a competência dos primórdios de patas, de asas, de antenas, de olhos, de peças bucais, etc. é bastante limitada, o que fala em favor de uma determinação intrínseca e muito precoce desses órgãos por meio de substâncias não difusíveis contidas nas células dos respectivos esboços. Isso contraria as idéias de GOLDSCHMIDT relativas ao modo de ação dos gens difundindo no organismo as substâncias que determinam os diferentes órgãos.

A determinação sendo intrínseca como parece, o destino do esboço só pode mudar se se operar nas células que o constituem uma modificação na composição das substâncias responsáveis pela determinação ou uma substituição de substâncias. (Cf. PIZA 1941, 1945). Uma mutação poderá produzir esse resultado e converter, por exemplo, uma antena em pata. Os fatores do meio e de modo particular a temperatura, podem influir de maneira acentuada sobre os fenômenos que se processam no organismo, aumentando ou diminuindo a solubilidade de certos corpos, ativando certas reações, alterando a permeabilidade da membrana nuclear ou celular e desse modo permitindo a difusão de substâncias que nas condições normais deveriam permanecer retidas nas células em que se encontram. A conversão natural ou experimental de uma substância determinante em outra ou a transposição de substâncias de um primórdio indeterminado para outro são, a meu ver, as causas das modificações estruturais do organismo devidas tanto às mutações como às influências do meio.

Vimos até agora que o desenvolvimento embrionário está quase concluído e a larva prestes a nascer e os gens ainda não entraram com o seu trabalho específico. Se a posição da cabeça e da cauda é determinada sem o concurso de gens; se o dorso e o ventre e bem assim os lados direito e esquerdo são determinados sem o concurso de gens; se a divisão desigual das células da blástula, a maior ou menor rapidez com que as células de cada hemisfério se multiplicam e a repartição diferencial de substâncias contidas no citoplasma independem da intervenção de gens; se a gastrulação, a neurulação, a subdivisão do corpo embrionário em terrenos de valor prospectivo diferente, a determinação definitiva dos esboços e por conseguinte a diferenciação histológica dos órgãos se processam sem a intervenção de gens específicos, é o caso de se perguntar para que servem então os gens?

Para que servem os gens? A resposta a essa pergunta vamos encontrar no estudo das galhas provocadas nas plantas pelos insetos e, mais uma vez, na embriologia experimental.

Galhas são excreções produzidas pelas plantas e que servem para abrigar, proteger e nutrir as larvas de certos insetos. Formam-se nas mais diversas partes do vegetal (ramos, folhas, flores, etc.), porém, sempre como resposta a um estímulo proveniente do inseto. Quer esse estímulo seja determinado por alguma substância inoculada nos tecidos da planta por ocasião da postura, quer provenha do ovo em desenvolvimento, ou da larva em crescimento, o certo é, que a forma das

galhas é tão característica para a espécie que a provoca, como qualquer de suas particularidades morfológicas ou anatômicas, servindo, porisso, muito bem, para a classificação. Onde quer que o inseto deposite o seu ovo, seja numa flor, numa fôlha ou numa haste, de plantas da mesma espécie ou de espécies diferentes, aí aparecerá sempre o mesmo tipo característico de galha. Por conseguinte, embora todos os tecidos da galha pertençam à planta que a produziu, as suas características morfológicas são-lhe rigorosamente impostas pela ação do evocador proveniente do inseto. E que a forma da galha não depende da planta e sim do inseto, vê-se também do fato de insetos pertencentes a espécies diferentes produzirem galhas diferentes na mesma planta. Vemos daí que a faculdade de formar uma galha pertence inteiramente ao organismo da planta. Ela a constitui com os seus tecidos, não contribuindo o inseto com parcela alguma do material utilizado na sua confecção. Entretanto o organismo vegetal obedece à risca ao plano arquitetônico traçado pelo inseto. E, segundo o inseto, isto é, de conformidade com o plano êle construirá uma galha desta ou daquela forma. A parte fundamental da galha, ou seja, a sua estrutura, é obra exclusiva da planta; a forma depende do inseto.

