tro a este óbice insuperavel: — como isolar o núcleo em quantidade sufficiente para praticar uma anályse? depois, que complexidade inexcedivel apresentam as substáncias, que o compõem, para que o estabelecimento de reacções nítidas permitta fixar-lhes a composição? Entretanto a somma de trabalho gasto para chegar a uma solução é enorme, apesar dos resultados serem inteiramente problemáticos. Vejamo-los:

Os primeiros trabalhos de valor para o estudo chymico do núcleo, sam devidos a MIESCHER e datam de 1871. MIESCHER procurou luctar com as difficuldades de isolar o núcleo, analyzando o esperma do salmão; os espermatozoides quasi sam só constituídos pelo núcleo; a escolha do líquido espermático era portanto judiciosa; e conseguiu isolar uma substáncia particularmente rica em phósphoro, a que chamou — *nucleína,* e cuja anályse elementar é a seguinte:

Carbono	26,11
Hydrogénio	5,15
Azote	13,09
Oxygénio	36,06
Phósphoro	9,59

Daqui MIESCHER deduziu para a nucleína a fórmula unitária $C_{29}H_{49}O_{22}N_9P_3$.

Em 1876 R. HERTWIG admitte esta nucleína, mas designa por — *succo nuclear* outra substáncia, que existe no núcleo, e que se associa com aquella; a nucleína constituiria os nucléolos, accumular-se-hia mesmo muitas vezes á peripheria do núcleo numa camada parietal densa, mas como não existia só, a anályse do núcleo estava por completar; e a seu vêr do conjuncto das substáncias do núcleo sería até a nucleína aquella que nellas entra em menor quantidade.

Em 1878 O. HERTWIG concorda com este modo de vêr

e designa o conjuncto de substáncias nucleares que existem além da nucleína por — *Paranucleína.*

Em 1879 apparecem algumas observações de BALBIANI feitas no estudo da espermatogenese dos *Plasgióstomos* e dos *Mammíferos,* observações dirigidas num sentido, que mais tarde havia de ter grande desenvolvimento: BALBIANI admitte no núcleo duas substáncias claramente distinctas, tanto que alguns delles córam-se magnificamente pelo verde de methylo, emquanto que outros absorvem mais vivamente as côres do carmím.

Em 1881 BALBIANI publica novas observações confirmadas por HENNEGUY, que corroboram as anteriores, feitas na glándula hermaphrodita da *Helix:* a acção do verde de methylo e da eozina dá em resultado córarem-se de azul as cabeças dos espermatozoides e os núcleos das céllulas seminaes, emquanto que os óvulos novos e as suas vesículas germinativas tomam a côr de rosa; ficou assente a fraca affinidade das vesículas germinativas para o verde de methylo.

Em 1883 OGATA apresenta observações análogas, e ZACHARIAS publica uma série de trabalhos, que vinha realizando desde 1881, effectuados na *Tradescantia,* no *Ranunculus,* no *Phajus grandifólius,* etc., e descreve no núcleo as seguintes substáncias:

1) Uma nucleína soluvel nas soluções fracas de soda e no ácido chlorhydrico, que sería a nucleína de MIESCHER;

2) Outra nucleína difficilmente soluvel nestes reagentes mesmo que se concentrasse o ácido chlorhydrico, e que se chama — *Plastina;*

3) Uma mistura destas duas nucleínas constituindo — a *Chromatina;*

4) Uma substáncia albuminoide soluvel no álcool e no succo gástrico formando — o *succo nuclear.*

Como se vê os trabalhos de ZACHARIAS apresentam já para o núcleo uma composição muito mais complicada do que a que se deduz das analyses anteriores; e VAN BENEDEN a respeito da substância chromática mostra-se partidário de uma ideia que HENNEGUY apresentára annos antes estudando a segmentação dos *Peixes Osseos,* isto é, que a chromatina será um pigmento que imbebe ou os nucleofíos, ou os nucleomicrosomas, ou a membrana nuclear, modo de vêr que BRASS partilha na mesma épocha e em trabalhos do anno seguinte; mas ainda em 1883 PFITZNER dá tambem do núcleo uma descripção complicada:

1) Um retículo formado de *chromatina;*

2) Uma substância amorpha chamada —*parachromatina* susceptivel de affectar a fórma filamentosa no momento da caryocinese;

3) Nucléolos constituidos por outra substância differente — a *prochromatina.*

Em 1884 apparece um grande número de trabalhos muito importantes sob este ponto de vista: os primeiros sam os de FOL descobrindo a reacção ligeiramente alcalina da nucleína, a qual derivou da côr que tomam certos reagentes collocados em presença do núcleo. Essa côr é semelhante á que os mesmos reagentes apresentam quando se lhes junta uma pequena quantidade de substância básica; assim, o carmim aluminado toma uma côr lilás quando se lhe junta a soda, e dá tambem aos núcleos uma côr lilás; a hematoxylina dá nos dois casos uma côr azul; a ribesina uma côr azul-esverdeada, etc. Este resultado estava portanto colhido.

KOSSEL, por seu turno, repete a análise de MIESCHER do esperma do *salmão* e encontra números um pouco differentes, ao mesmo tempo que revela a existéncia ahi de uma pequena quantidade de enxofre, o que MIESCHER não tinha

feito; os números que encontrou foram os seguintes:

Carbono	40,81
Hydrogénio	5,38
Azote	15,98
Oxygénio	31,26
Phósphoro	6,19
Enxofre	0,38

MIESCHER por sua vês continúa as anályses e então modifica as ideias primitivas; para elle as nucleínas sam múltiplas, muito variadas e não uma só como a principio suppôs. Opéra então sobre glóbulos do pús, e lá encontra uma nucleína facilmente soluvel na soda, e uma nucleína difficilmente soluvel nesse álcali; entre as duas haveria aínda, a favor da primeira, uma certa differença na riqueza em phósphoro; por último nos glóbulos de pús e nos espermatozoides MIESCHER achou aínda uma terceira substáncia, que é digerida pela pepsina e contém phósphoro e enxofre; e comparando as reacções da nucleína dos espermatozoides do *Salmão* com a dos espermatozoides do *Touro* achou differenças sensiveis. MIESCHER emitte então o seu juizo: — no núcleo ha muitas nucleínas; donde ellas proveem é porém da combinação de uma mesma substáncia fundamental com outras substáncias particulares, que lhe imprimem caracteres tambem particulares.

Aqui é que MIESCHER encontra immediatamente uma forte opposição de HOPPE-SEYLER, de VORM-MÜLLER, de LUBAVIN; estes affirmam extraír das nucleínas de MIESCHER substáncias muito differentes pela acção demorada dos álcalis e dos ácidos diluidos; isolam assim o ácido phosphórico e obteem depois grande número de bases ricas em azote: — a *adenina* $C_5H_5N_5$, a *hypoxanthina* $C_5H_4N_4O$, a *guanina* $C_5H_5N_5O$, a *xanthina* $C_5H_4N_4O_2$. Neste mesmo anno em

que tanto se trabalhou, apparecem aínda, para serem completados no anno seguinte, observações de WIELOWIEJSK confirmando as de BALBIANI sobre a coloração diversa, que sob a acção dos mesmos córantes, apresentam os núcleos de algumas céllulas.

Em 1886 KOSSEL insiste novamente na multiplicidade das nucleínas: a nucleína extraída do ovo por MIESCHER e BUNGE é por elle comparada á dos núcleos e do leite, e encontra-lhes differenças nítidas; as nucleínas do ôvo e do leite decompõem-se pelos ácidos diluídos ferventes e não formam bases ricas em azote; a nucleína dos núcleos, pelo contrário, dá guanina e hypoxanthina. No mesmo anno, VAN BAMBEKE confirma ainda a differença de córação, que os núcleos differentes apresentam.

Chegamos assim a 1887 com a noção de que as nucleínas sam múltiplas, e este anno é, de todos, aquelle em que maior número de investigações chymicas apparecem, sobre tudo as de ZACHARIAS e de SCHWARZ.

Vejamos as principaes:

ZACHARIAS estuda os núcleos vegetaes primeiro, os animaes depois, e fundando-se nos resultados da digestão pelo succo gástrico e pelo ácido chlorhydrico, distingue no núcleo vegetal duas partes: — a *nucleína,* que fórma os elementos figurados, e a *plastina,* muito mais resistente que a primeira á dissolução naquelles agentes; o verde de methylo córaria tambem a primeira muito mais facilmente do que a segunda, e da primeira extraír-se-ía a guanina e a hypoxanthina. Nos núcleos ánimaes as coisas seriam semelhantes, mas ahi haveria uma terceira substáncia albuminoide: a nucleína formaria a rêde, a plastina o succo nuclear e uma mistura de plastina com um albuminoide indeterminado formaria os nucléolos; as investigações de ZACHARIAS incidiram sobre as céllulas de segmentação da *Rã,* do *Scyllium*

canícula e da *Gallinha;* comparando depois as céllulas reproductoras de differentes animaes, concluiu tambem que os elementos masculinos conteem muita mais nucleína que os femininos.

Como se vê a hypothese da composição muito complexa do núcleo ganha terreno e os trabalhos de FRANK SCHWARZ vam confirmá-lo amplamente.

SCHWARZ faz actuar os reagentes sobre a céllula no campo do microscópio, e no núcleo encontra cinco substáncias differentes, tal é a nitidez da differença com que se comportam a respeito das matérias chimicas. Essas substáncias sam:

1) a *Linina* [λινου, fio] correspondente ao nucleoplásma de STRASBURGER, á parachromatina de PFITZNER, que fórma os filamentos da rêde *(rêde de linina)* ou dos tubos nucleares;

2) a *Chromatina* formando granulações córadas nos filamentos de linina, correspondendo aos microsomas de STRASBURGER;

3) a *Paralinina*, substáncia homogénea intermediária, unindo os filamentos de linina;

4) a *Pyrenina* [πυρην, núcleo] formando os nucléolos verdadeiros de CARNOY;

5) a *Amphypyrenina* [αμφι, em volta πυρην núcleo], que fórma a membrana do núcleo.

Comparando as reacções destas substáncias com as dadas para a nucleína, vê-se que ha razão para as distinguir. Assim (1).

A nucleína tumefaz-se na agua distillada, bem como nas soluções alcalinas muito diluídas como o chlorêto de sódio, o sulfato de magnésio, o phosphato monopotássico e a agua de cal a 2 %; se as soluções empregadas destas substáncias

(1) HERTWIG, loc. cit., pag. 38.

forem mais concentradas, por exemplo a 10 %, a nucleína tumefaz-se primeiro e dissolve-se depois; a dissolução effectua-se aínda numa mistura de ferrocyanêto de potássio e ácido acético, nos saes ácidos concentrados, na digestão trypsica. O ácido acético em concentração de 1 a 50 % precipita-a e permitte distinguí-la num meio plásmico pelos seus grumos, dotados de um brilho particular e de uma refringéncia consideravel; estes córam-se bem pelas côres ácidas.

A pyrenina ou paranucleína, que SCHWARZ admitte como constante em todos os núcleos, formando os nucléolos, apresenta as seguintes reacções: não se dissolve em nenhum dos dissolventes da nucleína; adquire uma refringéncia notavel pela acção do ácido ósmico; córa-se bem pelas côres ammoniacaes.

A linina é insoluvel na solução saturada de sulfato de magnésio; a paralinina só se dissolve ahi em parte; a linina resiste á acção da pepsina, que dissolve a paralinina.

A amphipyrenina dissolve-se na solução de chlorêto de sódio a 10 % e mal na potassa diluída; não toma a côr de nenhum dos reagentes usuaes, nem ácidos, nem básicos.

A chromatina distingue-se da linina pela sua maior solubilidade no chlorêto de sódio a 20 %, no phosphato monopotássico, no ferro-cyanêto de potássio, onde a linina é insoluvel ou quási. Por fim o seu caracter mais saliente e notavel é a grande affinidade que manifesta para as matérias córantes.

Eis em resumo as conclusões de SCHWARZ, que HENNEGUY confirmou em parte por observações feitas em óvulos de *batráchios* e nas céllulas salivares do *Chironomus*. Como se vê ellas affectam um gráo de rigor até aqui inobtido, e acompanham-se de tal minúcia de reacções, que não póde contestar-se-lhes o alcance; a emissão de um juizo definitivo

a seu respeito só por uma verificação prática poderia fazer-se, mas na falta desta tem de concordar-se que os seus trabalhos sam de primeira ordem e que delles resulta incontestavelmente a complexidade da composição do núcleo.

Aínda neste anno de 1887 LUKJANOW confirmou as observações de BALBIANI sobre a coloração variavel dos núcleos, e portanto da existéncia nelles de substáncias chromatóphilas diversas, o que sob um certo ponto de vista condiz com as conclusões de SCHWARZ (1). Daqui por diante as observações dos cytologistas prendem-se mais especialmente á determinação do papel do phósphoro nas nucleínas.

Em 1888 e 1889 LIEBERMANN chegou a preparar artificialmente um corpo, tendo grande analogia com a nucleína de MIESCHER, combinando albumina com ácido metaphosphórico, mas reconheceu, com MALFATTI, que era extremamente variavel a quantidade de phósphoro que se fixava.

Depois ALTMANN, em 1889, levado por estas observações procurou analyzar a nucleína: precipitou-a pelo ácido acético, filtrou, e no líquido filtrado precipitou pelo ácido chlorhydrico e pelo álcool uma substáncia ácida; chamou-lhe — *ácido nucleínico,* e combinando este com a albumina reproduziu uma substáncia proteica com os caracteres da nucleína.

Ao mesmo tempo HERMANN e GUIGNARD confirmáram por novas investigações a differente córabilidade do núcleo, sendo as observações de GUIGNARD feitas na *Chara;* e KOSSEL, aínda no mesmo anno, extraiu tambem o ácido nucleínico da *levadura da cerveja,* e reconheceu que elle, tractado pelo ácido sulfúrico diluído, dá ácido phosphórico, guanina, adenina e um hydrato de carbono mal definido.

A seguir apparecem os trabalhos de AUERBACH em 1890,

---

(1) S. M. LUKJANOW: *Grundzüge einer Allgemeine Pathologie der Zelle.* Leipzig. Verlag von Veit u. Comp. 1891. Pag. 164 e segg.

que só se completam em 1891. AUERBACH procura sobretudo verificar as affirmações de BALBIANI já apontadas sobre a córação variável dos diversos núcleos que OGATA, WIELOWIEJSKI, VAN BAMBEKE, GUIGNARD, LUKJANOW e HERMANN tinham verificado já, e apurou que as observações de BALBIANI eram perfeitamente exactas. Effectivamente os núcleos não se comportam a respeito dos reagentes de fórma idéntica. AUERBACH admitte por isso no núcleo duas partes: — uma, *Cyanóphila,* possue grande affinidade para as matérias corantes azues, o verde de methylo, o azul de methylena e a hematoxylina; outra, *Erythróphila,* córa-se, pelo contrário, pelas matérias córantes vermelhas, a fuchsina, a eosina, a aurancia e o carmim. Na maior parte dos núcleos estas duas substáncias acham-se contidas em proporções quasi eguaes. Sam para elle núcleos hermaphroditas, porque a substáncia *cyanóphila* constituiria o elemento masculino, a *erythróphila* o elemento feminino. Examinando um grande número de glándulas sexuaes viu que nestes orgãos os espermatozoides reteem o azul: a cabeça dos espermatozoides toma uma côr azul intensa, o segmento médio e a cauda tomam uma côr mais ou menos vermelha. Os núcleos das céllulas femeas, pelo contrário, córam-se fortemente de vermelho, — os seus nucléolos sobre tudo. O phenómeno da fecundação resultaria portanto para AUERBACH duma mistura de substáncias *cyanóphilas* e *erythróphilas* (1). Vê-se, portanto, que a distincção no núcleo de muitas substáncias differentes é perfeitamente rigorosa.

Nesse anno de 1891, KOSSEL dá conta de novas anályses feitas no sentido de apurar a riqueza em phósphoro das nucleínas, e chega á conclusão seguinte: — é preciso distinguir dois grupos de nucleínas: 1.º as *Paranucleínas*, que sob

(1) HENNEGUY, loc. cit., pag. 94.

a acção dos ácidos diluídos se desdobram em ácido phosphórico e albumina; a este grupo pertencem a vitellina e a caseína; 2.º *Nucleínas propriamente ditas,* que nas mesmas condições se desdobram em albumina, ácido phosphórico e bases nucleínicas ou corpos xánthicos, — a xanthina, a hypoxanthina, a adenina e a guanina.

No mesmo anno SCHNEIDER e LÖWIT chegam a conclusões semelhantes pelo que respeita á complexidade do núcleo, e ALTMANN, admittindo a multiplicidade dos elementos descriptos por SCHWARTZ, teima comtudo em descobrir no núcleo grande número de granulações, que lhe constituiriam os elementos essenciaes.

No anno seguinte KOSSEL apresenta para a chromatina uma concepção análoga á descripta para a nucleína; a chromatina seria uma combinação de albumina com ácido nucleínico em proporções variadas, que seriam funcções do estado physiológico do núcleo. HEIDENHAIN apresenta a mesma opinião, mas julga que a paralinina provém de finas granulações existentes no succo nuclear e orientadas só no momento da multiplicação cellular para dar origem ás figuras achromáticas, unico momento em que se tornam revelaveis; designa-a por isso — *Lanthanina* (λανθανω estar escondido); KRASSER é da mesma opinião, depois de ter estudado o núcleo em repouso de muitas *monocotyledóneas* e *dicotyledóneas,* assim como o do *Pteris serratula* e das *Spirogyra.* Neste mesmo anno ainda ROSEN na *Scilla sibérica,* no *Hyacinthus orientalis* e na *Fritillaria foetida,* na *Marchantia polymorpha* e na *Gymnogramma chrysophila,* confirma de um modo geral as observações de BALBIANI e AUERBACH sobre a cyanophilia; STRASBURGER, porém, faz-lhe algumas restricções filiando sobretudo essas propriedades na nutrição; núcleos bem nutridos seriam — *erythróphilos;* núcleos de absorpção prejudicada seriam — *cyanóphilos.*

Por último, em 1893, REINKE volta a insistir nas granulações do succo nuclear, reiterando a opinião de que ellas formam as figuras achromáticas da caryocinese; chama á substância que as constituë — *Oedematina*. Hoje esta hypothese granular está totalmente abandonada; o proprio ALTMANN, num trabalho recente, confessa que as figuras achromáticas sam devidas aos filamentos da linina; a questão das granulações está portanto julgada. E com este resultado que até aqui colhemos assignalámos aínda outro; a diversidade de córação dos núcleos; logo sam complexos na sua composição. Ainda em 1893 ZOJA junta novas observações dos *infusórios ciliados;* a complexidade estará em harmonia com as descripções de SCHWARZ? É o que parece e é ao que se inclinam a maior parte dos cytologistas.