Temos aí um modelo que nos auxilia a entender o papel que cabe aos gens na formação do organismo. Suponhamos três espécies próximas de *Opiliões*, uma com a area III do escudo abdominal inteiramente desarmada, outra com essa área provida de dois tubérculos redondos e a terceira com dois altos espinhos na mesma situação dos dois tubérculos da segunda espécie. Embora nada saibamos a respeito da genética dos *Opiliões*, não seria descabida a assunção de que tubérculos e espinhos que ornaram o escudo de um grande número de espécies, sejam atributos gênicos. Uma mutação poderia dar um par de tubérculos a uma espécie de escudo primitivamente desarmado e uma outra poderia dar-lhe um par de espinhos altos e pontudos. Temos aqui que os gens não fazem senão alterar a forma de uma estrutura preexistente, que num caso produz tubérculos e no outro espinhos. Trabalhando, portanto, num substrato cuja existência independe dêles, os gens seriam capazes de modelar as particularidades pelas quais o tegumento de uma espécie difere do tegumento de outra. O tegumento em si não depende de gens. Porém se êle deve ser liso ou armado de pêlos, de tubérculos ou de espinhos, os gens podem decidir (Cf. PIZA 1941).

A embriologia experimental vem em auxílio das galhas para nos ajudar a compreender o papel desempenhado no or-

ganismo pelos gens. Assim, se fizermos a transplantação de um fragmento do tecido embrionário de *Triton taeniatus* destinado a formar as dobras neurais para a região lateral da cabeça de *Triton cristatus*, o tecido enxertado será induzido nessa nova situação a formar as brânquias externas. Estas, porém, serão do tipo das brânquias da espécie que forneceu o enxerto (*taeniatus*) e não daquela que funcionou como hóspede (*cristatus*). O tecido de *taeniatus*, portanto, que se destinava a produzir as dobras neurais se tivesse se conservado em sua situação original, recebeu da parte de *cristatus* a mesma indução que receberia se fôsse transplantado para o lado da cabeça de um embrião da mesma espécie. Aliás, sabemos que os organizadores agem inespecificamente, isto é, que o organizador de uma espécie é ativo para espécies diferentes, podendo o lábio dorsal do blastopório de um Anuro determinar a formação de um embrião secundário na gástrula de um Urodelo. O que o organizador faz é simplesmente induzir um esboço ainda não determinado a seguir na diferenciação certo rumo. A cápsula ocular, por exemplo, induz qualquer parte da ectoderme a produzir um cristalino, mesmo que essa parte se destinasse a formar um órgão bem diferente. O organizador traça o destino do primórdio, obrigando-o a se constituir em olho, ouvido, brânquia, ventosa ou boca. Sobre as particularidades menores do órgão induzido, ele não influi. Essas particularidades ficam a cargo do tecido que recebeu a indução. O organizador estranho pode converter em brânquias um primórdio de *Triton cristatus* que se destinava a produzir sistema nervoso. O que ele não pode, porém, é impor ao órgão induzido caracteres outros que os da espécie de que proveio o primórdio. Um primórdio não determinado será aquilo que o organizador fizer. Será brânquia ou será olho, será o que for, mas terá as características que teria se tivesse se desenvolvido no organismo que lhe deu origem. E uma vez imposto o rumo, o organizador deixa ao tecido enxertado a liberdade de produzir até mesmo os órgãos que a região induzida não possuía na espécie que determinou a indução. Isso fica bem claro quando se enxerta epiderme presuntiva de Anuro na região da boca de um embrião de Urodelo. A epiderme enxertada se diferencia em boca, porém boca de Anuro, e produz uma ventosa ventral que somente os Anuros possuem.

Vê-se assim o que é que se pode esperar dos gens. Os gens imprimem, segundo a proveniência, as características dos órgãos que se vão formando sem o seu concurso específico. O papel específico dos gens se faz sentir apenas na forma, nas dimensões, na coloração e em outras particularidades de



meno: importância de órgãos que se determinam por um mecanismo não gênico. Os organizadores formam e os gens conformam os órgãos. Os primeiros constroem os olhos, as ventosas, as patas ou a cauda; os segundos dão a essas partes do corpo os caracteres desta, daquela ou de ambas as espécies, variedades ou raças que contribuíram com o material com que se plasma o organismo.

Os conceitos de "campo morfogenético", de "campo de regeneração" e de "gradiente", (Cf. SPEMANN 1936, HUXLEY & DE BEER 1934, WADINGTON 1940, NEEDHAM 1942), ainda mal compreendidos, porém, perfeitamente estabelecidos, contrariam do modo mais cabal, a verbosidade simplista da genética. Se um órgão qualquer, como por exemplo uma pata, se desenvolve pela ação de produtos gênicos e sendo os gens sempre os mesmos em tôdas as células, não se poderá explicar a existência de campos vizinhos com potencialidades organofornativas diferentes e bem assim a existência de um gradiente de potencialidade dentro de cada campo. Aquêles conceitos, porém, falam em favor da existência de substâncias não difusíveis no citoplasma das células. O gradiente poderia ser então o resultado de uma divisão mais rápida das células da periferia do campo e tanto mais quanto menor se fôsse tornando a concentração de determinados elementos do citoplasma celular.

Firmemos agora o nosso conceito de gen. Em páginas anteriores procurámos mostrar que o gen não deve existir como partícula independente. Os argumentos favoráveis ao gen corpuscular são muito frágeis e pouco numerosos para contrabalançar os contrários. Evidências das mais diversas ordens levam-nos a considerar o gen como uma função do cromossômio, função esta que êle desempenha como um todo. Dizer-se que um cromossômio possui *n* gens significa, para nós, que, em circunstâncias diferentes, o mesmo cromossômio pode exercer *n* atividades distintas. Sob a influência de um evocador de patas o cromossômio desempenha a sua função "pata". Levado para o campo de ação do evocador de olho o mesmo cromossômio passará a exercer a função "olho". As translocações, deficiências e inversões, transformam, em graus variáveis, um todo em outro. Esse novo todo poderá continuar a desempenhar as mesmas atividades que tinha anteriormente, acrescidas de algumas que lhe foram induzidas pelo fragmento que recebeu como enxerto, pode perder algumas de suas funções, como pode adquirir propriedades inteiramente novas, isto é, que nenhum dos cromossômios envolvidos no fenômeno apresentava antes.

Em um trabalho anterior (PIZA 1941), tive a oportunidade de afirmar que "Um fragmento de cromossômio A desenvolvendo um complexo de atividades a pode soldar-se a uma fragmento de B cujas atividades se traduzem por b. Originar-se-ia assim um elemento composto, AB, cujas partes conservariam a sua independência morfológica, porém, reagindo uma sobre a outra, produziriam um efeito genético diferente que poderia ser representado por c. Esse novo efeito (c) poderia mascarar completamente os efeitos a e b, poderia apenas atenuá-los, como poderia permitir a manifestação somente de um ou de outro em graus variáveis". (Pag. 27-28). Isso mesmo foi repetido nas conclusões: "Uma translocação tem a significação de um enxerto. Se o fragmento enxertado conserva uma certa independência funcional ele atua como um cromossômio deficiente. Se, pelo contrário, adere intimamente ao porta-enxerto, cada qual exerce sobre o outro uma influência modificadora que pode traduzir-se por uma propriedade nova, que nenhum deles possuía separadamente". (Pag. 136). Esse mesmo tópico foi repetido em inglês à pag. 137: "A translocation has the significance of a grafting. If the grafted fragment maintains a certain functional independence it does act as a deficient chromosome. If, on the contrary, it adheres intimately to the host-chromosome, each one exercises against the other a modifying influence which may be expressed by a new property not yet showed by none of them separately".

Essas conclusões de caráter meramente teórico a que cheguei foram recentemente confirmadas por um interessante trabalho de DOBZHANSKY (1946). Esse autor, analisando os produtos obtidos de crossing-over entre três cromossômios II da *Drosophila pseudoobscura* verificou que a troca de partes entre esses cromossômios dava origem a efeitos genéticos inteiramente novos, que nenhum dos cromossômios possuía antes, quando em homozigose. A interpretação de Dobzhansky para os efeitos que ele chamou de "sintéticos" é inteiramente clássica". Aliás, trata-se de um dos mais eminentes representantes vivos da teoria do gen-partícula. Seja, porém, qual for a explicação que se possa dar aos resultados experimentais por ele obtidos, esses resultados têm para mim importante significação: confirmam objetivamente a minha asserção segundo a qual um cromossômio resultante da fusão de partes de dois outros, pode ter propriedades genéticas novas, isto é, que nenhum destes possuía anteriormente.

### SUMMARY

In the present paper the classical concept of the corpuscular gene is dissected out in order to show the inconsistency of some genetical and cytological explanations based on it.

The author begins by asking how do the genes perform their specific functions. Genetists say that colour in plants is sometimes due to the presence in the cytoplasm of epidermal cells of an organic complex belonging to the anthocyanins and that this complex is produced by genes. The author then asks how can a gene produce an anthocyanin? In accordance to Haldane's view the first product of a gene may be a free copy of the gene itself which is abandoned to the nucleus and then to the cytoplasm where it enters into reaction with other gene products. If, thus, the different substances which react in the cell for preparing the characters of the organism are copies of the genes then the chromosome must be very extravagant a thing: chain of the most diverse and heterogeneous substances (the genes) like agglutinins, precipitins, antibodies, hormones, enzymes, coenzymes, proteins, hydrocarbons, acids, bases, salts, water soluble and insoluble substances! It would be very strange that so a lot of chemical genes should not react with each other, remaining on the contrary, indefinitely the same in spite of the possibility of approaching and touching due to the state of extreme distension of the chromosomes moving within the fluid medium of the resting nucleus. If a given medium becomes acid in virtue of the presence of a free copy of an acid gene, then gene and character must be essentially the same thing and the difference between genotype and phenotype disappears, epigenesis gives up its place to preformation, and genetics goes back to its most remote beginnings.