O assumpto hoje está nos termos seguintes: — A maior parte dos cytologistas pensam com ZIMERMANN e MALFATTI, que no núcleo ha um grande número de substáncias albuminoides; a lista dada por SCHWARZ póde muito bem ser aínda incompleta; no núcleo existe tambem uma substáncia rica em phósphoro, o ácido nucleínico, e entre as substáncias albuminoides isentas de phósphoro e este ácido, ha toda uma série de corpos nucleínicos contendo mais ou menos phósphoro. Estas substáncias do núcleo sam todavia sufficientemente especiaes para que apresentem caracteres differenciaes nítidos com todas as outras substáncias proteicas, mesmo as que contêem phósphoro: as substáncias do núcleo sam insoluveis no alcool a quente ou a frio, emquanto que a lecythina se dissolve nelle perfeitamente. O argumento mais poderoso que póde invocar-se em favor deste modo de vêr, e que não soffre em verdade contestação, é o que provém do facto das nucleínas serem separaveis em bases não phosphoradas e ácido nucleínico, separação que tem a sua prova flagrante na synthese que é possivel effe-

ctuar, como fez LIEBERMANN; de resto esta mesma anályse póde effectuar-se espontaneamente nas próprias céllulas; alguns elementos cellulares quando sam attingidos de necrobiose apresentam no logar do núcleo regiões, onde se reconhece, em vez da nucleína, as bases livres desta: xanthina ou hypoxanthina.

De harmonia com este modo de vêr estam observações de FRENKEL, aínda recentes, em 1894; e estam já as anteriores de LOEW, fazendo vegetar filamentos de *Spirogyra nitida* e *Spirogyra Weberi* em agua que contenha 0,1 % de phosphato de potássio. Os filamentos apresentam uma multiplicação cellular rápida, crescem velozmente; outros filamentos collocados como testemunhas na agua pura crescem com uma intensidade menor; ora a multiplicação dessas céllulas é, como em geral a de todas, uma funcção do seu núcleo; logo o fornecimento do phósphoro é util sobre tudo ás albuminas do núcleo, isto é, ás nucleínas.

Por outro lado as propriedades chymicas de diversas substáncias differenciadas por SCHWARZ mostra que, tanto mais ricas ellas sam em ácido nucleínico, tanto mais phosphoradas e tanto mais ácidas sam; a chromatina é muito rica em phósphoro e ella é francamente ácida; já a plastina, menos phosphorada, é menos ácida; a linina e a plastina sam-no aínda menos. A significação destes factos não póde ser outra senão a da conclusão formal: o núcleo é extremamente complexo sob o ponto de vista chymico; nelle ha substáncias muito variadas e de si mesmo já muito complicadas; provam-no as investigações da Cyanophilia e da Erytrophilia, provam-no as anályses delicadíssimas dos cytologistas; o que não é possivel é, no momento presente, assignar-lhe uma composição determinada ou acceitar sem restricções a anályse effectuada por qualquer dos biologistas, que della se teem occupado.

Para dar ideia da complicadísssima synonímia a que estes trabalhos deram origem resumo, no quadro seguinte, os termos principaes:

Nucleina [MIESCHER]

- *Nucleina soluvel* [MIESCHER, ZACHARIAS]
  - *Linina* [SCHWARZ]
  - *Nucleoplasma* [STRASBURGER]
  - *Parachromatina* [PFITZNER]
  - *Chromatina* [SCHWARZ, FLEMMING]
  - *Microsomas* [STRASBURGER]
  - *Paralinina* [SCHWARZ]
  - *Succo nuclear* [HERTWIG, ZACHARIAS]
  - *Enchylema* [HANSTEIN]
  - *Plastina* [ZACHARIAS]
  - *Lanthanina* [HEIDENHAIN]
  - *Oedematina* [F. REINKE]
- *Nucleina insoluvel* [MIESCHER, ZACHARIAS]
  - *Pyrenina* [SCHWARZ]
  - *Nucléolos verdadeiros* [CARNOY]
  - *Paranucleina* [HERTWIG, KOSSEL]
  - *Prochromatina* [PFITZNER]
  - *Amphipyrenina* [SCHWARZ]
  - *Membrana nuclear* (Todos os auctores)

V. — Novas granulações cellulares

Além das partes da céllula que até aqui tenho descripto, nestes últimos annos alguns cytologistas mencionam novas formações cellulares, que segundo uns seriam orgãos constantes da céllula, segundo outros seriam orgãos transitórios, accidentaes, apparecendo na céllula só em certos momentos da sua vitalidade. Esta divergéncia inicial mostra bem como serám differentes as interpretações que se dam a respeito do papel physiológico dessas granulações e portanto a confusão que ácerca dellas reina na cytologia. Vou vêr se comsigo descrevê-las por ordem chronológica:

Centrósomas: — Quando as céllulas se dividem por caryocinese nas extremidades oppostas da figura achromática chamada — *Fuso* apparece uma figura radiada, da qual irradiam, como dum centro, raios achromáticos, que semelham uma estrella, o que os cytologistas traduziram dando-lhe o nome de — *Aster;* e o exame do aster mostra que elle se compõe de duas partes distinctas: — um corpúsculo central e estrias finíssimas, que delle irradiam como os raios de luz irradiam de um astro luminoso.

Este corpúsculo central foi observado por VAN BENEDEN em 1874 nas espheras de segmentação dos ovos das *Dyciemidias* e por elle denominado *corpúsculo polar;* no anno seguinte FLEMMING encontrou-o no ovo das *Najades,* em 1875 e 1876 HERTWIG no da *Ursina,* em 1876 BÜTSCHLI nos da *Nephelis* e da *Limnea,* em 1879 FOL nos ovos de *Echinodermes* e de *Molluscos,* e em 1881 MARCK no *Limax agrestis;* nenhum destes auctores emittiu porém a respeito

delle juizo seguro e só em 1883, VAN BENEDEN, depois do estudo da *Ascaris megalocephala* apresentou do corpúsculo polar uma descripção rigorosa, a qual foi ampliada depois em 1887.

Para VAN BENEDEN o *Aster* compõe-se do corpúsculo polar e da figura radiada: ao primeiro chama *corpúsculo central* ou *centrosoma;* á segunda chama — *esphera attractiva.*

O centrosoma apresenta se ordinariamente como um gránulo refringente extremamente pequeno, que toca o limite das coisas visiveis, que muitas vezes não attinge o diámetro dos microorganismos mais insignificantes; córa-se vivamente por alguns reagentes, especialmente pelas côres ácidas da anilina, como a fuchsina ácida e a safranina; e nunca é possivel obter do centrosoma uma córação egual á que se obtem de qualquer das outras partes da céllula; por isso VAN BENEDEN apresentou o centrosoma como corpúsculo, que, pelas suas reacções histo-micro-chymicas, se differenceia, individualiza e separa de todas as outras formações cellulares. Fácil de perceber principalmente no momento da divisão cellular, o centrosoma é comtudo visivel tambem na céllula em repouso, já em plantas, já em tecidos animaes (Fig. XVI), muitas vezes alojado numa depressão da parede nuclear; a sua existéncia é portanto independente do *Fuso*, posto desempenhe na cytodiérese um papel notavel.

Quanto á esphera attractiva, ella é formada por uma pequena zona clara, mal limitada, apresentando uma refrangibilidade um pouco differente da do resto do protoplasma, na qual radiam pequenos filamentos incolores, que só nalguns casos fixam levemente algumas substáncias córantes; ás vezes a camada externa do protoplasma desta zona é mais fácilmente córavel do que a parte central; VAN BENEDEN chamou-lhe por isso — *camada cortical.*

Deste conjuncto descriptivo resulta que o *Aster* se compõe afinal de:— *centrosoma, esphera attractiva* (com ou sem camada cortical) e *raios incolores,* divergindo como os dum astro.

Fig. XVI — Leucócyto do peritoneu duma larva da *Salamandra.* A fim de tornar a figura mais nitida, cercou-se o corpúsculo central na esphera radiada dum halo claro, que na realidade não existe (segundo Flemming).

No mesmo anno em que van Beneden apresentou esta descripção, Boveri confirmou as suas descripções na *Ascaris,* e em 1887 e 1888 Vejdowski fez constatações notaveis no *Rhynchelmis limosella,* cujos ovos fecundados estudou. Para Vejdowski nesses ovos ha centrosomas mas derivados do espermatozoide; o óvulo não os conteria: a cabeça do espermatozoide depois de entrada no ôvo cercar-se-ia de uma camada de protoplasma especial, — o *periplasta,* que elle pensa provir da cauda do espermatozoide. Durante a conjugação do pronúcleo masculino com o feminino, o periplasta divide-se em dois periplastas-filhos, que se collocam nas extremidades do núcleo de segmentação e constituem as suas duas espheras attractivas; estas derivariam portanto do espermatozoide

Temos aqui já, como se vê, a confirmação da existéncia do centrosoma e uma tentativa para se lhe fixar a origem; Boveri acceita esta opinião de Vejdowski; para elle o espermatozoide introduz no ôvo um centrosoma, que se rodeia de uma massa especial de protoplasma, — o *archoplasma;* o centrosoma, como o archoplasma, dividem-se e dam as duas espheras attractivas do primeiro núcleo de segmentação.

Seja como fôr, nesse mesmo anno GARNAULT encontra o centrosoma nos ovos da *Helix* e VIALLETON nas céllulas de segmentação da *Siba;* chama-lhes — *manchas polares* e affirma tê-las visto dividir independentemente dos núcleos e tornarem-se os centros de formação dos *Asters.*

KOELLIKER em 1889 nos *Amphíbios*, observando-o aínda nos ovos, reconhece que o centrosoma existe ao lado do núcleo, mesmo quando a céllula está em repouso; no mesmo anno RABL encontra-o nos tecidos do *Tritão* e da *Salamandra,* mas no momento em que a divisão do núcleo vae iniciar-se. SCHULTZE em 1890 encontra-o nos blastómeros do *Axolotl;* HERMANN nos espermatócytos da *Salamandra;* daqui por diante a existéncia dos centrosomas vae encontrar-se noutros elementos cellulares differentes dos ovos.

Em 1891 SOLGER encontra as espheras attractivas nas céllulas pigmentares da pelle da *Solha* e do *Carapau.* No mesmo anno HERMANN dá novas descripções dos centrosomas das céllulas espermáticas em repouso da *Salamandra,* mostrando que elles se dividem; ambas as observações sam minuciosas. FLEMMING encontra-os nas céllulas dos tecidos da *Salamandra,* mesmo no estado quiescente: céllulas endotheliaes do peritoneu, endotheliaes do pulmão, céllulas conjunctivas do peritoneu e do mesentério; os centrosomas sam tam pequenos que apenas attingem o limite da visibilidade; ás vezes apparecem dois e esse facto deve ter-se como indício da próxima divisão do núcleo (Fig. XVII). GUIGNARD encontra o centrosoma nas céllulas vegetaes e dá ás espheras attractivas o nome de *espheras directrizes;* apparecem nas céllulas mães do pollen do *Lilium, Fritillaria, Najas, Listera,* esporanjios dos *Fetos* e dos *Isoetos,* sempre dois. HENNEGUY encontrou a mesma disposição nas céllulas embryonárias da *Truta.* GUIGNARD e FOL procuráram fixar a

origem dos centrosomas pelo estudo da fecundação das *Li-*

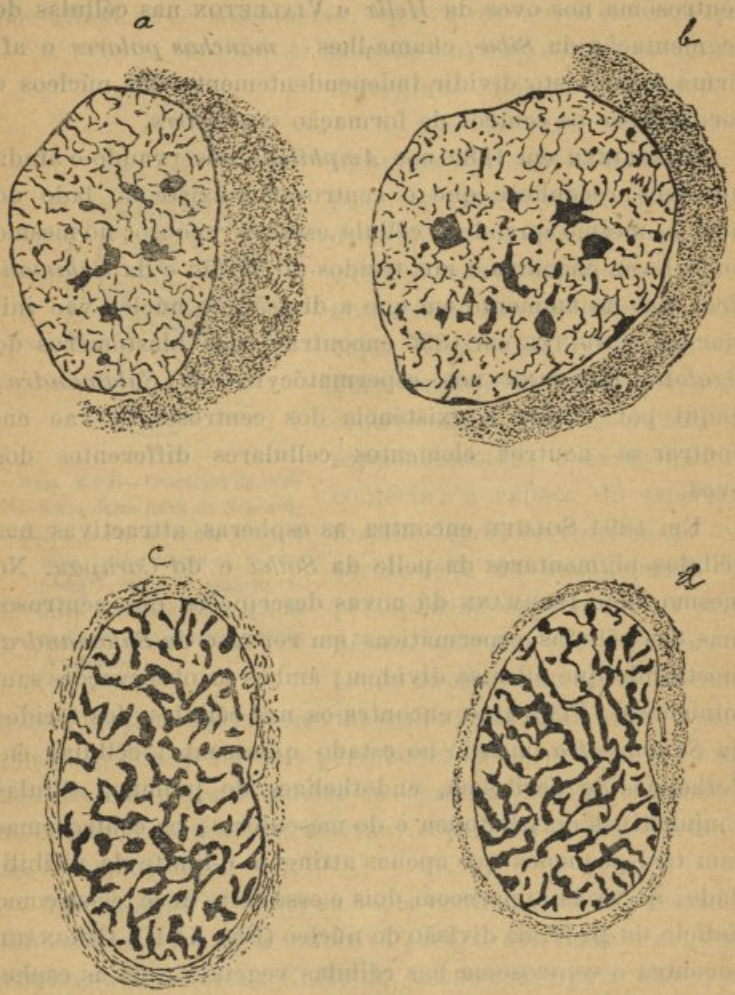

Fig. XVII — Núcleos de cellulas endotheliaes do peritoneu de larvas da *Salamandra*. Apenas uma parte do cytoplasma foi representada em negro diffuso. *a* e *b*): ao lado do núcleo vê-se um centrosoma no meio de uma pequena mancha clara; na figura *a* o controsoma desdobrou-se. *c* e *d*): núcleos no começo de divisão; os dois centrosomas estám em *d* reunidos por filamentos, os quaes serám a origem do fuso central (segundo Flemming).

liáceas e apresentam uma opinião differente da já emittida por VEDJOWSKI e BOVERI: para elles a cabeça do espermatozoide ou núcleo sexuado do grão do pollen, introduz no ovo um centrosoma masculino ou *Espermatocentro,* que se divide em dois. Cada um destes conjuga-se, funde-se com uma das metades do centrosoma feminino ou *Ovocentro.* Os productos fundidos sam os centrosomas do primeiro núcleo de segmentação; portanto, os centrosomas de todas as céllulas do organismo provêem simultaneamente do elemento masculino e feminino. BURGER aínda neste anno encontrou centrosomas em céllulas quiescentes, céllulas livres do *Amphiporus pulcher, latifloreus reticulatus;* mas BURGER, no anno seguinte, em 1892, considera os centrosomas effeitos ópticos e não formações reaes.

A opinião de BURGER não foi acceita; e logo nesse anno de 1892 apparece um grande número de trabalhos. FLEMMING encontrou centrosomas, durante a primavera, nas grandes céllulas de núcleos polymorphos ou *céllulas de* BELLONCI do testiculo da *Salamandra* e emitte a opinião de que talvez elles não tenham uma existéncia constante e sejam destinados a degenerar e desapparecer. HANSEMANN encontrou-os nas céllulas do mesentério do *Coelho* e do *Gato* recemnascidos, assim como nas céllulas embryonárias dos *tecidos cicatriciaes* e nas céllulas conjunctivas do *carcinoma do seio.* HEIDENHAIN achou-os nos leucócytos da parede intestinal da *Salamandra,* nas céllulas gigantes da *medulla dos ossos* e nos leucócytos da *expectoração* de um doente attingido de *Pneumonia.*

No anno seguinte, — 1893, — HEIDENHAIN estuda o problema com mais cuidado e junta alguma coisa de novo: admitte que a duplicidade dos centrosomas é a regra; ás vezes, porém, estám tão próximos que parece não formarem senão um único corpúsculo; mas na máxima parte das cél-

lulas ha dois e ás vezes é possivel ainda vêr, ao lado dos dois centrosomas, um corpúsculo accessório mais pequeno: um filamento tenuíssimo parece unir os três corpúsculos; constituë-se assim um systema triangular a que HEIDENHAIN chamou — *microcentro;* algumas vezes existe aínda uma quarta granulação e o *microcentro* toma a fórma de um tetraédro; ulteriormente, HEIDENHAIN descreveu nas céllulas gigantes da medulla óssea dos *mammíferos* microcentros constituídos por um número consideravel de centrosomas, — quarenta, sessenta e mesmo mais.

HENNEGUY no mesmo anno conseguiu verificar algumas destas descripções; nas céllulas conjunctivas de larvas do *Axolotl,* por exemplo, encontrou dois centrosomas unidos por filamentos, tomando o aspecto de um haltér; na camada lymphoide do fígado da *Salamandra* encontrou céllulas com um centrosoma único, outras com dois, mas então nas proximidades da divisão; outras aínda com um microcentro de três centrosomas semelhante ao descripto por HEIDENHAIN. HENNEGUY encontrou aínda o centrosoma nas céllulas emigradoras da cauda das larvas do *Axolotl* e nas céllulas quiescentes do testículo da *Salamandra* e do *Tritão.*

WATASÉ, neste mesmo anno, apparece aínda a considerar os centrosomas como uma varicosidade fibrillar, como um microsoma mais volumoso do que os outros, mas alguns observadores juntam novos factos positivos: LUSTIG e GALEOTTI encontram-os nas céllulas epitheliaes do *Carcinoma* e admittem a sua existéncia em todas as céllulas; BLOUE encontrou-os na *Truta,* e VOM RATH e HÄCKER na *Siba crystallina.* HÄCKER dá do centrosoma uma descripção minuciosíssima e descreve as variações notaveis porque elle passa durante a divisão caryocinética.

Durante a prophase a esphera attractiva apresenta-se com o seu aspecto mais habitual: — o centrosoma homogé-

neo é cercado por uma zona clara, fóra da qual se encontra uma zona granulosa, da qual partem as radiações do *Aster*. Quando começa a anaphase e os chromsomas se dirigem para os polos, a figura muda de aspecto. O centrosoma augmenta de volume; na sua parte central ha uma vesícula clara cercada de uma camada fortemente córavel; a zona medullar incolor desappareceu e é substituída por uma camada córavel exactamente applicada na peripheria do centrosoma. Fóra da camada córavel acha-se uma área incolor occupando o logar da camada granulosa córavel primitiva; emfim, fóra desta, ha aínda uma outra zona granulosa córavel.

Os centrosomas pequenos e a custo visiveis antes da divisão do núcleo, augmentam de volume durante esta divisão; tornam-se quatro vezes maiores; dividem-se ao mesmo tempo que a esphera attractiva, depois voltam ao estado primitivo. HENNEGUY, em investigações praticadas nas céllulas testiculares da *Helix aspersa*, da *Helix pomatia*, do *Pyrrhocoris apterus*, do *Caloptenus italicus*, da *Forficula* e da *Salamandra*, encontrou resultados harmónicos com os de HÄCKER e não rejeita por isso as ideias deste, que por outro lado quadram com o facto apontado por todos da visibilidade dos centrosomas no momento da caryocinese; acceita essas modificações do protoplasma em tôrno do centrosoma, as quaes dariam razão a STRASBURGER quando creou o cinoplasma.

BRAUER no mesmo anno encontrou centrosomas nas *Ascárides do cavallo*; na variedade *univalens* descreve-o dentro do núcleo; na variedade *bivalens* fóra; para BRAUER esta differença de localização é illusória: o centrosoma está sempre dentro do núcleo; no momento da multiplicação emigra para fóra delle; se duas multiplicações successivas sam próximas, é possivel observá-lo aínda fóra do núcleo; se sam

distantes, então a localização intranuclear é a regra; o que não offerece dúvida é que o centrosoma se divide com o núcleo. KARSTEN aínda no mesmo anno mostra-se partidário desta origem nuclear; JULIN é da mesma opinião, ISHIKAWA da contrária. As observações destes foram feitas nos *Noctilucos,* e outros protozoários; ISHIKAWA ao mesmo tempo que demonstrava a existéncia nestes de centrosomas, mostrava que eram independentes do núcleo. (Fig. XVIII).

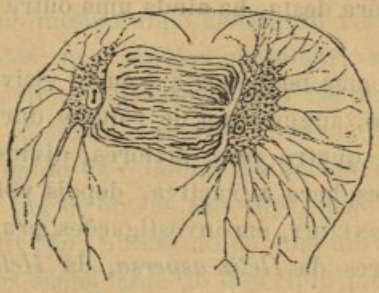

Fig. XVIII — Núcleo de um gommo de *Noctiluco* em via de divisão. Á direita um dos centrosomas está a dividir-se. Fixação pelos ácidos pícrico e acético; córação pelo azul de methylena (segundo ISHIKAWA).

Por último, aínda neste anno de 1893, HENNEGUY publíca os resultados das suas observações na parablasta da *Truta* e evidencía com elle o papel já attribuído aos centrosomas; estes seriam verdadeiros centros de attracção para os chromosomas.

Effectivamente, quando a divisão nuclear é tripolar ou quadripolar, observa-se uma disposição de chromosomas perfeitamente em harmonia com a força attractiva dos centrosomas; é o que, melhor que qualquer descripção, repre-

senta a Fig. XIX: os chromosomas do fuso — H são claramente influenciados pelo centrosoma — C. Estas observações vieram justificar asserções anteriores de DENYS (1886), HOWELL (1890), VAN DER STRICHT e VAN BAMBEKE (1892) sobre as figuras multipolares, que observáram nas céllulas gigantes da medulla óssea e que designáram por — *Polycaryocytos* e as de KOSTANEKI (1892), que encontrou figuras semelhantes nas céllulas gigantes do fígado embryonário

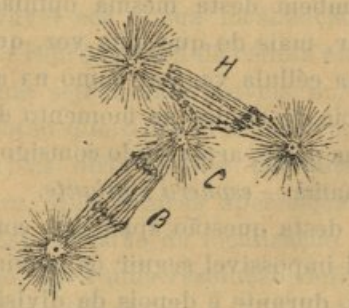

Fig. XIX — Núcleos parablásticos da *Truta*. O fuso *B* exerce uma acção perturbadora sobre a formação dos Dyasters do fuso H; a esphera attractiva *C* exerce uma acção sobre os chromosomas de *H* (segundo HENNEGUY).

dos *mammíferos*, as quaes designou por — *megacaryocytos*; essas figuras foram primeiro postas em dúvida; pois as descripções de HENNEGUY mostram que eram verdadeiras, ao mesmo tempo que evidencíam a acção directriz dos centrosomas.

Depois, em 1894, GUIGNARD apresenta novos resultados tendentes a mostrar que o centrosoma é extra-nuclear: nas céllulas quiescentes da *Sphacellária* elle existe fóra do nú-

cleo; nas da *Cerotoxamia* e da *Osmunda* é facil de ver durante a prophase, emquanto o núcleo está aínda intacto. No tratado de HERTWIG publicado neste anno de 1894, e que tanto tenho citado, mostra-se este auctor partidário da localização intranuclear (pag. 55 ; habitualmente o centrosoma fórma mesmo uma espécie de nucléolo mais notavel do que os outros, porque está differenciado para uma funcção importante; e só excepcionalmente elle apparece ao lado do núcleo a formar como que um núcleo accessório; isso só succede no momento da divisão cellular.

BRANDT é tambem desta mesma opinião e affirma ter podido constatar, mais do que uma vez, que o corpúsculo central, tanto na céllula vegetal como na animal, se transporta á superfície do núcleo no momento da divisão, e perfura a membrana deste, arrastando comsigo a esphera attractiva, que se chama — *esphera radiante.*

A resolução desta questão apparece, como se vê, muito difficil. É quasi impossivel seguir os movimentos dos centrosomas, antes, durante e depois da divisão do núcleo: — 1.º porque elles sam extraordináriamente pequenos; 2.º porque não foi possivel revelá-los sempre com o auxilio das matérias córantes; mesmo durante a divisão, a maneira principal porque nós os distinguimos é pelas radiações protoplásmicas que os cercam. Ora pela hypóthese da inclusão nuclear pleiteiam as seguintes razões, que HERTWIG apresenta: em primeiro logar, abstraíndo dum pequeno número de casos, o centrosoma não é visivel no seio do protoplasma; em segundo logar, no princípio da divisão o centrosoma apparece intimamente applicado contra a parede nuclear e só ulteriormente della se afasta para o seio do protoplasma; em terceiro logar, no momento da apparição do centrosoma, a membrana nuclear é frequentemente deprimida, como se houvesse uma expulsão de succo nuclear effectuada pelo

ponto em que o centrosoma se applicava contra ella; em quarto logar a apparição do centrosoma coincide em muitas céllulas com a desapparição dos nucléolos que sam corpos intranucleares.

Vê-se que se trata de uma argumentação rigorosa, e aínda ha pouco LEE, no estudo dos espermatozoides da *Helix*, constatou a falta de centrosomas (1); mas, se attendermos ao grande número de observações positivas, que apresentam a existéncia do centrosoma como verificada no estado quiescente dos núcleos, havemos de confessar que é possivel e provavel ser a sua localização extranuclear; ligados á funcção reproductora da céllula nada surprehende que os centrosomas sejam mais visiveis no momento della se effectuar; é então que o orgão se mostra, porque é então que elle é activo; as difficuldades téchnicas é que criam embaraços actuaes, que futuros aperfeiçoamentos decerto desvanecerám. Esta questão da localização do centrosoma transita, portanto, para uma resolução definitiva, a favor da localização extranuclear.

A questão da existéncia dos centrosomas é resolvida; os materiaes colhidos sam tam abundantes que a conclusão razoavel parece ser a de admittir que onde os centrosomas não foram aínda encontrados sê-lo-hão num futuro mais ou menos próximo. A questão da sua funcção parece tambem não dever deixar dúvidas: o centrosoma divide-se como o núcleo e exerce um papel attractivo sobre os chromosomas. A questão da sua origem essa é inteiramente obscura e, por emquanto, indeterminada.

---

(1) ARTHUR BOLLES LEE. *Sur le Nebenkern, et sur la formation du fuseau dans les spermatocytes des Helix. La cellule.* Tomo XI, pag. 226.

Para resumir a synonímia confusa dos auctores, affigura-se-me auxílio de valor o seguinte quadro de correspondéncias:

Corpúsculo polar . . .	[VAN BENEDEN]
Corpúsculo central . .	[VAN BENEDEN]
Centrosoma	[BOVERI]
Manchas polares	[VIALLETON]
Esphera attractiva . .	[VAN BENEDEN]
Archoplasma	[BOVERI]
Espheras directrizes . .	[GUIGNARD]
Espheras radiantes . .	[BRANDT]

*

Corpo vitellino de BALBIANI:—Nos óvulos de differentes animaes observou-se um corpúsculo especial, que apresenta caracteres distinctos de todas as outras partes do ôvo, não se confundindo nem com o núcleo ou vesícula germinativa, nem com o nucléolo ou mancha germinativa; esse corpúsculo foi primeiro observado por VON WITTICH em 1845, no ovo ovárico de certas *aranhas,* como a *Lycosa,* a *Tegenaria,* a *Thomisus,* etc. e foi descripto por elle como formado de camadas concentricas, periphéricas, cercando uma cavidade central bem distincta da vesícula germinativa, posto seja egualmente vesiculosa; em ovos postos VON WITTICH observou-o tambem.

Em 1848 SIEBOLD encontrou o mesmo corpo com disposição semelhante nos ovos da *Lycosa, Thomisus, Dolomedes, Salticus* e *Tegenaria* e considerou-o como um núcleo; cha-

mou-lhe por isso — *núcleo vitellino*. CRAMER observou-o nos ovos da *Rana temporaria*. Em 1850 CARUS encontra-o nos mesmos ovos e chama-lhe — *Dotterkern*. COSTE em 1850 encontra o *Dotterken* nos ovos ováricos da *Gallinha;* LEUCKART em 1858 observa-o novamente na *Rana temporária*.

A seguir, em 1864, BALBIANI estuda-o num grande número de ovos; designa este corpúsculo singular por — *núcleo vitellino,* como o havia feito SIEBOLD, e reconhece nelle uma vesícula mais pequena do que a germinativa mas cheia duma substáncia clara e límpida, na qual estam immersas diversas granulações, ás vezes uma só, central; em volta dessa vesícula ha protoplasma condensado, que ás vezes está cheio, tambem, de granulações. As suas observações sam numerosas e incidiram sobre um grande número de ovos: do *Geophilus longicornis,* da *Tegenária doméstica;* em muitas *aranhas* como a *Clubiona,* a *Attus,* a *Argus,* a *Lycosa,* etc.; num crustáceo, — o *Oniscus,* e num mollusco, — a *Helix*. Em 1867 MILNE EDWARDS encontra-o tambem e confirma a descripção de BALBIANI; para prestar homenagem a este, MILNE EDWARDS designa o núcleo por — *vesícula de* BALBIANI ou *vesícula embryogénica*.

A observação é tão geral, a vesícula de BALBIANI tam permanente, que já em 1871 RANVIER, na primeira edição francêsa do *Tratado de histologia* de FREY, se exprime a respeito della deste modo: — «resulta das investigações de BALBIANI, que na série animal, desde os *Insectos* até ao *Homem,* ao lado da vesícula germinativa se encontra constantemente um segundo núcleo, *céllula embryogénica* ou de BALBIANI». Effectivamente, a partir desta data as observações accumulam-se mostrando a presença da vesícula de BALBIANI em todos os ovos. Em 1872 BALBIANI e VAN BAMBEKE descrevem-na nos ovos ováricos dos *Peixes ósseos;* em 1879 BALBIANI publíca o conjuncto das suas observações e

mostra a existéncia da vesícula embryogénica nos *Cicádidos*, nos *Aleurados*, nas *Coccídeas* de alguns *Ichneumónios* — a *Pimpla*, o *Tryphon*, o *Ophion*, etc., nos peixes cartilagíneos *Raia*, *Squatina angellus*, nos óvulos do orgão de BIDDER do *Sapo*, nos óvulos da *Gallinha*, do *Pardal*, do *Pavoncino*, nos da *Cadella*, do *Gato*, do *Esquilo*, da *Vacca* e da *Mulher*; nos annos seguintes a lista accrescenta-se notavelmente e a vesícula de BALBIANI é encontrada: — em 1880 por SCHÄFER no *Coelho* e por VAN BENEDEN no *Vespertílio mystacinus*; em 1881 por GASPARIS na *Comatula*; em 1882 por EMERY no *Fierasfer*, por GÖTTE no *Asteracanthion glacial*, por HEUKING no *Trombidium fuliginosum*, por IIJIMA nos *Nephelis*, por IWAKAWA no *Tritão pyrrhogaster*; em 1887 por VALAORITIS na *Salamandra maculata* e REIN no *Coelho*, etc. A lista alastra-se quasi para toda a série animal e a vesícula de BALBIANI é descripta e figurada com todo o rigor (Fig. XX); dahi por diante os factos novos não teem senão confirmado a descripção de BALBIANI; taes sam os de RANVIER no *Rato*, os de HENNEGUY nos *Ratos*, *Cavias*, e outros vertebrados. A existéncia da vesícula de BALBIANI é admittida por todos, e para evitar confusões como no ôvo o núcleo se chama já — *vesícula germinativa*, é conveniente usar para esta formação novamente descripta um termo differente: serve o de *corpo vitellino* de BALBIANI, proposto por HENNEGUY.

Fig. XX — Corpo vitellino de *Lithobius forficatus* (segundo BALBIANI).

Das descripções de BALBIANI, que um grande número de observadores acceita, resultou a determinação da origem do corpo vitellino. A princípio BALBIANI considerou-o como uma verdadeira céllula, proveniente do epithélio follicular, que emigraria para o ôvo e ahi desempenharia as funcções de elemento masculino onde a fecundação faltava; seria o

corpo de BALBIANI que effectuaria esta; depois a sua influência far-se-hia sobretudo sentir na constituíção dos elementos plásticos do ôvo; esta hypóthese foi acceita por SIEBOLD, por CARUS, aínda por SABATIER, mas este ajuntou que o corpo vitellino se unía com o espermatozoide no momento da fecundação, para o exercício desta; MILNE EDWARDS acceitou este modo de vêr e exprimiu-o na sua designação de — *vesícula embryogénica.*

Muitos auctores porém repudiaram estas ideias e alguns, vendo-se na impossibilidade de assignar ao corpo vitellino um papel definido, limitáram-se a designá-lo por — *corpo enigmático;* outros suppozeram-no um producto da secreção interna do protoplasma; uma substáncia de reserva análoga a tantas outras, ao amylo, á aleurona; esse juizo emittiram ALLEN THOMSON primeiro, LUBBOCK, VON IHRING, SCHÜTZ, SCHIMKEWITSCH e MONTICELLI depois.

Afinal BALBIANI resolveu a questão. Nem as suas ideias primitivas eram verdadeiras, nem as emittidas depois o eram tambem; o corpo vitellino é de origem nuclear, provém da vesicula germinativa e ou desapparece pouco depois, sendo reabsorvido, como acontece na maior parte dos vertebrados, ou permanece excepcionalmente a ponto de se encontrar aínda nos ovos de alguns vertebrados, já em estado adiantado de desenvolvimento. Assim o encontráram já RANVIER no *Rato,* VAN BENEDEN no *Morcêgo,* REIN no *Coelho:* nos invertebrados a persisténcia é a regra; na *Tegenária,* por exemplo, elle é observavel no ôvo posto e depois aínda no embryão, e na nova aranha, onde se encontra na parte posterior e dorsal da região abdominal. Foi nos ovos desta mesma aranha que BALBIANI viu separar-se da vesicula germinativa um pequeno gommo esphérico de conteúdo granuloso; um pouco mais tarde este pequeno gommo nuclear afasta-se da vesícula germinativa e cerca-se inteiramente

de substáncia vitellina transparente; pouco depois esta substáncia condensa-se e fórma uma zona refringente e homogénea, no seio da qual apparecem estrias ou granulações concéntricas. Aínda recentemente HENNEGUY num Teleósteo, — o *Syngnathus acus*, — confirmou esta origem nuclear do corpo vitellino, a qual ficou resolvida.

Outro tanto não succede ao papel physiológico, que desempenha. A este respeito não ha factos apurados e os cytologistas perdem-se aínda na emissão de hypótheses gratuitas. BALBIANI considera o corpo vitellino como o centrosoma do ôvo, cuja esphera attractiva sería representada pela zona granulosa que o cerca; apenas este centrosoma sería destinado a desapparecer, porque a sua funcção é desnecessária; tanto que na maioria dos vertebrados tem uma existéncia fugaz; naquelles em que permanece, assim como nos invertebrados, toma um notavel augmento de volume, mas isso não representa senão uma fórma de desapparição por degenerescéncia hypertróphica. HENNEGUY considera-o como um micro-núcleo do ôvo; os restantes reservam-se a este respeito; esse ponto deve portanto considerar-se como totalmente por elucidar.

A synonímia que diz respeito ao corpo de BALBIANI é complexa, mas resume-se assim:

Núcleo vitellino ..... [SIEBOLD]
Dotterkern ..... [CARUS]
Vesícula de BALBIANI..... [MILNE EDWARDS]
Vesícula embryogénica ..... [MILNE EDWARDS]
Corpo enigmático..... [Vários auctores]
Corpo vitellino de BALBIANI .. [HENNEGUY]

*

Corpos fusiformes de Oscar Hertwig: — Em 1884, Hertwig encontrou nos óvos ováricos de vários amphíbios differentes producções vitellinas, fusiformes, hyalinas, que ora occupam uma posição próxima da vesícula germinativa, ora próxima da camada cortical, e cujo número, fórma e dimensões sam variadas; sam todavia, em geral, alongadas e fusiformes e, faltando nos ovos muito novos, sam entretante abundantes nos ovos adeantados, particularmente nos da *Rana temporaria,* que é onde se observam melhor; Hertwig encontrou-as tambem na *Rana esculenta,* mas nunca póde vê-las no *Bombinator,* nem no *Sapo,* nem na *Rella.* Jatta tinha já encontrado formações análogas em 1882 no *Asteracanthion* e Scharff em 1888 e van Bambecke em 1893 encontráram-nas nos *Peixes ósseos;* mas nenhum delles, como faz Hertwig, se pronuncía sobre a formação ou a significação destas producções. Ellas constituëm portanto um ponto de estudo a affectuar.