The author discusses the complete lack of arguments in support of the view that genes are corpuscular entities. To show the embarrassing situation of the genetist who defends the idea of corpuscular genes, Dobzhansky's (1944) assertions that "Discrete entities like genes may be integrated into systems, the chromosomes, functioning as such. The existence of organs and tissues does not preclude their cellular organization" are discussed. In the opinion of the present writer, affirmations as such abrogate one of the most important characteristics of the genes, that is, their functional independence. Indeed, if the genes are independent, each one being capable of passing through mutational alterations or separating from its

neighbours without changing them as Dobzhansky says, then the chromosome, genetically speaking, does not constitute a system. If, on the other hand, the chromosome be really a system it will suffer, as such, the influence of the alteration or suppression of the elements integrating it, and in this case the genes cannot be independent. We have therefore to decide: either the chromosome is a system and the genes are not independent, or the genes are independent and the chromosome is not a system. What cannot surely exist is a system (the chromosome) formed by independent organs (the genes), as Dobzhansky admits. The parallel made by Dobzhansky between chromosomes and tissues seems to the author to be inadequate because we cannot compare heterogeneous things like a chromosome considered as a system made up by different organs (the genes), with a tissue formed, as we know, by the same organs (the cells) represented many times. The writer considers the chromosome as a true system and therefore gives no credit to the genes as independent elements.

Genetists explain position effects in the following way: The products elaborated by the genes react with each other or with substances previously formed in the cell by the action of other gene products. Supposing that of two neighbouring genes **A** and **B**, the former reacts with a certain substance of the cellular medium (**X**) giving a product **C** which will suffer the action of the latter (**B**). It follows that if the gene changes its position to a place far apart from **A**, the product it elaborates will spend more time for entering into contact with the substance **C** resulting from the action of **A** upon **X**, whose concentration is greater in the proximities of **A**. In this condition another gene product may anticipate the product of **B** in reacting with **C**, the normal course of reactions being altered from this time up.

Let us see how many incongruencies and contradictions exist in such an explanation. Firstly, it has been established by genetists that the reaction due to gene activities are specific and develop in a definite order, so that, each reaction prepares the medium for the following. Therefore, if the medium **C** resulting from the action of **A** upon **X** is the specific medium for the activity of **B**, it follows that no other gene, in consequence of its specificity, can work in this medium. It is only after the interference of **B**, changing the medium, that a new gene may enter into action. Since the genotype has not been modified by the change of the place of the gene, it is evident that the unique result we have to attend is a little delay without

serious consequence in the beginning of the reaction of the product of **B** with its specific substratum **C**. This delay would be largely compensated by a greater amount of the substance **C** which the product of **B** should find already prepared. Moreover, the explanation did not take into account the fact that the genes work in the resting nucleus and that in this stage the chromosomes, very long and thin, form a network plunged into the nuclear sap in which they are surely not still, changing from cell to cell and in the same cell from time to time, the distance separating any two genes of the same chromosome or of different ones.

The idea that the genes may react directly with each other and not by means of their products, would lead to the concept of Goldschmidt and Piza, in accordance to which the chromosomes function as wholes. Really, if a gene **B**, accustomed to work between **A** and **C** (as for instance in the chromosome **ABCDEF**), passes to function differently only because an inversion has transferred it to the neighbourhood of **F** (as in **AEDCBF**), the gene **F** must equally be changed since we cannot admit that, of two reacting genes, only one is modified. The genes **E** and **A** will be altered in the same way due to the change of place of the former. Assuming that any modification in a gene causes a compensatory modification in its neighbour in order to re-establish the equilibrium of the reactions, we conclude that all the genes are modified in consequence of an inversion. The same would happen by mutations. The transformation of **B** into **B'** would change **A** and **C** into **A'** and **C'** respectively. The latter, reacting with **D** would transform it into **D'** and soon the whole chromosome would be modified. A localized change would therefore transform a primitive whole **T** into a new one **T'**, as Piza pretends.

The attraction point-to-point by the chromosomes is denied by the present writer. Arguments and facts favouring the view that chromosomes attract one another as wholes are presented. A fact which in the opinion of the author compromises seriously the idea of specific attraction gene-to-gene is found in the behavior of the mutated gene. As we know, in homozygosis, the same gene is represented twice in corresponding loci of the chromosomes. A mutation in one of them, sometimes so strong that it is capable of changing one sex into the opposite one or even killing the individual, has, notwithstanding that, no effect on the previously existing mutual attraction of the corresponding loci. It seems reasonable to conclude that, if the genes **A** and **A** attract one another specifically, the attraction

will disappear in consequence of the mutation. But, as in heterozygosis the genes continue to attract in the same way as before, it follows that the attraction is not specific and therefore does not be a gene attribute. Since homologous genes attract one another whatever their constitution, how do we understand the lack of attraction between non homologous genes or between the genes of the same chromosome?