*

Reifungsballen de Stuhlmann:—Em 1884, Blochmann na oogénese de alguns hymenópteros como o *Campanotus ligniperda,* a *Formiga,* a *Myrmica, a Vespa,* notou que a vesícula germinativa produz por gemmação um grande nú-

mero de pequenas vesículas encerrando uma parte da rêde chromática do núcleo; estas vesículas transformam-se em núcleos volumosos, que se espalham no protoplasma e por fim degeneram. Em 1886 STUHLMANN verificou estas observações e constatou a veracidade dellas nos ovos de differentes insectos *Aphrophora, Musca, Periplaneta, Gryllotalpa, Locusta, Pieris, Sphinx* e ainda em muitas espécies de *Coleópteros* e *Hymenópteros;* vio perfeitamente a origem vesicular dessas formações e a sua degenerescéncia ulterior; considerou-as por isso como substituindo os glóbulos polares nos insectos e denominou-as — *Reifungsballen.* Em 1890, KORSCHELT na *Mosca,* LAMEERE no *Campanotus,* e ulteriormente ainda HENNEGUY na *Abelha* confirmáram as observações de BLOCHMANN e de STUHLMAN; mas ninguem se arrisca a suppôr verdadeira a interpretação deste, assim como ninguem se atreve a negá-la. Esperemos novas investigações e depois emittiremos juizo.

*

Os **Nebenkerne:** — Num certo número de céllulas apparecem ao lado do núcleo granulações, que os cytologistas teem apontado como núcleos accessórios; é preciso porém não comprehender nesta designação o micronúcleo dos infusórios. Sabe-se em verdade que os infusórios se distinguem dos outros animaes inferiores por um caracter muito curioso, o qual consiste em ser o seu apparelho nuclear differenciado em dois núcleos de valor physiológico desegual. Um dos núcleos é volumoso: chama-se — *macronúcleo* ou *núcleo propriamente dito;* outro é pequeno, insignificante e tem

sido chamado impropriamente — *nucléolo;* alguns cytologistas chamáram-lhe — *Micronúcleo* ou *Endoplástula* ou ainda *Núcleo sexual* (**Geschlechtskern de** Bütschli). Quando os infusórios estam bem alimentados, multiplicam-se por divisão transversal e, nesse momento, *macronúcleo* e *micronúcleo* alongam-se e dividem-se simultaneamente em dois; o *macronúcleo* é em seguida reabsorvido, desapparecendo totalmente como um orgão que terminou o seu papel, emquanto que o *micronúcleo* se conserva e se transforma em macronúcleo; o micronúcleo é portanto um verdadeiro núcleo, latente sim, mas de funcções innegaveis; e não deve por isso julgar-se incluído no capitulo que vou relatando. Aqui vou descrever um certo número de granulações encontradas muito recentemente nas céllulas e que os cytologistas teem chamado—*nucleos accessórios* ou *Nebenkerne;* granulações estas cujo papel é extremamente obscuro, o que aquella designação parece contradictar; tambem, por isso, eu implicitamente a rejeito quando subordino esta descripção ao titulo geral de *Nebenkerne.*

Em 1867 La Valette Saint-George descobriu nos espermatides das *cavias* e de alguns *molluscos,* na visinhança do núcleo, um corpúsculo refringente, de fórma globosa, arredondada ou oval, especial e constante. Chamou-lhe — *corpusculo brilhante* ou *refringente* e suppô-lo destinado a formar o capuz cephalico (Kopfkappe) do espermatozoide; mais tarde julgou que elle formaria a propria cabeça do espermatozoide.

Em 1868 Metchnikoff encontrou a mesma formação em vários molluscos e Balbiani no anno seguinte, ao estudar a espermatogénese do *Pulgão* acceita a segunda opinião de La Valette e chama ao corpúsculo brilhante — *Corpusculo cephálico* ou *vesícula espermatogénica.* Em 1871, Bütschli encontra-o nas céllulas testiculares de diversos *Coleópteros*

e *Orthópteros* e designa-o por — *Nebenkern;* depois um grande número de observadores encontram o mesmo corpo. MERKEL em 1874 observou-o nas céllulas testiculares de muitos vertebrados; julga-o destinado a formar a cauda do espermatozoide (Spitzenkopf) mas a sua opinião não é acceita: logo em 1878 GROBHEN encontra-o nos *Crustáceos,* em 1879 MATHIAS DUVAL na *Paludina vivípara* e outros *Molluscos,* filiando-se na opinião de BALBIANI.

Em 1881 e 1882 apparecem os trabalhos de NUSSBAUM sobre o assumpto, e este mostra que os *Nebenkerne* existem em muitas céllulas differentes das sexuaes; encontrou-os nas céllulas de diversas glándulas da *Rana esculenta, do Camarão,* da *Salamandra,* do *Tritão,* do *Argulus* e da *Anguinha;* e GAULE, no mesmo anno, annuncia ter descoberto nestes corpos uma verdadeira rêde nuclear.

Em 1883 OGATA estuda-os nas céllulas pancreáticas; quando o pancreas está em actividade, nas suas céllulas apparecem *Nebenkerne,* dos quaes uns se córam como o cytoplasma, outros como o núcleo. OGATA deduz deste facto uma interpretação nova: — os *Nebenkerne* seriam corpos análogos aos micronúcleos dos infusórios destinados a transformar-se em núcleos, quando o núcleo das céllulas degenere; tanto assim, que elles não apparecem nas céllulas pancreáticas em repouso, e de resto elles occupam quasi sempre a peripheria das céllulas; effectivamente LEYDIG aínda em 1883 os observou na peripheria das céllulas da glándula salivar da *Nepa cineria,* e em 1884 FLEMMING achou-os tambam nas glándulas lympháticas do *Boi* e do *Coelho* **(tingible Korper);** entretanto ninguem se pronuncia sobre a opinião de OGATA apesar de em 1884 DREW encontrar os corpos córaveis de FLEMMING nas amygdalas da *Cavia,* do *Bode,* do *Gato, e do Coelho,* MOEBIUS no páncreas do *Coelho* e da *Cavia,* SCHEDEL no thymo da *Vitella,* do *Bode,* do *Gato* e do *Coelho.*

Em 1885 PLATNER encontra os *Nebenkerne* nas céllulas do páncreas da *Salamandra,* mas não acceita a opinião de OGATA; suppõe por seu lado que elles provêem por gemmação do núcleo cellular e que sam destinados a desapparecer; no anno seguinte descreve os *Nebenkerne* nos espermatócytos dos *Lepidópteros* e *Gasterópodos pulmonados,* e ao mesmo tempo indica que nestas céllulas parece vêr-se a existéncia de pequenos filamentos unindo entre si as céllulas, como que lançadas do seio do protoplasma de umas através do protoplasma das outras.

Em 1887 LUKJANOW encontrou formações idénticas nas céllulas do epithélio e das glándulas do estomago da *Salamandra,* nas céllulas musculares da mesma e chamou-lhes — *formações nucleoides.* Em 1888 STEINHAUS encontra os *Nebenkerne* nas céllulas endotheliaes do intestino da *Salamandra* e inclina-se sensivelmente para as opiniões de OGATA sobre o seu destino; PRENANT no mesmo anno descreve, nas céllulas seminaes dos *Gasterópodos pulmonados,* os filamentos unidores das céllulas entre si, que PLATNER tinha indiciado; e HERMANN admitte a origem nuclear dos *Nebenkerne* depois de os estudar nos espermatozoides da *Salamandra.* Em 1890 NICOLAIDES e MELLISSINOS fizeram o estudo dos *Nebenkerne* nas céllulas do páncreas do *cão,* e admittem a origem nuclear delles, mas de modo nenhum a transformação ulterior em núcleos, que OGATA admittiu; depois, em 1891, ZIMMERMANN descreve os *Nebenkerne* nas céllulas da *Helix* e ao mesmo tempo encontra nestas os filamentos lançados de céllula a céllula, que PLATNER tinha apontado; chama-lhes laço cellular *(Zellkoppel).*

Em 1892 EBERTH e KARL MÜLLER estudam novamente os *Nebenkerne* no páncreas da *Salamandra,* da *Rã* e da *Solha,* encontram-nos, mas não se pronunciam nem sobre a sua origem, nem sobre o seu destino; limitam-se a affirmar que

não acceitam a opinião de OGATA sobre a sua pretendida transformação tardia em núcleos; a esta altura já ninguem duvida da existéncia dos *Nebenkerne* e realmente vê-se que assim deve ser; daqui por diante tambem póde dizer-se que toda a gente os encontra; em 1893 WER ECKE descreveu-os aínda no páncreas da *Rã* e do *Cão;* RANVIER nas céllulas do nódulo sesamoide do tendão de Achilles da *Rã;* HENNEGUY nas céllulas do páncreas e do intestino da *Salamandra* e nas céllulas hepáticas do *Camarão.* Aqui os *Nebenkerne* apparecem como um vacúolo pequeníssimo contendo no seu interior um corpo homogénio ou muitos corpúsculos em fórma de bastonetes, em volta do qual o protoplasma fórma tenuíssimas fibrillas, tendendo todas para se disporem em camadas concéntricas.

Estudando o *Nebenkern* nos espermatócytos do *Caloptenus italicus,* HENNEGUY encontrou esta mesma disposição; mas ahi observou mais o laço cellular de ZIMMERMANN, laço que ulteriormente desappareceu e que ficára algum tempo como vestígio da figura achromática; num estado avançado de divisão, ou melhor, quando esta está inteiramente terminada, o laço cellular desapparece e na parte central de cada céllula não fica senão uma pequena massa granulosa, que é o *Nebenkern;* este não é portanto mais do que um resto da figura achromática e HENNEGUY chama-lhe — *Parasoma* ou *corpo accessório.* HENKING apresenta uma descripção semelhante para a origem dos *Nebenkerne.* HENKING admitte na figura achromática duas ordens de filamentos: — o filamento do fuso *(Spindelfasern)* e filamentos unidores *(Verbindungsfasern);* restos destes filamentos é que constituïríam o laço cellular, e fascículos periphéricos destes ultimos com participação de alguns filamentos do fuso é que formariam o *Nebenkern.* Vê-se, portanto, que a reticulação descripta por GAULE em 1882 era verdadeira.

Hoje a descripção mais exacta que ha do papel dos *Nebenkerne,* e que muito os approxima dos centrosomas, é a dada por ZIMMERMANN (1).

No estado de repouso o *Nebenkern* apresenta-se como uma massa angulosa, córando-se com a mesma intensidade do cytoplasma, na qual se podem reconhecer algumas linhas mais escuras.

Na approximação de uma divisão cellular, o contôrno do *Nebenkern* torna-se indeciso e a sua substáncia mais homogénea; ao mesmo tempo veem-se sahir desta finos raios (feine, radiäre Strahlen). Á medida que estes raios se desenvolvem o *Nebenkern* diminuë, de sorte que se está bem auctorizado a concluír que elle se transforma numa figura radiada. O centro da radiação está intimamente applicado contra a membrana nuclear. Em seguida este systema radiar divide-se em dois. Os systemas radiares-filhos afastam-se um do outro, sempre ao longo da membrana nuclear mas sem nunca attingirem pontos diametralmente oppostos do núcleo; os seus raios cruzam-se mas não sam contínuos do centro duma figura radiar á outra.

Mais tarde, na successão dos phenómenos caryocinéticos, a membrana nuclear desapparece e forma-se o fuso. Então os *Nebenkerne*, já no estado de figuras radiadas, vam occupar os pólos do fuso; nenhumas das suas fibrillas porém se liga aos chromosomas.

Entrará o *Nebenkern* na formação do Aster? Algumas das fibrillas contribuirám para a formação do fuso, ou central ou periphérico? Servirám ellas para formar o laço

---

(1) Cit. por ARTHUR BOLLES LEE: *La céllule.* Tomo XI, 2.º fasciculo: *sur le Nebenkern e sur la formation du Fuseau dans les Spermatocytes des Helix,* pag. 226.

cellular? — É o que não é possivel decidir. Por emquanto, a respeito dos *Nebenkerne,* temos de nos limitar a admittir a sua existéncia, a confessar a indeterminação da sua origem e a suspeitar da sua participação na constituição das figuras de divisão cellular. É possivel, e é de crêr, que num futuro mais ou menos próximo, a sua estructura e a sua physiologia sejam determinadas completamente; se assim succeder para os *Nebenkerne* e para outras granulações figuradas, talvez se resolvam algumas das questões de biologia, que mais inexplicaveis teem permanecido até hoje.

A synonímia dos *Nebenkerne* é complicada, mas póde esclarecer-se com o quadro seguinte:

Corpúsculo brilhante ou refringente	[La Valette Saint-George]
Corpúsculo cephálico ..	[Balbiani]
Vesícula espermatogénica	[Balbiani]
Nebenkern	[Bütschli]
Formações nucléoides ..	[Lukjanow]
Parasoma	Henneguy]
Corpo accessório	Henneguy]

VI. — Constáncia do núcleo

Em 1868 Haeckel, depois do estudo dos organismos inferiores, annunciou que em grande número destes não existia núcleo. Dos organismos mono-cellulares Haeckel affirmou poder fazer duas grandes classes: — os *Cytodos* ou *Monéras* e as *Céllulas;* os primeiros seriam constituídos

apenas por um grumo de protoplnsma mais ou menos homogeneizado, em que se não havia effectuado aínda a differenciação nuclear; nos segundos esta estava realizada e as céllulas eram por isso organismos muito mais elevados do que os cytodos. Entre as monéras poderiam por exemplo collocar-se o chamado *Bathybius* ou *Protamoebae*, o *Protogenes*, o *Protomonas*, o *Myxodiction*, a *Protomyxa*, a *Vampyrella*. Approximando estes micro-organismos dos elementos anatómicos dos tecidos animaes, HAECKEL julgou-se no dever de dividir estes egualmente em Cytodos e Céllulas, creando todavia mais uma nova secção — *Fibras*. E como dos cytodos dos tecidos uns sam nús, outros sam providos de uma membrana, dividiu-os em *Gymnocytodos* e *Lepocytodos*. Fazendo o mesmo ás céllulas dividio-as em *Gymnocéllulas* e *Lepocéllulas*. Exemplos de cytodos seriam alguns elementos epitheliaes ou os glóbulos vermelhos do sangue dos *Mammíferos*. HAECKEL de resto acceitava tambem as ideias de VAN BENEDEN sobre as Bacteriáceas e, como elle, considerou-as pequenas monéras formadas de um protoplasma pouco differenciado, mistura íntima do núcleo e do protoplasma numa massa homogénea, como que formando a passagem dos corpos inorganicos aos corpos organizados; era essa mistura que VAN BENEDEN chamava *Plasson*. Ora ulteriormente num grande número de monéras encontrou-se o núcleo: nos *Myxastrum* e no *Actinophrys Sol.* encontrou-o GRUBER; nas *Vampyrella* encontrou-o ZOPF, etc. de modo que veiu a concluír-se que a descripção de HAECKEL e a sua divisão consequente não era mais do que o resultado de defeitos téchnicos e observações viciosas correlativas.

Pelo que respeita aos glóbulos vermelhos dos *Mammíferos* apurou-se depois que, á maneira do que succede num grande número de céllulas vegetaes, o núcleo desapparece

por effeito da evolução physiológica d'essas céllulas; sam céllulas chegadas ao ultimo termo das suas transformações normaes em que o núcleo, por degenerescéncia, desapparece, quando nenhum papel tem já de executar; é um orgão inutil, portanto inerte e portanto degenerado. Esta interpretação das coisas prejudicou tambem a descripção de HAECKEL. Certo é que alguns *infusórios* normalmente nucleados podem num dado momento apparecer privados de núcleo; observados neste instante seriam tomados como monéras; mas BALBIANI demonstrou bem que a falta do núcleo é perfeitamente accidental e que ella não significa senão um estado pathológico, uma mutilação destes organismos.

Hoje as primitivas ideias de HAECKEL estam abandonadas, e nos organismos que elle descreveu como carecendo de núcleo este tem sido descripto, mas a questão da constáncia do núcleo em todas as céllulas não foi ainda resolvida completamente e ha quem a conteste sobre tudo nas *Bacteriáceas*, nas *Cyanophyceas*, e nos *Saccharomycetos*.

Bacteriáceas: — Em 1871 VAN BENEDEN estudou a multiplicação da *Gregarina* da *Lagosta* e viu que as gregarinas novas eram como pequenas amibas, ás quaes VAN BENEDEN chamou — *Cytodos geradores*. Estes cytodos emittem prolongamentos, alongam-se e, depois de alongados, tornam-se independentes, constituindo o que VAN BENEDEN designou por — *Pseudofilárias*. Só depois de formadas as pseudofilárias é que se vê apparecer no seio da sua massa pequenas granulações, que pouco a pouco se associam e dispõem por uma fórma tal que ficam constituindo um núcleo, num processo que dá ideia de uma crystallização do protoplasma. Nestas gregarinas portanto haveria primitivamente um estado, em que o organismo cresce e se desloca sem que o

núcleo exista; só tardiamente é que elle appareceria. Em 1872 RAY LANKESTER confirmou toda a descripção de VAN BENEDEN; apenas se distanciou delle pelo que respeita a esse núcleo ulterior; RAY LANKESTER nunca o conseguiu vêr. Estes factos imperáram grandemente no espírito de muitos cytologistas e leváram-nos a admittir a falta do núcleo; dentre todos advogou essa ideia sobretudo FRENTZEL, depois de ter inutilmente procurado o núcleo em grande número de bactérias; FRENTZEL propôs por isso a generalização das ideias de RAY LANKESTER a todas as bacteriáceas.

Ora isto não é assim e um grande número de observadores tem encontrado, depois dos trabalhos de FRENTZEL, núcleos em bacterias em que elle os não conseguiu ver. Assim em 1885 KÜNSTLER num parasita da cávia, — o *Bacterioidiomonas sporifera,* descobre um núcleo. Em 1888 SCHOTTELIUS, em micróbios diversos, sobretudo nos de grande estatura, chega a revelar tres zonas concéntricas, — uma periphérica, uma média e uma central, que para elle é o núcleo e que é representada por uma linha mais escura; BABÈS encontra algumas granulações córaveis no bacillo do *Cholera,* em certa altura do seu desenvolvimento; ERNST encontra tambem estas granulações em muitas bactérias e julga-as destinadas a transformarem-se ulteriormente em esporos: chama-lhes, por isso, — *Corpos esporogénicos;* nesse mesmo anno aínda HENNEGUY demonstra, para as próprias gregarinas, que quando o espóro se fórma, ou o seu cytodo gerador, encerra uma parte do núcleo primitivo. Vê-se portanto que até aqui estão já notavelmente contestadas as ideias de VAN BENEDEN e a de FRENTZEL; já pela falsidade dos factos em que assentavam, já porque nas bactérias alguma coisa ha, corpos esporogénicos ou o quer que é, que contradicta inteiramente a homogeneidade do cytodo a principio proclamada.