Chromosome pairing is considered as being submitted to the same principles which govern gametes copulation or conjugation of Ciliata. Modern researches on the mating types of Ciliata offer a solid ground for such an interpretation. Chromosomes conjugate like Ciliata of the same variety, but of different mating types. In a cell there are  $n$  different sorts of chromosomes comparable to the varieties of Ciliata of the same species which do not mate. Of each sort there are in the cell only two chromosomes belonging to different mating types (homologous chromosomes). The chromosomes which will conjugate (belonging to the same "variety" but to different "mating types") produce a gamone-like substance that promotes their union, being without action upon the other chromosomes. In this simple way a single substance brings forth the same result that in the case of point-to-point attraction would be reached through the cooperation of as many different substances as the genes present in the chromosome. The chromosomes like the Ciliata, divide many times before they conjugate. (Gonial chromosomes) Like the Ciliata, when they reach maturity, they copulate. (Cyte chromosomes). Again, like the Ciliata which aggregate into clumps before mating, the chromosomes join together in one side of the nucleus before pairing. (Synizesis). Like the Ciliata which come out from the clumps paired two by two, the chromosomes leave the synizesis knot also in pairs. (Pachytene). The chromosomes, like the Ciliata, begin pairing at any part of their body. After some time the latter adjust their mouths, the former their kinetochores. During conjugation the Ciliata as well as the chromosomes exchange parts. Finally, the ones as the others separate to initiate a new cycle of divisions. It seems to the author that the analogies are too many to be overlooked.

When two chemical compounds react with one another, both are transformed and new products appear at the end of the reaction. In the reaction in which the protoplasm takes place, a sharp difference is to be noted. The protoplasm, contrarily to what happens with the chemical substances, does not enter directly into reaction, but by means of products of its physiologi-

cal activities. More than that while the compounds with which it reacts are changed, it preserves indefinitely its constitution. Here is one of the most important differences in the behavior of living and lifeless matter. Genes, accordingly, do not alter their constitution when they enter into reaction. Genetists contradict themselves when they affirm, on the one hand, that genes are entities which maintain indefinitely their chemical composition, and on the other hand, that mutation is a change in the chemical composition of the genes. They are thus conferring to the genes properties of the living and the lifeless substances. The protoplasm, as we know, without changing its composition, can synthesize different kinds of compounds as enzymes, hormones, and the like. A mutation, in the opinion of the writer would then be a new property acquired by the protoplasm without altering its chemical composition.

With regard to the activities of the enzymes in the cells, the author writes : Due to the specificity of the enzymes we have that what determines the order in which they will enter into play is the chemical composition of the substances appearing in the protoplasm. Suppose that a nucleoprotein comes in relation to a protoplasm in which the following enzymes are present : a protease which breaks the nucleoprotein into protein and nucleic acid; a polynucleotidase which fragments the nucleic acid into nucleotids; a nucleotidase which decomposes the nucleotids into nucleosids and phosphoric acid; and, finally, a nucleosidase which attacks the nucleosids with production of sugar and purin or pyrimidin bases. Now, it is evident that none of the enzymes which act on the nucleic acid and its products can enter into activity before the decomposition of the nucleoprotein by the protease present in the medium takes place. Likewise, the nucleosidase cannot work without the nucleotidase previously decomposing the nucleotids, neither the latter can act before the entering into activity of the polynucleotidase for liberating the nucleotids. The number of enzymes which may work at a time depends upon the substances present in the protoplasm. The start and the end of enzym activities, the direction of the reactions toward the decomposition or the synthesis of chemical compounds, the duration of the reactions, all are in the dependence respectively of the nature of the substances, of the end products being left in, or retired from the medium, and of the amount of material present. The velocity of the reaction is conditioned by different factors as temperature, pH of the medium, and others. Genetists fall again into contradiction when they say that genes act like enzymes,

controlling the reactions in the cells. They do not remember that to controll a reaction means to mark its beginning, to determine its direction, to regulate its velocity, and to stop it. Enzymes, as we have seen, enjoy none of these properties improperly attributed to them. If, therefore, genes work like enzymes, they do not controll reactions, being, on the contrary, controlled by substances and conditions present in the protoplasm. A gene like an enzym, cannot go into play, in the absence of the substance to which it is specific.

The genes are considered as having two roles in the organism: one preparing the characters attributed to them and other, preparing the medium for the activities of other genes. At the first glance it seems that only the former is specific. But, if we consider that each gene acts only when the appropriated medium is prepared for it, it follows that the medium is as specific to the gene as the gene to the medium. The author concludes from the analysis of the manner in which genes perform their function, that all the genes work at the same time anywhere in the organism, and that every character results from the activities of all the genes. A gene does therefore not await for a given medium because it is always in the appropriated medium. If the substratum in which it operates changes, its activity changes correspondingly. Genes are permanently at work. It is true that they attend for an adequate medium to develop a certain activity. But this does not mean that it is resting while the required cellular environment is being prepared. It never rests. While attending for certain conditions, it operates in the previous ones: it passes from medium to medium, from activity to activity, without stopping anywhere.

Genetists are acquainted with situations in which the attended results do not appear. To solve these situations they use to make appeal to the interference of other genes (modifiers, suppressors, activators, intensifiers, dilutors, a. s. o.), nothing else doing in this manner than displacing the problem. To make genetical systems function genetists confer to their hypothetical entities truly miraculous faculties. To affirm as they do with so great a simplicity, that a gene produces an anthocyanin, an enzym, a hormone, or the like, is attribute to the gene activities that only very complex structures like cells or glands would be capable of producing. Genetists try to avoid this difficulty advancing that the gene works in collaboration with all the other genes as well as with the cytoplasm. Of course, such an affirmation merely means that what works at each time is not the gene, but the whole cell. Consequently, if it is the whole cell



which is at work in every situation, it follows that the complete set of genes are permanently in activity, their activity changing in accordance with the part of the organism in which they are working.

Transplantation experiments carried out between creeper and normal fowl embryos are discussed in order to show that there is no local gene action, at least in some cases in which geneticists use to recognize such an action. The author thinks that the pleiotropism concept should be applied only to the effects and not to the causes. A pleiotropic gene would be one that in a single actuation upon a more primitive structure were capable of producing by means of secondary influences a multiple effect. This definition, however, does not preclude localized gene action, only displacing it. But, if genetics goes back to the egg and puts in it the starting point for all events which in course of development finish by producing the visible characters of the organism, this will signify a great progress.

From the analysis of the results of the study of the phenocopies the author concludes that agents other than genes being also capable of determining the same characters as the genes, these entities lose much of their credit as the unique makers of the organism.

Insisting about some points already discussed, the author lays once more stress upon the manner in which the genes exercise their activities, emphasizing that the complete set of genes works jointly in collaboration with the other elements of the cell, and that this work changes with development in the different parts of the organism. To defend this point of view the author starts from the premiss that a nerve cell is different from a muscle cell. Taking this for granted the author continues saying that those cells have been differentiated as systems, that is all their parts have been changed during development. The nucleus of the nerve cell is therefore different from the nucleus of the muscle cell not only in shape, but also in function. Though fundamentally formed by the same parts, these cells differ integrally from one another by the specialization. Without losing anyone of its essential properties the protoplasm differentiates itself into distinct kinds of cells, as the living beings differentiate into species. The modified cells within the organism are comparable to the modified organisms within the species. A nerve and a muscle cell of the same organism are therefore like two species originated from a common ancestor: integrally distinct. Like the cytoplasm, the nucleus of a nerve cell differs from the one of a muscle cell in all peculiari-

ties and accordingly, nerve cell chromosomes are different from muscle cell chromosomes. We cannot understand differentiation of a part only of a cell. The differentiation must be of the whole cell as a system. When a cell in the course of development becomes a nerve cell or a muscle cell, it undoubtedly acquires nerve cell or muscle cell cytoplasm and nucleus respectively. It is not admissible that the cytoplasm has been changed alone, the nucleus remaining the same in both kinds of cells. It is therefore legitimate to conclude that nerve cell has nerve cell chromosomes and muscle cell, muscle cell chromosomes. Consequently, the genes, representing as they do, specific functions of the chromosomes, are different in different sorts of cells.

After having discussed the development of the Amphibian egg on the light of modern researches, the author says : We have seen till now that the development of the egg is almost finished and the larva about to become a free-swimming tadpole and, notwithstanding this, the genes have not yet entered with their specific work. If the head and tail position is determined without the concurrence of the genes; if dorso-ventrality and bilaterality of the embryo are not due to specific gene actions; if the unequal division of the blastula cells, the different speed with which the cells multiply in each hemisphere, and the differential repartition of the substances present in the cytoplasm, all this do not depend on genes; if gastrulation, neurulation, division of the embryo body into morphogenetic fields, definitive determination of primordia, and histological differentiation of the organism go on without the specific cooperation of the genes, it is the case of asking to what then the genes serve ?