Em 1889 STEINHAUS mostra que as granulações sam muito frequentes nos micróbios, mas não lhes attribuë um papel nuclear; suppõe que representam granulações quaesquer análogas ás que se encontram no corpo cellular e chama-lhes simplezmente — *Granula.*

Em 1890 BÜTSCHLI estuda as grandes fórmas das *Sulfobacteriáceas,* como a *Chromatium,* a *Ophidomonas,* e descreve nellas duas porções; uma periphérica alveolar, e outra central, reticulada, com numerosas granulações, algumas das quaes se córam vivamente. Como acontece em todas as céllulas, nestas bactérias ha um corpo cellular e ha um núcleo com a sua rêde, que affirma ser de linina, e com os seus nucléolos, que sam as granulações córadas. A questão deu portanto um grande passo, porque as descripções de BÜTSCHLI sam rigorosíssimas. Infelizmente BÜTSCHLI não poude encontrar esta mesma estructura nas pequenas fórmas de bactérias; mas levado pela nitidez das primeiras observações emitte a hypothese dellas serem formadas por núcleos quasi nús, comparaveis ás cabeças dos espermatozoides; o núcleo seria uma formação primitiva de cuja actividade proviria o protoplasma, que o cerca. VAHRLICH, em 1891, acceita esta interpretação e considera as bactérias como núcleos cercados de uma membrana de invólucro, sem protoplasma.

Em 1892 LÉGER volta ao estudo das gregarinas da *Lagosta* e confirma as conclusões de HENNEGUY; cada esporo contem realmente um fragmento do núcleo e LÉGER determinou-lhes até a forma, que é a de um corpusculo falciforme; nenhuma gregarina deixa portanto, em qualquer momento da sua evolução, de ser provida de um núcleo.

NILS-SJÖBRING, em 1892 tambem, estuda o *Bacillus anthracis* e encontra neste duas espécies de granulações; umas externas que fixam a côr vermelha; outras internas

que fixam a côr azul e que se dispõem por fórma tão nítida, que não ha possibilidade de duvidar que ellas constituëm um núcleo. Por fim, aínda em 1892, TRAMBUSTI e GALEOTTI encontram granulações num grande número de bactérias; e notam que nalgumas dellas, quando um segmento vai a separar-se, as granulações do que lhe dá origem dirijem-se para as suas extremidades e uma dellas acompanha o segmento novo. Seduzidos por esta observação TRAMBUSTI e GALLEOTTI chegáram a admittir que as bactérias se multiplicam por caryodiérese.

Em 1893 apparecem os trabalhos notaveis de SCHEWIAKOFF e MITROPHANOW. SCHEWIAKOFF estudou o *Achromatium oxaliferum* e vio que elle se mostra constituído por uma camada periphérica alveolar e uma parte interna reticulada, onde ha grande número de granulações córadas; estas granulações augmentam de número quando a bactéria se divide, e multiplicam-se ellas mesmas directamente por estrangulamento; claramente o auctor admitte aqui a existéncia de um núcleo com nucléolos, como havia feito BÜTSCHLI.

MITROPHANOW estudou as grandes fórmas de bactérias nas *Chromatium*, *Rabdochromatium*, *Beggiatoa*, *Cladothrix*, *Crenothrix*, *Ophidomonas*, e nalguns *Espirillos*. No *Rabdochromatium* encontrou uma parte axial, ora com a fórma de um filamento em espiral, ora com granulações isoladas centraes fixando bem a safranina, ora com a fórma de um rosário, lembrando então a fórma do núcleo de certos *Infusórios*, os *Estentores*, por exemplo. Afóra estas ha ás vezes granulações periphéricas, que fixam bem o azul de methylene a $^1/_{100.000}$.

MITROPHANOW deduz das reacções, que apresentam essas granulações, que ellas sam formadas de chromatina e como as achou em todas as espécies concluë que nas bacteriáceas ha núcleo, ou antes, elementos nucleares diffusos; as ba-

ctérias sam céllulas, em que os elementos protoplásmicos e nucleares apresentam gráos differentes de differenciação, que estám em relação com o estado physiológico em que a céllula se encontra; o núcleo é por isso sempre mais ou menos diffuso, mas está morphologicamente separado de uma maneira completa, e por consequéncia VAN BENEDEN fez bem em crear o *Plasson;* o que MITROPHANOW não acceita é a opinião de BÜTSCHLI sobre a prioridade de formação do núcleo e apparição ulterior do protoplasma; o contrário é que tem logar e essa é tambem a opinião de VAN TIEGHEM. HENNEGUY confirmou ulteriormente por uma fórma conveniente os trabalhos de MITROPHANOW, mas aínda em 1894 PÉREZ teima pela veracidade da hypóthese de BÜTSCHLI. Seja como fôr, o que não offerece dúvida é que, appareça o núcleo antes ou depois, seja primitivo ou secundário, as bactérias sam, como todas as céllulas, providas de núcleo e onde elle não tem sido revelado sê-lo-ha com o progressivo aperfeiçoamento dos processos téchnicos.

*

Cyanophyceas: — A demonstração de um núcleo nestas algas tem sido objecto de uma série consideravel de trabalhos, mas não se tem chegado com elles a um resultado tam suggestivo e conveniente como para as bactérias. As cyanophyceas sam algas inferiores comprehendendo um grande número de familias, formadas de filamentos ligados topo a topo ora immediatamente, ora por intermédio de corpos particulares chamados — *heterocystos,* os quaes sam céllulas cujo corpo cellular desappareceu deixando em seu logar a

membrana cellular vazia; ás vezes os segmentos destas algas sam envolvidas por uma massa commum. Muitos dos auctores que teem estudado as cyanophyceas nunca puderam encontrar nellas um núcleo; sam inteiramente negativas as observações de BORNET, FLAHAUT, TAUGL, LAGERHEIM e GOMONT. Entretanto em 1879 SCHMITZ descreveu na *Gleocaspa polydesmática* um núcleo excentrico córavel, que se limitava a uma símplez granulação; em nenhuma outra alga encontrou nada de semelhante, a não ser nas *Oscilláreas* uma ou outra granulação insignificante, retendo um tanto energicamente as côres; SCHMITZ concluio daqui, que se algumas vezes um núcleo póde existir nas algas cyanophyceas, em geral ellas sam desprovidas desse orgão.

Em 1883 WILLE na *Tolypothrix lanata* descreveu tambem um núcleo, que a certa altura julgou surprehender em divisão caryocinética, e REINHARDT, nalgumas *Oscilláreas,* encontrou granulações que suppôs núcleos e numa *Glaucomena* descreveu mesmo um nucléolo.

Em 1885 HAUSGÚRG descreveu tambem um núcleo nalgumas *Oscilláreas,* mas em muitas outras famílias não o encontrou.

Em 1887 SCOTT encontrou egualmente o núcleo nas *Oscilláreas* e no *Talypothrix,* e descreveu nelles uma estructura fibrillar; nos mesmos exemplares o encontráram STRASBURGER e ERNST em 1888.

Por fim, em 1890, apparece um trabalho notavel de ZACHARIAS effectuado na *Oscillárea,* nas *Nostocaceas, Cylindrospermum, Tolypothrix* e *Scytonema.* Na parte periphérica de todas estas algas ha granulações córadas, mas sem apresentarem as reacções das albuminas; na parte central ha tambem uma ou duas pequenas massas, tendo as reacções dos nucléolos; estas massas centraes estám ás vezes cercadas por uma rêde, que apresenta as reacções da nucleína; esta

nucleína ás vezes perde-se, desapparece com dadas condições do estado physiológico da céllula; é portanto muito difficil emittir um juizo acêrca do valor destas formações e não póde affirmar-se de uma maneira satisfatória a existéncia do núcleo nestas algas; ella constituë aínda um ponto obscuro destinado a provocar investigações futuras.

*

Saccharomycetos:—Nos saccharomycetos a existéncia do núcleo é mais geralmente admittida e deduz-se de trabalhos mais positivos e claros; toda a gente como NAEGELI, SCHLEIDEN, SCHMITZ, STRASBURGER, ZALEUSKI, ZACHARIAS, ZIMMERMANN, admitte a existéncia do núcleo nestes organismos, levado sobretudo pela demonstração indirecta fornecida pela anályse de KOSSEL que, como sabemos, achou uma forte proporção de nucleína na *Levadura*. Comtudo BRÜCKE e KRASSER, em 1885, negáram a existéncia do núcleo no *Saccharomyces cerevisiae*. É certo que a nucleína é dahi extrahida, mas KRASSER acceita de boamente as ideias de DELAGE sobre o assumpto: todos os organismos se constituëm gradualmente, lentamente, insensivelmente; todos passam por transições quasi insensiveis de um certo gráu de estructura actual, para um gráu de estructura seguinte; nas céllulas esta lei geral deve ter applicação e parece por isso pouco provavel, a DELAGE, que a céllula se constitua *d'emblée* em todas as suas partes; será mais razoavel admittir, que a nucleína existe na céllula num estado diffuso antes de se condensar num orgão differenciado; é ideia harmonizada com a apresentada por VAN BENEDEN, acceita por HAECKEL

e justificativa da creação do *Plasson;* é ideia porém exclusivamente theórica e que tem contra si um grande número de factos positivos, posto que seja, como é realmente, lúcida e rasoavel. Factos ha, porém, numerosos a contradictá-la, e esses é que sam innegaveis e pedra angular de todas as conclusões. Vejamo-los:

Em 1891 RAUM estudou a *Levadura* e encontrou ahi pequenas granulações córaveis, a que chamou — granulações esporogénicas, porque suppôs que ellas tomavam parte na formação dos esporos.

Em 1892 MÖLLER affirma ter encontrado sempre um núcleo na *Levadura,* de composição e grandeza variada, sem membrana nem nucléolo, formado de uma massa viscosa mal limitada e dotada de movimentos amiboides. Os gommos emittidos pelas céllulas não seriam senão gottas exsudadas do protoplasma.

KRASSER combate energicamente esta descripção: no protoplasma ha realmente um grande número de granulações córaveis e formadas de nucleína; mas ellas estam distribuídas irregularmente em toda a massa do protoplasma; o que MÖLLER descreve como núcleo não apresenta as reacções da nucleína. KRASSER admitte por isso que os elementos nucleares estam diffundidos no protoplasma e por isso designa este pelo nome de — *Archiplasma,* o qual é, como se vê, sensivelmente egual ao *Plasson.*

HIERONYMUS logo a seguir descreve granulações córaveis no seio da massa da *Levadura,* collocadas em série no meio de uma rêde fibrillar e dispondo-se numa formação esphérica ou espiral; é, portanto, um partidário de MÖLLER, mas a descripção deste é por outro lado combatida por outro cytologista, HANSEN, o qual, em 1893, admitte a formação de esporos na levadura e a existéncia nestes duma membrana. Estamos, portanto, num período contradictório, em que não

é possivel tomar um partido definido, posto seja legitima a desconfiança de que o núcleo realmente existe.

Neste mesmo anno de 1893, porém, a questão esclarece-se com os trabalhos de DANGEARD e JANSSENS.

DANGEARD mostrou, que na *Levadura* cada céllula apresenta uma membrana sob a qual ha uma camada de protoplasma, espessa, munida de um vacúolo central; o núcleo está encerrado na massa do protoplasma e é possivel distinguir nelle, quando quiescente, uma membrana nuclear nítida e no seu centro um nucléolo fortemente corado e esphérico. Durante a gemmação da céllula, depois da formação de uma protuberáncia á sua superfície, o núcleo divide-se por estrangulamento: o nucléolo parte-se egualmente em duas porções cada uma cercada por uma zona clara. Uma das fracções do núcleo encosta-se ao pedículo que liga as fracções do núcleo á cellula-mãe; prolonga-se dentro em pouco num delgado filete chromático, que attinje a céllula filha, distende-se nella, adquire uma membrana nuclear e retoma a sua estructura ordinária.

JANSSENS admitte no protoplasma das céllulas da *Levadura* granulações córadas contidas num retículo protoplásmico, acceitando portanto a descripção de RAUM, mas essas granulações sam independentes do núcleo, porque este existe e é constatavel, bem differenciado, em grande número de *saccharomycetos;* encontrou-o sempre e as suas observações sam numerosas, porque elle estudou muitas fórmas de *saccharomyces*, — o *S. Ludwigii*, o *cerevisiae*, o *pastorianus*. HENNEGUY numa levadura ainda não classificada, semelhante ao *Cryptococcus glutinis* de FRESENIUS, confirmou ulteriormente estas observações, porque nessa levadura encontrou sempre um núcleo nítido com uma membrana e um nucléolo bem observaveis.

Deste modo julgo dever concluír que no *Saccharomyceto*

a questão da constância do núcleo é resolvida num sentido affirmativo e que, approximando estes factos dos relatados para as bactérias e para as cyanophyceas, a significação geral do seu conjuncto leva a admittir que o núcleo seja um orgão constante; é de crer que, com novas investigações, se venha a apurar esse resultado final isempto de hesitações.

VII. — Importância tróphica do núcleo

Nós vimos no capitulo II da secção protoplasma, que este fornece productos variadíssimos como um resultado da sua nutrição; por outro lado, no seio da céllula ha formações diversas de funcções, de origem variada. Na céllula encontramos tambem um orgão sobretudo differenciado cuja organisação é melindrosa e cujas funcções sam objecto de um estudo afincado dos cytologistas; esse orgão é o núcleo; e convem determinar se por ventura elle estará encarregado de algum papel especial a respeito da nutrição do organismo inteiro de que faz parte, a céllula, porque essa determinação permittirá travar com elle um conhecimento mais fundo, permittirá alcançar a seu respeito uma noção mais intima.

Nós vemos as céllulas dotadas de propriedades muito differentes, manifestadas em phenómenos variadíssimos, e todas ellas teem de filiar-se na nutrição do protoplasma, a qual lhes fórma *substratum* indispensavel, a qual é para ellas condição *sine qua non;* protoplasma que se não nutre não é protoplasma vivo, e protoplasma morto não é protoplasma. Naturalíssimo é portanto investigar se no exercício

dessa nutrição plasmática o núcleo deve ser tomado como factor sensivel, se a sua energia intervem para permittir ou para orientar o phenómeno essencialíssimo da nutrição, do qual derivam todas as propriedades da céllula, as quaes sam por si só um objecto de estudo complexo e vasto.

O protoplasma apparece-nos, a nós, como uma substância irritavel, eminentemente sensivel á acção dos differentes agentes; é essa *irritabilidade*, que SACHS define bem — «a maneira exclusivamente própria aos organismos vivos de reagir de tal ou tal modo sob as influéncias mais diversas do mundo exterior», que revela o protoplasma, que faz delle uma substância viva; é a excitabilidade da céllula, a sua irritabilidade, que faz que ella appareça como um organismo vivo capaz de reagir num dado momento sob uma influéncia excitadora, o que prova que ella é capaz de armazenar uma certa quantidade de energía, de força viva, que liberta pelas acções que pratíca, movendo-se; e essa força viva não póde provir senão das acções chymicas, que se passam no seu interior; o que é o mesmo que dizer, da sua nutrição; é esta aínda que faz com que a céllula cresça e consequentemente se divida, quando attinge um certo desenvolvimento. Todas estas propriedadas cessam, tudo isto desapparece se a nutrição cessar e desapparecer, se terminar esse movimento metabólico contínuo, cuja esséncia mesma constituë por ventura a vida. Eu vou ver se determino que papel o núcleo desempenha, para o exercício de tam alta funcção.

Primeiro devemos verificar a irritabilidade do protoplasma com a notificação de algumas experiéncias símplez; depois descrever os seus movimentos; e, mostrando como aquella é melindrosissima e como estes sam variados, teremos demonstrado todo o alcance da nutrição, que gera uma e permitte os outros.

Os phenómenos de excitabilidade e motilidade estam intimamente ligados; a fórma mais vulgar e mais saliente por que a irritabilidado se manifesta é por movimentos, os quaes sam claramente uma funcção daquella propriedade, como ella mesma a é da nutrição. Sob a influéncia dos agentes mais diversos o protoplasma reage e a reacção é quasi sempre um deslocamento; os agentes mechánicos como o contacto e o choque, os physicos como o peso, a luz, o calor, a electricidade, as substáncias chymicas de qualquer ordem, todas influenciam o protoplasma e o fazem reagir de modos muito distinctos. Em todos os movimentos de reacção porém se dá um dos dois phenomenos seguintes: ou a deslocação *in toto* de toda a céllula, de todo o protoplasma, ou a deslocação parcial de uma certa extensão da sua massa, ás vezes traduzida só na apparição de correntes que se produzem no seu interior; no primeiro caso ha por definição acções de *Taxismo* ou *Tactismo,* no segundo acções de *Tropismo;* taxismo e tropismo podem ser positivos ou negativos conforme o corpo cellular se approxima ou afasta da origem da excitação. As acções de tropismo e tactismo sam innúmeras e teem designações appropriadas: — *Geotropismo* ou *geotaxismo* e, semelhantemente, — *Hydrotropismo*, *Heliotropismo, Thigmotropismo* (contacto), *Thermotropismo, Galvanotropismo*, etc.

*

Um exemplo de geotropismo nítido é o apresentado pela incurvação das raizes collocadas horizontalmente na terra, e que tendem sempre a mergulhar collocando-se verticalmente. É facto de observação banal para todos os botánicos.

*

Se uma plasmódia de *Aethalium septicum* for collocada sobre um papel húmido, que se vá fazendo seccar nalguns pontos, deixando a humidade noutros, ella vae-se deslocando para estes últimos, abandonando os primeiros, o que constituë um hydrotropismo positivo; a mesma plasmódia collocada numa corrente d'agua muito pouco enérgica, desloca-se no sentido inverso desta corrente *(Rheotropismo)*.