Based on the mechanism of plant galls formation by gall insects and on the manner in which organizers and their products exercise their activities in the developing organism, the author interprets gene action in the following way : The genes alter structures which have been formed without their specific intervention. Working in one substratum whose existence does not depend on them, the genes would be capable of modelling in it the particularities which make it characteristic for a given individual. Thus, the tegument of an animal, as a fundamental structure of the organism, is not due to gene action, but the presence or absence of hair, scales, tubercles, spines, the colour or any other particularities of the skin, may be decided by the genes. The organizer decides whether a primordium will be eye or gill. The details of these organs, however, are left to

the genetic potentiality of the tissue which received the induction. For instance, Urodele mouth organizer induces Anura presumptive epidermis to develop into mouth. But, this mouth will be fashioned in the Anura manner.

Finalizing the author presents his own concept of the genes. The genes are not independent material particles charged with specific activities, but specific functions of the whole chromosome. To say that a given chromosome has  $n$  genes means that this chromonome, in different circumstances, may exercise  $n$  distinct activities. Thus, under the influence of a leg evocator the chromosome, as whole, develops its "leg" activity, while within the field of influence of an eye evocator it will develop its "eye" activity. Translocations, deficiencies and inversions will transform more or less deeply a whole into another one. This new whole may continue to produce the same activities it had formerly in addition to those which may have been induced by the grafted fragment, may lose some functions or acquire entirely new properties, that is, properties that none of them had previously. The theoretical possibility of the chromosomes acquiring new genetical properties in consequence of an exchange of parts postulated by the present writer has been experimentally confirmed by Dobzhansky, who verified that, when any two *Drosophila pseudoobscura* II — chromosomes exchange parts, the crossover chromosomes show new "synthetic" genetical effects.

#### LITERATURA CITADA

- BOWEN, R. H. — 1929 — *The Quart. Rev. Biol.* 4 : 299-324, 484-519.
- BRACHET, J. — 1944 — *Embryologie chimique*. Masson & Cie., Ed. Paris.
- BRINK, R. A. — 1929 — *The Quart. Rev. Biol.* 4 : 520-543.
- CAIRNS, J. M. — 1941 — *J. Exp. Zool.* 88 : 481-500.
- CALKINS, G. N. — 1926 — *The Biology of the Protozoa*. Lea & Febiger. Philadelphia and New York.
- CARSON, H. L. — 1944 — *J. Morph.* 75 : 11-59.
- CARSON, H. L. — 1946 — *Genetics* 31 : 95-116.

- CHIARUGI, G. — 1929 — Trattato di Embriologia. Soc. Edt Libreria. Milano — Parte Prima.
- DOBZHANSKY, Th. — 1941 — Genetics and the Origen of Species Columbia Un. Press. New York.
- DOBZHANSKY, Th. — 1943 — Rev. de Agr. 18 : 387--396.
- DOBZHANSKY, Th. — 1946 — Genetics 31 : 269-290.
- GAYER, K. and V. HAMBURGER — 1943 — J. Exp. Zool. 93 : 147-194.
- GOLDSCHMIDT, R. — 1938 — Physiological Genetics. McGraw-Hill Book Comp. Inc. New York and London.
- GOLDSCHMIDT, R. — 1940 — The material basis of Evolution Yale Un. Press. New Haven.
- GOLDSCHMIDT, R. — 1946 — *Experientia* (Separatum), Vol II/6 : 1-40.
- HALDANE, J. B. S. — 1941 — New Paths in Genetics. George Allen & Unwin Lmtd. London.
- HAMBURGER, V. — 1942 — Biol. Symp. 6 : 311-336.
- HINTON, T. — 1946 — J. Hered. — 37 : 99-102.
- HUXLEY, J. S. and G. R. DE BEER — 1934 — The elements of experimental Embryology. Cambridge, At the Un. Press.
- JENNINGS, H. S. — 1938 — Proc. Nat. Acad. Sc. 24 : 112-120.
- JENNINGS, H. S. — 1939 — Genetics 24 : 202-233.
- JENNINGS, H. S. — 1939a — Amer. Nat. 73 : 414-431.
- JENNINGS, H. S. — 1942 — Biol. Symp. 8 : 105-119.  
Research. Columbia Un. Press. New York. 710-771.
- JENNINGS, H. S. 1942 — Biol. Symp. 8 : 105-119.
- JOHANNSEN W — 1926 — Elemente der exakten Erbllichkeit. Gustav Fischer, Jena.