*

A *Pelomyxa palustris* é um organismo amiboide, que executa na sombra movimentos pseudopódicos enérgicos; projectando sobre esta amiba um raio luminoso de média intensidade ella retrae todos os seus pseudópodos e toma uma fórma esphérica; os seus movimentos só reapparecem quando o collocamos novamente na obscuridade. *(Heliotropismo* ou *Phototropismo negativos)*.

A *Euglena viridis* é particularmente sensivel á luz. Se illuminarmos só uma pequena parte de uma gotta d'agua contendo euglenas, todas ellas acodem á região illuminada; a parte obscura da gotta não contem uma única *(Heliotropismo* ou *Phototropismo positivos)*.

*

Quando um grupo de céllulas da *Tradescantia*, da *Chara*, ou uma plasmódia de *Aethalium* sam collocados na platina do microscópio e submettidas a um estremecimento enérgico ou a uma compressão, vê-se que os movimentos do seu protoplasma se deteem muito tempo; se a acção se fizer sentir só sobre certos pontos do protoplasma e for fraca ou de pouca duração, ella fica limitada a esses pontos; se for demorada ou enérgica, propaga-se a uma grande distáncia da massa protoplásmica mais ou menos rapidamente; então ella póde não se limitar só á determinação desta paralysia, pode mesmo produzir alterações somáticas, fazendo apparecer nos filamentos protoplásmicos varicosidades semelhantes ás que determina uma corrente galvánica.

*

Quando uma plasmódia de *Myxomycetos* se teem estendido em rêde verifica-se, que resfriando-se só uma parte desta, todo o protoplasma emigra a pouco e pouco para a região mais quente. A experiencia póde fazer-se deste modo: — collocam-se, ao lado uma da outra, duas cápsulas de vidro, uma cheia de agua a 7°c outra de agua a 30°c; sobre os bordos em contacto das cápsulas colloca-se uma tira de papel húmido cujas extremidades mergulhem cada uma na sua cápsula; sobre a tira de papel installa-se uma plasmó-

dia e mantem-se constante a temperatura das duas cápsulas. Passado algum tempo a plasmódia, por meio de movimentos pseudopódicos, teem emigrado completamente para a cápsula, que contem a agua a 30°.

O calor é por consequéncia um agente provocante do protoplasma, que excita a sua sensibilidade; elle póde tambem determinar alterações somáticas no protoplásma, as quaes podem chegar a ser mortaes; ha por isso para cada céllula ou grupo de céllulas uma *temperatura supportavel*, que não deve ser excedida, sem que a vitalidade do protoplasma seja posta em risco; nesse caso a temperatura que produz a morte, chama-se — *temperatura máxima*. De uma maneira geral, para as céllulas animaes e vegetaes, a temperatura máxima é habitualmente de 40°c; *amibas* collocadas em agua a 40°c morrem logo: os seus pseudópodos retráem-se e «o organismo transforma-se numa vesícula esphérica, nitidamente limitada por um duplo contorno, envolvendo uma massa turva e d'aspecto escuro quando a examinamos por transparéncia [Kühne]». A mesma temperatura determina no *Aethalium septicum* uma congulação mortal.

Entretanto alguns organismos resistem a temperaturas mais elevadas, algumas mesmo consideraveis. No *Actinophrys* a temperatura máxima, determinando a morte instantánea, é de 45°c; para as céllulas da *Tradescantia* e da *Vallisneria* é de 47°c a 48°c [Max-Schultz]; Cohn achou na fonte termal de Carlsbad *Leptothrix* e *Oscilláreas* vivendo a 53°c; os esporos endogénicos dos *Bacillos*, que possuem involucros muito resistentes, ficam capazes de germinar aínda que se mantenham por alguns instantes num liquido a 100°c; outros supportam mesmo temperaturas de 105°c, 120°c, 130°c e 140°c [De Bary].

O frío exerce tambem acção manifesta sobre a vitalidade do protoplasma, mas a temperatura mínima é muito difficil

de determinar, porque muitos organismos resistem a temperaturas negativas inverosimeis. A influência das temperaturas baixas póde vêr-se por exemplo na seguinte experiência de KÜHNE: — Este cytologista deixou congelar céllulas da *Tradescantia* por mais de cinco minutos numa mistura frigorífica de —14°°; estudando em seguida estes elementos na agua, verificou que a rêde protoplásmica era substituida por um grande número de gottas arredondadas, e que no protoplasma se havia formado um grande número de massas grumosas. Passados alguns segundos estas pequenas massas começaram a mostrar movimentos lentos; e depois de alguns minutos reuniram-se, para se retransformarem depressa numa rêde, em que apparecia de novo uma circulação activa.

A resisténcia ao frio póde deduzir-se das seguintes observações: FRISCH constatou que o poder de desenvolvimento do *Bacillus anthracis,* tanto pelo que respeita aos esporos, como ao bacillo mesmo, não é de modo algum attingido se este organismo, depois de ter sido congelado a — 11°°, fôr submettido a um degêlo. RAOUL PICTET, de Genebra, submettendo seis tubos semeados, durante 36 horas, a uma temperatura decrescendo lentamente de 10°° a — 100°° verificou que a esterilização se não obtinha. A observação faz parte de uma série de experiéncias relatadas por MIQUEL e FREUDENREICH; a respeito desta experiéncia de PICTET exprimem-se textualmente assim: «Aqui, como nas experiéncias precedentes, muitas espécies de bactérias, incapazes de resistir duas horas á temperatura de 70°°, supportaram perfeitamente este violento gráu de frio. Uma única coisa se notou; é que algumas das espécies resfriadas tinham envelhecido» (1).

---

(1) DR. PAUL REGNARD: *La Cure d'Altitude.* Paris, Masson & C.e 1897, pag. 35.

Estas últimas palavras provam a sensibilidade do protoplasma para o frio; esta manifesta-se de resto em phenómenos salientes: em 1891 GERAMISSOFF submettendo a temperaturas baixas uma *Spirogyra* prestes a dividir-se por mitose, viu esta deter-se e a divisão recomeçar depois mas fazer-se por via directa.

*

A acção da electricidade é tambem fácil de comprovar. Se uma gotta de agua contendo muitas *Paramœcium aurelia* fôr submettida á acção de uma corrente, verfica-se que no momento de fechar o circuito todas ellas acodem ao pólo negativo; segundos depois da corrente estabelecida toda a gotta está despovoada, menos em tôrno do polo negativo, onde um verdadeiro formigueiro se mantém emquanto a corrente estiver fechada; abrindo-a, toda a massa de infusórios deixa o pólo em que está e transfere-se para o outro. VERWORN estudou estas acções eléctricas em muitos micro-organismos, como a *Opalina ranarum,* algumas bactérias e alguns *Flagellados, Chryptomonas* e *Chilomonas* e descreve a seguinte curiosa experiéncia: — se numa gotta de agua existirem simultaneamente *Ciliados* e *Flagellados,* estes organismos separam-se pela acção de uma corrente eléctrica constante, quando esta se fecha; os *Flagellados* accumulam-se no ánodo e os ciliados no cáthodo; invertendo então a corrente estes organismos lançam-se uns sobre os outros, como inimigos, até se accumularem de novo nos pólos oppostos.

É no conhecimento destes effeitos que se baseia o estudo do amortecimento da viruléncia dos bacillos pela acção das

correntes de alta frequéncia; e foi este estudo que mostrou como a conservação da vitalidade do protoplasma é indispensavel para que elle reaja; das experiéncias de LORTET resulta effectivamente que os bacillos vivos se orientam no sentido da corrente, mas que a acção da corrente sôbre elles é nulla desde que um líquido antiséptico os mate (1).

*

A acção chymica é tambem fácil de revelar: eu descrevi já os effeitos das principaes substáncias chymicas sobre o protoplasma, ao estudar as reacções deste; mas outras observações devem conhecer-se para se vêr bem como elle é sensivel a esta excitação.

Se quizermos observar os movimentos do protoplasma nas céllulas vegetaes, conseguimo-lo montando-as em agua; se porém as montarmos em azeite ou num óleo qualquer, — o que impede o contacto do ar, — esses movimentos cessam rapidamente; substituindo novamente os oleos pela agua vêm-se os movimentos do protoplasma reconstituírem-se *lentamente*.

Collocando céllulas vegetaes numa atmosphera de anhydrido carbónico, depois de uma demora variando entre 45 minutos e uma hora, todo o movimento do protoplasma cessa; se em vez do anhydrido carbónico se empregar o hydrogénio, esse resultado é um pouco mais tardio; mas a

(1) VELLADO DA FONSECA, *Oscillações electricas*, 2.º vol. Coimbra, 1897, pag. 97.

paralysia do protoplasma póde sempre annullar-se, se qualquer daquelles fôr substituido pelo oxygénio, antes da sua acção ter sido muito demorada.

Duas experiencias de VERWORN sam a este respeito muito instructivas:

Num tubo de ensaio cheio de agua pobre em oxygénio e invertido sobre mercúrio, colloca-se uma grande quantidade de *Paramecias;* bem depressa, em consequencia da falta de oxygénio, os movimentos dos cílios começam a retardar-se. Fazendo então entrar pela base do tubo uma bolha de oxygénio puro, toda ella se vê cercada nalguns segundos por uma camada espessa, branca, de *Paramecias* «que, impellidas por uma verdadeira sêde de oxygénio, se precipitam com impetuosidade sobre a bolha».

VERWORN observou uma *Diatomácea* rodeada de *Espirocetes* immoveis, que só existiam num ponto da preparação; de repente a *Diatomácea* moveu-se e desenvencilhou-se do montão de bactérias. Os *Espirocetes,* assim privados da sua fonte de oxygénio, ficaram por alguns instantes immoveis, em seguida precipitaram-se sobre a *Diatomácea* em batalhões cerrados, e um ou dois minutos depois estavam todos amontoados em torno della, immobilisados.

Se enchermos um tubo capilar com uma solução de ácido málico a 0,01 % e o mergulharmos cautelosamente numa gotta de agua contendo *antherozoides do feto* em grande número, veem-se todos elles dirigir-se para o tubo capillar, cujo ácido málico começa a diffundir na agua; passado algum tempo, — 5 a 10 minutos, — muitas centenas de *antherozoides* estam dentro do tubo capillar e apenas alguns ficam na gotta de agua.

Como temos visto, o protoplasma é sensivel á acção dos agentes chymicos; essa sensibilidade póde ir até ao ponto de levar á abolição dos movimentos; mas ha agentes que

sam capazes de diminuir apenas, em vez de abolir, a irritabilidade das céllulas, de lhes paresiar o protoplasma em vez de o paralysar; taes sam o chloroformio, a morphina, o hydrato de chloral; como que se produz sob a sua acção uma narcose visinha da anesthesia; o protoplasma move-se. mas lentamente, pesadamente; reage aos differentes excitantes, mas tardamente, preguiçosamente. Á anesthesia geral não é, com toda a probabilidade, extranha esta propriedade.

*

Temos portanto como innegavel a excitabilidade do protoplasma; e como ella se revela sôbre tudo por movimentos, estudemos estes, que sam divisiveis, naturalmente, em duas classes: — movimentos totaes de deslocação em massa, e movimentos parciaes, dos quaes fazem parte os movimentos internos do protoplasma ou os movimentos das granulações intraplásmicas.

Os movimentos de deslocação sam effectuados com ou sem auxilio dos orgãos para isso destinados. Movimentos de observação vulgar sam os amiboides produzidos por expansões accidentaes do protoplasma, pseudópodos, que determinam a progressão da céllula para o ponto onde fixam a sua extremidade; tam frequentes sam elles nas *amibas* que dellas se derivou a designação; uma amiba póde realmente, pela simples emissão de pseudópodos, percorrer meio milímetro num minuto; mas os movimentos amiboides pertencem a um grande número de elementos cellulares, como os glóbulos brancos do sangue, as céllulas lympháticas e algu-

mas céllulas conjunctivas; é da sua existéncia que deriva o notavel phenomeno descripto por CONHEIM, — a *diapedese,* que consiste na emigração dos leucócytos para fóra dos vasos sanguíneos.

ENGELMANN descreveu sob o nome de — *movimento de escorregamento* um modo especial de locomoção, que se observa particularmente nas *Diatomáceas* e nas *Oscillárias.* Nas *Diatomáceas* o corpo protoplásmico está encerrado numa carapaça siliciosa; nas *Oscilláreas* numa membrana de cellulosa. Fóra destes involucros acha-se ainda uma delgada camada de protoplasma mui finamente granuloso, que não é visivel no organismo vivo, mas que se póde fazer apparecer pela acção dos reagentes. Deslocando-se numa direcção determinada á superficie da carapaça siliciosa ou da membrana cellulósica, esta camada protoplásmica impelle o organismo «a mover-se, escorregando ou rastejando, sôbre uma superficie fixa» [ENGELMANN].

Outros organismos inferiores deslocam-se por meio de orgãos vibrateis, que possuem e que representam um primeiro gráo de differenciação; todo um grupo de infusórios — os *Flagellados,* tira a sua designação da existencia de orgãos locomotores análogos á cauda dos espermatozoides; sam longas expansões, ou únicas ou múltiplas, segundo as espécies, que pelos seus movimentos permittem ao individuo monocellular deslocar-se no meio ambiente; outro grupo de infusórios, — os *Ciliados,* possuem um corpo cellular coberto de um manto ciliar mais ou menos completo, inteiramente comparavel ao que guarnece o prato das céllulas vibrateis. Estes prolongamentos piliformes, ou não existem senão em pequeno número, — de 1 a 4, — numa extremidade da céllula, ou recobrem em número ás vezes extraordinário toda a superfície da céllula; no primeiro caso, mais longos e fortes, constituem os *flagellos* ou *chicótes vibráteis;*

no segundo constituem os *cílios vibráteis.* Ás vezes aínda existem *cirros,* mais espessos e mais longos do que os cílios, tendo uma base alongada e terminando em ponta afilada; sam especialmente frequentes nos infusórios *Hypotriches,* onde existem no contôrno do orifício buccal e parecem derivar da coalescéncia dos cílios vibráteis. Dessa mesma coalescéncia derivam as *membranellas* ou *membranas* ou *láminas ondulantes,* que se observam em tôrno do orificio buccal de muitos infusórios, como o *Stentor ceruleus* estudado por SCHUBERG em 1890, as quaes, como os cílios, os flagellos e os cirros, estam sempre em connexão com o protoplasma.

Mercê do auxílio destes orgãos, céllulas ha que podem deslocar-se num sentido ou noutro, segundo a excitação que nellas se exerce ou a determinação que a impelle. Não deve suppor-se esse movimento diffícil porque o número de cílios é, ás vezes, extraordinário: na *Paramoecium-aurelia* calcula-se em 2500; BÜTSCHLI num parasita da rã, — o *Balantidium elongatum,* que attinge por vezes $0^{mm},3$, e cujos cílios sam muito apertados, calcula o número destes em 10.000. Apesar deste número ser elevado não deve suppor-se tambem o movimento dos cílios inteiramente arbitrário: mesmo que existam aos milhares executam movimentos perfeitamente coordenados: «batem não só com a mesma frequéncia de vibrações oscillatórias (rythmo) e com a mesma amplitude de oscillação, mas batem ainda junctamente na mesma direcção e sempre na mesma ordem de successão» (1). Parece dever deduzir-se daqui que no protoplasma alguma coisa ha presidindo a esta orientação motriz; e por maior que seja a estranheza que esse facto possa causar,

(1) VERWORN, citado por HERTWIG, loc. cit., pag. 78.

nem por isso ella deve surprehender-nos excessivamente, porque a observação que vou relatar mostra que elle não é uma phantasia.

As *Arcellas* sam plastídulas provídas de uma concha concavo-convexa; no meio da face concava existe uma abertura, que dá passagem a prolongamentos pseudopódicos, os quaes, no bôrdo da abertura, apparecem como protuberáncias hyalinas. Se na lámina do microscópio collocarmos uma gotta de agua contendo arcellas, succede que algumas destas cahem por assim dizer de costas, de modo que os pseudópodos não encontrando ponto de apoio fixo na lámina não conseguem collocar as arcellas na única attitude, em que ellas poderiam rastejar.

Vê-se então, que num dos bordos do protoplasma começa a produzir-se um desenvolvimento de bôlhas gazosas, de modo que tornando-se mais leve esse bôrdo, a arcella levanta-se até estar assente apenas pelo bôrdo opposto. Os pseudópodos encontram então ponto em que se fixem, e voltam a plastídula, a qual começa a rastejar, depois de desapparecerem as bolhas, que se tínham formado.

Se a gotta d'agua é posta na parte inferior da lámina, pelo seu peso as arcellas cahem no fundo da gotta. Não havendo ahi ponto sólido em que os pseudópodos possam fixar-se, verifica-se a formação de bolhas gazosas, que elevam a plastídula até á parte superior adherente do vidro. Se a posição a impede de fixar-se na lámina, para o que basta a face convexa ficar em contacto com esta, veem-se as bolhas de gaz diminuir de um lado ou augmentar do outro, até que o animal possa fixar-se; as bolhas desapparecem então e a arcella põe-se a rastejar sobre o vidro. Pode-se fazer quanto se queira para dar á arcella uma posição incómmoda; sempre ella saberá, por meio das bolhas de gaz, achar a situação conveniente á locomoção «Não se póde negar, —

diz ENGELMANN, — que taes factos indicam processos psychicos no protoplasma» (1).

*

Vejamos agora os movimentos intraplásmicos da céllula. — Esses movimentos observam-se muito bem nas céllulas vegetaes; mas no reino animal ha tambem magníficos exemplares para os estudar, como os *Noctilucos* e as céllulas vesiculares do eixo dos tentáculos dos *Coelenterados*. Nas céllulas vegetaes é possivel encontrar um grande número de movimentos. O movimento de rotação estuda-se bem nas *Charáceas* [BONAVENTURA CORTI, TREVIRANUS]; nas céllulas alongadas destas o protoplasma granuloso sóbe como uma corrente ao longo duma das paredes longitudinaes; depois passa contra a parede transversal superior, ganha a outra parede longitudinal, ao longo da qual desce para percorrer por fim a parede inferior, voltando ao ponto de partida a recomeçar um novo cyclo.

O movimento de circulação do protoplasma estuda-se nos pêlos estaminaes das diversas espécies de *Tradescantia*, nos pêllos novos das *Ortigas* e em todas as céllulas cujo protoplasma esteja disposto ao mesmo tempo numa delgada camada subjacente á membrana cellular, e numa rêde de filamentos mais ou menos delicados percorrendo o espaço cellular. Na camada parietal, assim como nos cordões mais largos, circulam muitas vezes umas ao lado das outras

(1) BUNGE, citado por MIGUEL BOMBARDA: *A consciencia e o livre arbitrio*. Lisboa, Antonio Maria Pereira, Ed. 1898, pag. 85.

muitas correntes distinctas, já no mesmo sentido, já em sentido inverso.