JUST, F. E. — 1939 — The biology of the cell surface. P. Blakiston's Son & Co., Inc. Philadelphia.

KIMBALL, R. F. — 1939 — Amer. Nat. 73 : 451-456.

KIMBALL, R. F. — 1943 — The Quart. Rev. Biol. 18 : 30-45.

KODANI, M. — 1942 — J. Hered. 33 : 115-133.

KUDO, R. R. — 1931 — Handbook of Protozoology. Charles C. Thomas. Publ. Springfield (Illinois) and Baltimore (Maryland).

LILLIE, F. R. — 1923 — Problems of fertilization. The Un. of Chicago Press, Illinois.

MC CLINTOCK, B. — 1945 — Am. Journ. Bot. 32 : 671-678.

MINCHIN, E. A. — 1922 — An introduction to the study of the Protozoa. Edward Arnold, London.

MORGAN, Th. H. — 1924 — In Cowdry's General Cytology. Un. Chicago Press, Chicago, Illinois, 692-734.

MORGAN, Th. H. 1927 — Experimental Embryology. Columbia Un. Press. New York.

MORGAN, Th. H. — 1934 — Embryology and Genetics. Columbia Un. Press. New York.

NEEDHAM, J. — 1942 — Biochemistry and Morphogenesis. Cambridge, At the Un. Press.

OPARIN, A. I. — 1938 — The origin of life. The Macm. Comp. New York.

PIZA, S. de Toledo Jor. — 1930 — Localização dos factores na linina nuclear como base de uma nova theoria sôbre a hereditariedade. Irmãos Perches & Cia. Piracicaba.

PIZA, S. de Toledo, Jor. — 1941 — O citoplasma e o núcleo no desenvolvimento e na hereditariedade. Tip. Jornal de Piracicaba.

- PIZA, S. de Toledo, Jor. — 1942 — *Rev. de Agr.* 17 : 154-168.
- PIZA, S. de Toledo, Jor. — 1944 — *Rev. de Agr.* 19 : 26-50.
- PIZA, S. de Toledo, Jor. — 1946 — *Rev. de Agr.* 21 : 359-360.
- PIZA, S. de Toledo, Jor. — 1946a — *An. Esc. Sup. Agr. "Luiz de Queiroz"* 3 : 339-346.
- PIZA, S. de Toledo, Jor. — 1946b — *An. Esc. Sup. Agr. "Luiz de Queiroz"* 3 : 27-54.
- PIZA, S. de Toledo, Jor. — 1946c — *An. Esc. Sup. Agr. "Luiz de Queiroz"* 3 : 141-148.
- REICHENOW, F. — 1929 — *Lehrbuch der Protozoenkunde*. Gustav Fischer. Jena.
- RIS, H. — 1945 — *Biol. Bull.* 89 : 242-257.
- RIS, H. and Helen CROUSE — 1945 — *Proc. Nat. Acad. Sc.* 31 : 321-327.
- ROBSON, G. C. — 1928 — *The species problem*. Oliver and Boyd, Edinburgh and London. ●
- SEIDEL, F. — 1936 — *Verhandl. Deut. Zool. Gesell. Zool. Anz.* 9. Suppl. Bd : 291-336.
- SONNERBORN, T. M. — 1937 — *Proc. Nat. Acad. Sc.* 23 : 378-385.
- SONNEBORN, T. M. — 1938 — *Proc. Amer. Phil. Soc.* 79 : 411-434.
- SÖNNERBORN, T. M. — 1939 — *Coll. Net.* 14 : 77-84.
- SONNEBORN, T. M. — 1939a — *Amer. Nat.* 73 : 390-413.
- SONNEBORN, T. M. — 1941 — *In Calkins' Protozoa in Biological Research*. Columbia Un. Press. New York. 666-709.
- SPEMANN, H. — 1956 — *Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung*. J. Springer. Berlin.
- STERN C. — 1936 — *Amer. Nat.* 70 : 29-35.
- STURTEVANT, A. H. — 1945 — *Genetics* 30 : 297-299.

- 
- STURTEVANT, A. H. and C. W. BEADLE — 1940 — An introduction to Genetics. W. B. Saunders Company. Philadelphia and London.
- SWANSON, C. P. — 1943 — *Bot. Gaz.* 105 : 108-112.
- VOGT, W. — 1929 — *Arch. Entwmech.* 120 : 385-706.
- WADINGTON, C. H. — 1940 — *Organizers & Genes.* Cambridge, At the un. Press.
- WIEMAN, H. L. — 1930 — An introduction to vertebrate embryology. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York and London.
- WILSON, E. B. — 1925 — *The cell in development and heredity.* The Macm. Comp. New. York.