Este movimento observa-se bem ainda na rêde da plasmódia do *Aethalium septicum*. Esta é constituida por filamentos, que sam formados por uma camada muito delgada de hyaloplasma envolvendo protoplasma granuloso. Neste último ha um movimento circulatório rápido das granulações, que é comparavel á circulação do sangue nos vasos de animaes vivos.

Entre o protoplasma granuloso em circulação e o ectoplasma em repouso, não se observa limite nítido; neste a corrente de granulações effectua-se mais lentamente e por vezes mesmo torna-se completamente nulla. Nos filamentos muito delicados não ha senão uma corrente longitudinal, emquanto que nos ramos mais espessos se observam muitas vezes duas correntes em sentido inverso.

Nas céllulas novas do endosperma do *Ceratophyllum*, nos novos vasos lenhosos do pecíolo do *Ricinus*, póde observar-se o movimento chamado por KLEBS — de rotação em jacto d'agua. Aqui o protoplasma reveste de uma camada espessa a face interna da membrana de cellulosa e atravessa além disso o succo cellular sob a fórma dum grosso cordão central e longitudinal.

Este cordão é percorrido por uma corrente que attinge a parede transversal superior e que se quebra ahi para cahir em todos os sentidos, como se fôra um jacto de agua, no utrículo primordial; ganha assim a membrana transversal opposta e della passa de novo ao cordão axial.

De toda esta exposição se deduz que os movimentos do protoplasma sam variadíssimos, e aínda eu não entrei em linha de conta com os exercitados no momento da divisão cellular, e que hei de considerar em separado; deduz-se egualmente a enorme sensibilidade do protoplasma, a res-

peito dos agentes excitadores; e como uma e outra coisa resultam da nutrição do protoplasma, nós vamos ver rapidamente se esta é influenciada pelo núcleo.

A determinação deste assumpto foi singularmente facilitada pelas experiéncias de *merotomía,* espécie de vivisecção praticada sobre a céllula, que permitte separar nella uma parte contendo o núcleo d'outra que o não contenha.

Este méthodo de investigação foi largamente exercitado por Balbiani posto antes delle o tivessem praticado muitos outros, desde Bonnet e Freinbley, que o inventaram, até Nussbaum, Gruber, Bruno Hofer, Werworn, etc.

Balbiani escolheu de preferéncia infusórios de grande estatura, medindo de $0^{mm},3$ a 1^{mm}, taes como os *Stentor, Bursaria, Cyrtostomum, Climacostomum, Trachelius,* etc.

Operando sôbre o *Stentor,* por exemplo, imaginemos este cortado transversalmente em tres fragmentos; chamemos a cada um destes — *merozoïto*. O segmento médio não encerra nenhum dos orgãos do infusório primitivo, salvo uma porção variavel do rosário nuclear; esta porção do núcleo póde, por exemplo, não ser composta senão de um único segmento.

Cada merozoïto torna-se um *Stentor* completo e o merozoïto médio não gasta mais tempo que os outros em regenerar-se: posto que privado das suas duas extremidades, fica constantemente orientado nos seus movimentos e na regeneração dos seus orgãos, como quando fazia parte do animal inteiro. Quando o merozoïto tem reproduzido todos os seus outros orgãos, o segmento ou segmentos nucleares, que encerrava, multiplicam-se por divisão para regenerar um núcleo completo.

Supponhamos agora que um outro *Stentor* é seccionado por fórma que um dos seus segmentos é inteiramente privado de núcleo, o qual ficou inteiramente no outro mero-

zoïto. Então este último regenera-se como na experiéncia anterior; o merozoïto privado de núcleo fecha mal a sua ferida, cujos bordos não fazem senão approximar-se; continúa a mover-se e a ingerir alimentos; mas em breve o seu plasma se desorganiza: torna-se esponjoso, formam-se-lhe vacúolos na sua massa; depois o merozoïto perde a sua fórma, no fim de 15 minutos deixa de mover-se e morre 24 a 48 depois da merotomía.

Estas experiéncias feitas no *Stentor* foram repetidas noutras espécies de *Stentores* e em muitos outros infusórios; foram variadas de mil maneiras e conduziram sempre aos mesmos resultados geraes no *Stentor polymorphus,* no *Stentor igneus,* no *Cyrtostomum leucas,* no *Trachelius ovum,* no *Prorodon niveus* no *Dileptus anser,* no *Loxodesrostrum,* na *Fabrea salina.*

Estes resultados parecem magnificamente concludentes e mostram, que o núcleo desempenha na manutenção da vitalidade das céllulas e portanto da sua nutrição um papel culminante e único; de resto nós encontrâmos nas céllulas dos grandes animaes phenómenos semelhantes aos que se passam no *Stentor:* uma céllula nervosa é formada por um núcleo em tôrno do qual se agglomera um protoplasma, que lhe é proprio e que dá origem a uma ou muitas ramificações; se se córta uma destas, toda a parte periphérica separada do seu núcleo morre rapidamente e é reabsorvida; pelo contrário a parte central da ramificação, que ficou em connexão com o núcleo, conserva a vida, continúa a crescer e regenera-se completamente até ás suas últimas expansões terminaes. Com estes resultados, estamos quasi a admittir as expressões de Gautier, affirmando que é o núcleo quem na céllula «organiza os actos, dirige as manifestações para o mesmo fim, a saber — a manutenção do typo e da reproducção, numa palavra: a vida da céllula».

Mas sem dúvida á significação d'estas experiéncias poder-se-hia objectar, que sendo feitas sôbre organismos monocellulares, cuja constituição é muito complexa, visto que nellas ha já bastantes orgãos differenciados, não teriam applicação rasoavel aos elementos cellulares dos tecidos. Para esclarecer este ponto diversos trabalhos foram instituidos.

Klebs em 1887 submetteu á acção de uma solução d'agua assucarada a 16 % filamentos de *Zygnema*. Por plasmólyse o protoplasma das céllulas destaca-se do invólucro da cellulosa e reune-se numa esphera no interior de cada segmento da *Zygnema*. Dentro em pouco, em tôrno da massa protoplásmica, separada da sua membrana, seggrega-se uma nova membrana de cellulosa. Algumas vezes o protoplasma separa-se em duas massas das quaes uma só encerra o núcleo. Neste caso só a massa nucleada se rodeia duma membrana. Emfim, se as duas massas ficam reunidas por uma pequena parte de protoplasma, ambas ellas seggregam um invólucro commum de cellulosa.

Por outro lado Haberlandt, no mesmo anno, demonstrou que nas céllulas vegetaes, onde quer que a membrana de cellulosa soffra um accrescimo local, o núcleo vem ahi applicar-se.

Tal é o caso das céllulas epidérmicas de *Cypripedium insigne* e de *Luzula maxima*, por exemplo, das quaes uma das paredes apresenta um engrossamento, que faz saliéncia no interior da céllula.

Em 1889 Korschelt corroborou para as céllulas animaes as observações de Haberlandt. Nas baínhas ováricas do *Dytiscus marginalis*, que sam formados de cámaras germinativas, alternando com os ovos em diversos estados de desenvolvimento, este auctor viu que quando as céllulas nutritivas duma cámara germinativa elaboram matéria vi-

tellina, que passa para o óvulo através do seu pedículo, o núcleo do ôvo, quer dizer, a sua vesícula germinativa, colloca-se na visinhança da massa vitellina e emitte para ella prolongamentos para se collocar melhor em contacto com os seus elementos; o núcleo neste caso parece desempenhar um papel na assimilação dos materiaes nutritivos.

Destas observações devem approximar-se as de HEIDENHAIN, confirmadas por HERMANN e SCHIEFERDECKER, sôbre as modificações apresentadas pelo núcleo das glândulas salivares durante a secreção. Estes auctores constataram com effeito, que no período de actividade da céllula, o núcleo é estrellado e envia prolongamentos no corpo protoplásmico, emquanto que quando a céllula cessa de segregar, o núcleo torna-se arredondado (1).

Vemos, portanto, que os factos observados no *Stentor* se approximam dos observados nos elementos cellulares; e que nestes o núcleo apparece como presidindo á actividade nutritiva; quando ella é activa elle modifica-se, distendendo-se e ramificando-se; onde ella é mais energica elle accode com a sua presença; nos fragmentos em que permanece, a nutrição mantém-se e continúa; nos fragmentos, em que falta, a nutrição amortece-se e cessa.

Entretanto nós vimos que o merozoïto, privado de núcleo, aínda algum tempo se nutre, absorve e assimila; e vemos que onde ha uma nutrição activa o núcleo se aloja; essa nutrição existe tambem, posto que menos activa, nos pontos afastados do núcleo; não podemos portanto concluír que é da influéncia exclusiva do núcleo, que a nutrição deriva; mas mais razoavel será acceitar, que a energia do núcleo se combina com a do protoplasma para o exercício

(1) HENNEGUY, loc. cit., pag. 461.

da nutrição. O senhor professor BOMBARDA aproveita as experiéncias de merotomía para mostrar a inanidade da hypóthese da força vital (1) residindo no nucleo, visto que a parte do *Stentor*, privada delle, ainda por algum tempo se nutre; eu julgo dever aproveitá-las para admittir antes, que o que ellas significam é que protoplasma e núcleo têem actividade nutritiva própria, e que essas actividades se congregam, se completam, se integram para o effeito da nutrição cellular, protoplasma e núcleo formando uma entidade, um indivíduo, que com razão se pode chamar com SACHS — *Energide*, designando por este termo o conjuncto do núcleo e da massa protoplásmica, que aquelle tem sob a sua dependéncia. Por estas razões eu sou levado a crêr, que são verdadeiras as seguintes affirmações de VERWORN, que acceito:

Protistas providos de orgãos especiaes de locomoção, taes como cílios, chicotes vibráteis, cirros, etc. quando se merotomizam, mostram que estes orgãos sam completamente autónomos e de nenhum modo submettidos á influéncia do núcleo.

Assim como os cílios e os cirros, tambem os vacúolos contrácteis dos protistas não estam submettidos á influéncia do núcleo. Póde, com effeito, ver-se nos fragmentos sem núcleo os vacúolos contrahir-se rythmicamente durante um dia inteiro.

Pelo que respeita á digestão existe uma differença importante entre os fragmentos sem núcleo e os fragmentos nucleados; emquanto que os pequenos organismos comidos pelos fragmentos com núcleo sam digeridos normalmente, nos fragmentos sem núcleo a digestão é mais lenta e menos

(1) Loc. cit., pag. 223 e 224.

intensa. Poder-se-hia dahi concluir que o protoplasma não é capaz de formar os succos digestivos senão com a cooperação do núcleo. HOFER acceita tambem esta opinião de VERWORN.

VIII. — Importáncia cellulígena do núcleo

O único processo, por que as céllulas se multiplicam, é por divisão cellular, e nesta o núcleo desempenha um papel notavel e executa movimentos variados, que eu prometti considerar em separado.

A divisão cellular effectua-se directa ou indirectamente e constituë uma das fórmas da *reproducção cellular*.

*

A) **Divisão directa:** — A divisão directa é caracterizada pela bipartição do núcleo por símplez estrangulamento; quasi todas as céllulas, em que ella se effectua, tẽem um núcleo em alforge; este alonga-se, estira-se, depois contráe-se na parte média e separa-se em dois; o corpo cellular por seu turno faz outro tanto e a céllula acha-se assim dividida em duas.

VAN BENEDEN em 1876 chamou a este processo de divisão — *Segmentação;* FLEMMING chamou-lhe em 1879 — *Divisão directa,* e, mais tarde em 1882, — *Amitóse* ou *divisão amitótica;* ARNOLDT em 1883 deu-lhe o nome de—*Segmentação indirecta;* HERTWIG em 1884 o de—*Divisão nuclear por estrangulamento;* e CARNOY em 1885 o de —*Divisão acinética.*

A sua representação póde ver-se nas figuras XXI e XXII,

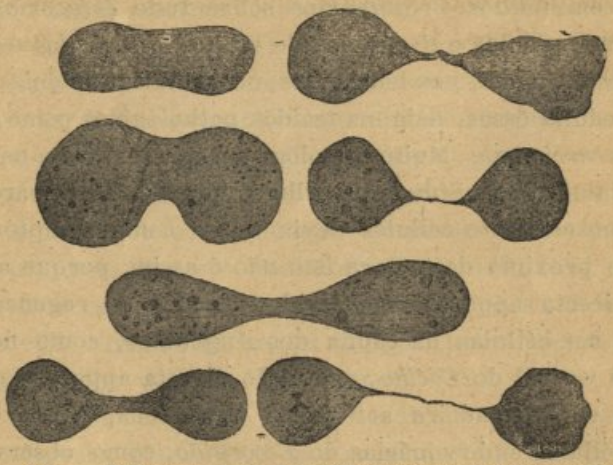

Fig. XXI. — Differentes estados da divisão directa dos núcleos nas céllulas da serosa do embrião do *Escorpião* (segundo Johnson).

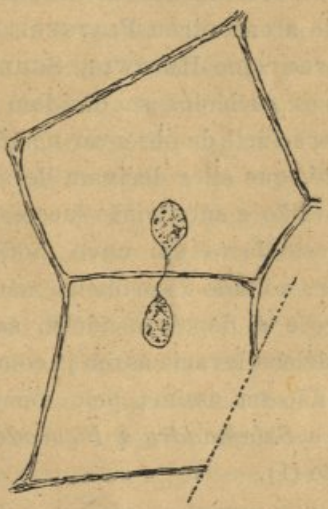

Fig. XXII. — Céllula em via adeantada de divisão directa da serosa dum embrião de *Escorpião*. Os dois núcleos-filhos estam ainda reunidos por um longo pedículo; as duas céllulas-filhas estam separadas por uma placa cellular (segundo Johnson).

e deve assignalar-se que a divisão directa tem sido observada em muitos Protozoários sôbre tudo *Infusórios,* nas espermatogónias e ovogónias de muitos *Batráchios* e diversos *Arthrópodes,* nos leucócytos, nas céllulas esplénicas, nas da medulla óssea, nalguns tecidos pathológicos como *sarcômas* e *carcinômas.* Muitos cytologistas apresentaram-na como um signal de senilidade da céllula; quando ella apparecesse nalgum elemento cellular devia ter-se como symptoma de morte proxima deste; ora isto não é assim, porque a divisão directa apparece em tecidos em via de regeneração, como nas céllulas da cauda dos *Amphíbios,* como no epithélio vesical do *Coêlho;* a divisão directa apparece em tecidos em verdadeira actividade formadora, por exemplo nas céllulas embryonárias do *Escorpião,* como observaram JOHNSON e BLOCHMANN, e apparece em tecidos perfeitamente normaes como no revestimento dos tubos de MALPIGHI do *Hydróphilo,* onde a encontrou PLATNER.

Alguns auctores como HERTWIG, SCHULTZE, ZORAKAWA, etc. querem que os nucléolos se dividam por este mesmo processo, como era fácil de observar nos *Batráchios;* AUERBACH sustenta até, que elles derivam de um unico nucléolo primitivo por divisão e subdivisão successiva e FRENZEL em 1891 creou por este facto um novo modo de divisão — a *Divisão nucleolar:* ao lado do primeiro nucléolo formar-se-ia um nucléolo novo e só depois o núcleo se dividiria; cada um dos novos núcleos levaria assim já comsigo um nucléolo. Ora isto parece não ser assim; pelo menos para o *Tritão* [JORDAN] e para a *Salamandra* e *Pleurodeles* a divisão nucleolar não existe (1).

---

(1) *La Céllule,* Tomo XII, 1897. J. B. CARNOY e H. LEBRUN: *La vésicule germinative et les globules polaires chez les Batraciens,* pag. 281.

A maneira como os nucléolos se comportam na divisão directa é muito obscura e disso é exemplo esta discordância; egualmente obscura é a determinação da acção que na divisão directa desempenham os centrosômas e as espheras attractivas. Nalguns casos, como nos leucócytos da *Salamandra,* a divisão directa effectua-se sem que o centrosôma se veja dividir; elle faltará portanto numa das céllulas-filhas e esta, por consequéncia, tornar-se-hia incapaz da de divisão pelo menos por amitóse [FLEMMING, 1891].

Noutros casos como nalguns leucócytos plurinucleados, tem-se visto alguns rudimentos de figura achromática, como que um esbôço de fuso [HEIDENHAIN, 1892]. Estes factos levam á suspeição de que talvez na divisão directa se produzam figuras intermédias, não reveladas aínda, análogas ou semelhantes ás da divisão indirecta, como que rudimentos desta; talvez na estructura das formações nucleares no momento da divisão se possa vir um dia a construir uma série completa de termos transitórios, indo insensivelmente das formas mais símplez e banaes da divisão, para as mais complexas e problemáticas; este capitulo está completamente por fazer e as suspeitas nascem no espírito apenas provocadas pela existéncia de alguns factos, que sam realmente suggestivos, donde parece derivar-se que o centrosôma exerce em verdade algum papel na divisão directa.

Tal o facto de MEVES vendo nas espermatogónias da *Salamandra,* no momento da divisão directa, o centrosôma estender-se numa fita, cruzar o núcleo no ponto em que este vae scindir-se e abraçá-lo, cingí-lo por meio de um annel, em que se transfórma, parece que para auxiliar com a sua constricção a divisão da massa nuclear [1891].

Tal o facto de FLEMMING, observado em muitos leucócytos, em que o centrosôma se colloca sempre em frente do ponto em que se faz a divisão, como que para a dirigir, ordenar e orientar [1891].

Tal o facto descripto por ARNOLD [1889] nas céllulas da medulla dos ossos, do baço, dos sarcômas, dos carcinômas e nos leucócytos, onde encontrou um modo singular de divisão nuclear; o núcleo fragmenta-se num grande número de partículas construindo figuras extravagantes, em que os elementos chromáticos apresentam uma disposição mais ou menos filamentosa, figuras que ARNOLD considera como intermediárias entre as de divisão directa e as de divisão indirecta. CARNOY encontra esta mesma disposição nos *Arthrópodos* e perfilha a mesma opinião, a qual mais recentemente GÖPPERT confirmou em 1891 nos leucócytos da camada lymphoide do fígado da *Salamandra,* verificando a mesma disposição mas notando que, em geral, os núcleos das céllulas, em que se pratíca a *Fragmentação nuclear de* ARNOLD, sam núcleos annullares. Ora trabalhos recentes de VON KCSTANECKI em 1892 e de MEVES em 1893, mostram que os núcleos annulares podem provir da divisão caryocinética.

Vê-se por consequencia que a divisão directa, quer na determinação do papel a attribuír aos centrosômas e á esphera attractiva, quer na determinação das suas relações com a divisão indirecta, offerece aínda muitos problemas a estudar.

A synonímia da divisão directa é esta:

Divisão nuclear por estrangulamento	[HERTWIG]
Divisão directa	[FLEMMING]
Divisão amitótica	[FLEMMING]
Amitose	[FLEMMING]
Holoschisis	[FLEMMING]
Divisão acinética	[CARNOY]
Stenose	[CARNOY]
Segmentação indirecta	[ARNOLD]
Simplez estrangulamento do núcleo ou	[CARNOY].
Caryostenose	[CARNOY].

*

B) **Esporulação:** — Um outro modo especial de multiplicação cellular consiste no seguinte: o corpo cellular divide-se num grande número de porções; o núcleo faz outro tanto e cada uma das porções deste aloja-se numa divisão do corpo celllular; ulteriormente estas divisões separam-se e cada uma constituë uma céllula nova *(Protozoários, Cryptogámicas)*. A divisão póde iniciar-se pelo núcleo e ser seguida ulteriormente da do protoplasma *(Gregarinas)*. A este modo de divisão deu-se o nome de — *Esporulação*.

*

C) **Conjugação:** — Um modo especial de reproducção cellular consiste na união de dois elementos cellulares para a producção de uma céllula nova, que se torna o ponto de partida de um novo indivíduo. A *fecundação* constituë um modo particular da *conjugação*. Esta póde ser *egual*, — os elementos que se unem têem o mesmo volume (algas, como a *Pandorina morum*, flagellados como o *Polytoma uvella*), ou *desegual* — os elementos que se unem teem volumes differentes (algas e flagellados como o *Phacotus certicularis*). A conjugação póde aínda effectuar-se por dois processos differentes: — fusão completa dos dois corpos protoplásmicos e respectivos núcleos — *confusão (confusio) de* Rolph; ou fusão incompleta dos dois núcleos, que préviamente soffrem mu-

tações notaveis — *interfusão (interfusio) de* ROLPH. Exemplo de confusão offerecem-no por exemplo as *Vorticellas;* da interfusão offerecem-no os *Infusórios ciliados.*

*

D) **Divisão indirecta:** — O processo de multiplicação cellular mais complicado é o conhecido pela designação de — *divisão indirecta.* É extraordinàriamente complexo, já pelos phenómenos que se passam no núcleo, já pelos que decorrem no protoplasma. O núcleo intervém por uma fórma inexcedivelmente activa, não porque desappareça, mas porque se metamorphoseia de fórma singularíssima; essa metamorphose fez com que AUERBACH chamasse á divisão indirecta — *caryólyse.*

Effectivamente a essência deste processo consiste em que as diversas substáncias chymicas, que existem no núcleo em repouso, se separam nitidamente umas das outras, adquirem disposições typicas e entram em relação mais directa com o corpo protoplásmico em seguida á desapparição da membrana nuclear. O que sôbretudo impressiona na divisão indirecta é a disposição regular, que toma a nucleina; é ella por isso a que até agora tem sido melhor estudada nas suas minúcias, emquanto que pelo que respeita ao destino das outras substáncias do núcleo ha aínda muitos problemas extremamente obscuros.

Na divisão indirecta, que SCHLEICHER em 1878 designou por — *cariocinése* (κάρυον «núcleo» κινησις «movimento») o núcleo e o corpo cellular dividem-se ambos, mas fazem-no em tempos differentes, sendo a divisão nuclear a que tem

logar primeiro. Porque a designação de SCHLEICHER parece attribuír ao núcleo um papel exclusivo na execução do phenómeno, HENNEGUY propoz-se substituíla, e com razão, por — *Cytodiérese* (κύτος «céllula» διαιρεσις «divisão»), afim de mostrar que nelle intervem toda a céllula. E como o phenómeno é extremamente complicado e constituído pela successão de muitas operações parciaes, a fim de systematisar a descripção STRASBURGER em 1884 fez delle uma divisão em tres grandes phases que, consideradas em separado, permittem analysá-lo com a maior simplicidade. Caracterisou-as assim: — á phase que se inicia nas primeiras mutações do núcleo-mãe, que começa a desaggregar-se, formando um novêllo e que concluë quando está terminado o desdobramento longitudinal dos filamentos chromáticos chamou STRASBURGER — *Prophase;* aos phenómenos, que presidem á formação da placa equatorial e sua separação em duas meias placas, chamou — *Metaphase;* ao conjuncto dos differentes estados de reconstituição dos núcleos-filhos chamou — *Anaphase.* Estudêmo-los separadamente:

a) **Prophase:** — O primeiro phenómeno da prophase consiste na apparição no núcleo de um filamento único contornado sôbre si mesmo um grande número de vezes como para formar um novêllo apertado. Como o filamento se contorce num grande número de espiras, FLEMMING chamou a este primeiro phenómeno — *Espirema* (σπειρεμα «prega»). Provém este filamento da ruptura das malhas da rêde de linina? Provém do arranjo mais regularisado do filamento com numerosas ansas, descripto por CARNOY? Neste caso o filamento não seria contínuo, — seria formado de segmentos dispostos topo a topo, e então o enrolamento de cada segmento continuaria o enrolamento do anterior sem nunca se ramificar nem soldar aos seus vizinhos. Provirá este fi-

lamento da ruptura das trabéculas, que unem entre si as ansas de RABL? A nenhuma d'estas interrogações é permittido responder por emquanto; é possivel que todas as fórmas tenham logar (Fig. XXIII).

O segundo phenómeno é caracterisado pelo encurtamento deste filamento, que se torna mais homogéneo e mais

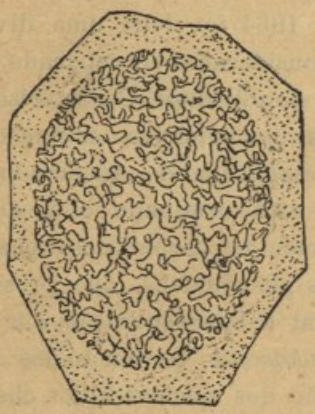

Fig. XXIII. — Núcleo no principio da divisão duma cellula epithelial do apparelho branchial duma larva de *Salamandra*. Persistem ainda dois restos de nucléolos (segundo FLEMMING).

Fig. XXIV. — Núcleo dum espermatómetro da *Salamandra maculata*; eschemático (segundo FLEMMING).

grosso, donde resulta que as ansas do novello anterior se distanceiam e separam: existe aínda um espirema mas formado por um novêllo solto, pouco apertado, laxo (Fig. XXIV).

O terceiro phenómeno póde chamar-se — *de novèllo segmentado,* porque o filamento se divide *transversalmente* num certo número de segmentos chamados — *Chromosômas* [WALDEYER] ou *Cariomitômas* [FLEMMING) ou *Segmentos nucleares* [HERTWIG]; se a hypóthese de RABL para a constituição do núcleo é verdadeira, esta divisão é desnecessária, porque cada ansa constituë já um chromosôma; nas

outras hypótheses a segmentação é necessária e ella póde effectuar-se em número variavel; os chromosômas contam-se por dezenas e centenas nos vegetaes; nos animaes o seu número habitual é de doze a vinte e quatro, nalguns mesmo menos, como na *Ascaris megalocephala* em que é apenas de quatro ou dois, e que é por isso preciosa para o seu estudo (Fig. XXV).

O quarto phenómeno é designado por — *Segmentação longitudinal.* Desde que os chromosômas estam separados,

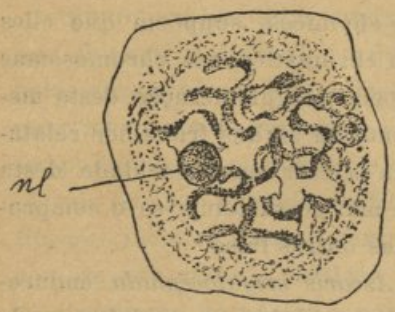

Fig. XXV. — Célula-mãe pollínica do *Lilium Martagon.* Os segmentos chromáticos, em numero de 12, estam livres na cavidade nuclear; as duas metades que constituem cada um delles tornaram-se nitidamente visiveis. *nl*, — nucléolo (segundo Guignard).

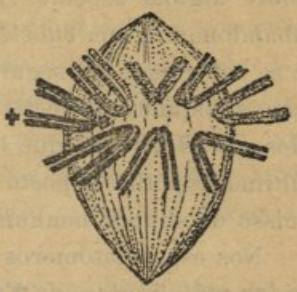

Fig. XXVI. — Representação eschemática da segmentação nuclear (segundo Flemming).

reconhece-se que elles não sam símplez mas formados de dois filamentos parallelos estreitamente approximados; esses dois filamentos sam unidos por uma fina linha clara, ao longo da qual elles se separam (Fig. XXVI). O momento, em que esta separação começa, está por determinar, mas ella é de primeira importância porque reparte de uma maneira rigorosamente egual a chromatina do núcleo-mãe entre os dois núcleos-filhos. A esta altura os nucléolos têem-se atrophiado e têem desapparecido. Nunca mais torna a haver

notícias d'elles senão quando os núcleos-filhos estam formados; ahi reapparecem com os mesmos caracteres, que possuíam na céllula-mãe.

O que se passou neste intervallo? Alguns histologistas pensam que os nucléolos vam formar os centrosômas e que por estes sam reconstituídos de novo; outros como ZIMMERMANN [1893] asseguram que, nas plantas, elles se dissociam, se espalham sob a fórma de pequenos gránulos chromáticos no cytoplasma e se agglomeram de novo para formar os nucléolos das novas céllulas; outros aínda, fundando-se sôbre alguns aspectos histo-chymicos, suppõem que elles abandonam a sua substáncia chromática aos chromosômas e se reformam em seguida pela reagglomeração desta mesma substáncia; effectivamente ha alguns trabalhos relatados por HERTWIG, que levam a crêr na veracidade desta última hypóthese, posto que não possa tomar-se o compromisso de suppôr nenhuma das outras falsa.

Nos espermatómeros da *Ascaris megalocéphala* endurecidos pelo líquido de FLEMMING diluído, a nucleína perde a sua colorabilidade, emquanto que os nucléolos se córam de vermelho escuro pela fuchsina ácida. HERTWIG verificou, que nos estádios preparatórios da divisão, o nucléolo se fragmenta em muitas peças, de que as mais pequenas se resolvem, ao mesmo tempo que fragmentos semilhantes córados de vermelho escuro se acham applicados sôbre os filamentos nucleares. Quando mais tarde os chromosômas estam completamente formados e o núcleo tem inteiramente desapparecido, então apparecem os corpúsculos polares á superfície do núcleo, e ao mesmo tempo cada chromosôma encerra um corpúsculo vermelho-escuro, que se comporta a respeito das matérias córantes como a substáncia do nucléolo.

Algumas outras reacções interessantes das matérias córantes pleiteiam aínda a favor da incorporação da substán-

cia nucleolar nos chromosômas, mas provavelmente no estado de fragmentos muito mais reduzidos. Como WENDT observou nos vegetaes, o esqueleto nucleínico dos núcleos do sacco embryonário de diversas *Liliáceas* córa-se de azul esverdeado pela mistura de fuchsina e verde iode, emquanto que os nucléolos tomam uma coloração vermelha. Pelo contrário, durante os estados de divisão em que os nucléolos não existem, os chromosômas córam-se de violeta. Quando, mais tarde, os nucléolos reapparecem nos núcleos-filhos, os filamentos nucleares retomam a coloração azul esverdeada.

WENDT explica estas mudanças de coloração admittindo que, durante a divisão, a substáncia nucleolar é absorvida pelos chromosômas e que depois da divisão ella sáe dalli para formar os novos nucléolos. Seja como fôr, ao mesmo tempo que estes phenómenos decorrem no núcleo, no cytoplasma têem-se iniciado modificações curiosas. Essas modificações incidem sobre o centrosôma e a esphera attractiva, com ou sem camada cortical.

Emquanto no núcleo o novello se vae formando, na esphera attractiva, irradiando do centrosôma, vam-se tornando nítidos os raios plásmicos, dispostos como os raios emanados dum ponto luminoso. Como a esphera primitivamente está encostado ao núcleo, só do lado opposto a este se vêem no comêço esses raios; mas, dentro em pouco, a esphera afasta-se do núcleo e entam os raios plásmicos vêem-se em todo o contôrno do centrosôma: o *aster* está desde então visível, com os nomes de — *Radiação protoplásmica, Figura radiada, Estrella* e *Sol*.

Logo depois o centrosôma divide-se: a granulação única primitiva é substituída por duas granulações. A esphera, primeiro única, depressa acompanha essa divisão do centrosôma; dá-se a sua divisão e ficamos assim com dois centrosômas e duas espheras, formações eguaes, nas quaes se con-

stata disposição egual á inicial, isto é, ficamos com dois asters. Estes afastam-se; cada um tende para um polo opposto do núcleo; e, ao mesmo tempo que se realiza esse afastamento, a membrana nuclear váe desapparecendo, fundindo, a ponto de que, daqui por diante, não ha distincção possivel entre phenómenos intra e extra-nucleares (Fig. XXVII). Alguns auctores, como SCHWARTZ e SCHNEIDER, negam esta desapparição da membrana; mas FLEMMING viu nitidamente, com effeito, nos glóbulos vermelhos do *Tritão*, a hemoglobina chegar ao contacto dos chromosômas.

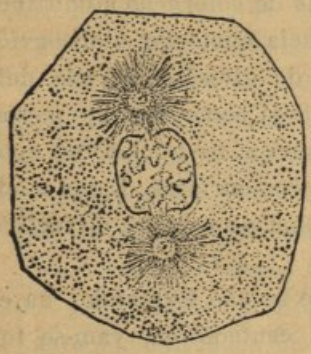

Fig. XXVII. — Céllula do germen da *Truta*. A membrana do núcleo desappareceu nos dois polos. Os raios dos Asters penetram no interior do núcleo (segundo HENNEGUY).

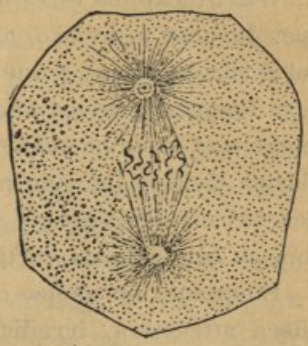

Fig. XXVIII. — Céllula do germen da *Truta*. A membrana nuclear desappareceu inteiramente. O fuso achromático está quasi constituido e os chromosômas começam a dispôr-se no equador do fuso (segundo HENNEGUY).

Os dois asters não sam independentes; longe disso: trabéculas finissimas, duma extrema tenuídez, lançam-se entre elles, distinctas umas das outras, afastadas, sendo o seu maior afastamento correspondente ao meio do seu trajecto; dessa disposição deriva um novo phenómeno, — a formação de um *Fuso*, cuja assimilhação geométrica póde fazer-se, dizendo que elle desenha dois cónes, que se unem pelas suas bases e em cujos vértices estam os asters (Fig. XXVIII).

Sam os raios do Aster idénticos aos filamentos do fuso? Alguns histologistas votam pela affirmativa, como RABL e HERMANN; outros admittem differenças nas duas formações, suppondo que os raios do aster sam constituídos por granulações (microsômas) orientados de maneira especial; FLEMMING até, em 1892, para accentuar esta ideia, propôs para o aster o termo — *Astroide,* e o de — *Diastroide* para o momento em que ha dois asters.

A successão destes phenómenos dá ao corpo cellular, neste momento, um aspecto original e notavel produzido pelo conjuncto destas formações e pela sua posição recíproca; effectivamente, neste momento, ha no corpo cellular:

1) Os *polos,* comprehendendo cada um o seu centrosôma e uma esphera attractiva, ou um aster, que irradia no cytoplasma em volta do polo, salvo na região occupada pelo fuso; a figura constituida por este aster duplo, por estes dois asters, como eu tenho dito, chama-se — *Amphyaster* (Fol.), e onde ella póde estudar-se melhor é nos ovos dos *Echinodermas.* Em cada um dos asters do amphyaster, o grupo de raios oppostos ao núcleo é de ordinário mais accentuado que o dos raios visínhos do núcleo; é diametralmente opposto ao grupo correspondente do outro aster e fórma com elle uma figura symétrica, a que BOVERI chamou — os *Cónes antípodas.* Por este motivo, a superficie do núcleo, situada em frente do campo polar, é chamada — *Antípoda polar.*

2) O *fuso,* formado de filamentos que vam de um polo a outro, passando pelos chromosômas.

3) Os *chromosômas,* dispostos em círculo regularmente em volta do equador do fuso, e fóra d'elle; têem nesta altura tomado uma fórma em ansa regular e sam orientados, sem excepção, por fórma que o vértice da ansa olha o eixo do fuso e os ramos divergentes voltam-se para fóra, para

o cytoplasma, formando, neste estado, uma placa chamada — *Placa equatorial* ou *Placa nuclear* (Fig. XXIX). Desde que esta está constituida, entramos na metaphase.

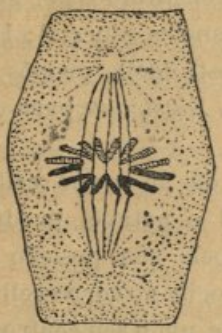

Fig. XXIX. — Phase da placa ou coróa equatorial, eschemática. (segundo MATTHIAS DUVAL).

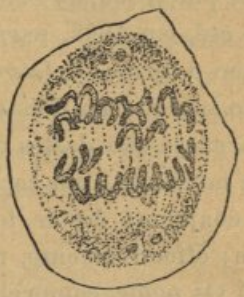

Fig. XXX. — *Lilium mortagon.* Transporte dos segmentos secundários para os polos. Fios connectivos estam lançados entre os dois grupos chromáticos (segundo GUIGNARD).

b) **Metaphase** [Metacynése de FLEMMING (1882)]: — Imaginêmos que os filamentos constitutivos do fuso, estendendo-se dos polos aos chromosômas, se contráem encurtecendo, supposição que de facto parece effectuar-se; cada chromosôma scindir-se-ha ao longo da fita longitudinal hyalina, que encerra, e dividir-se-ha assim em duas ansas chamadas — *Ansas gemeas* por VAN BENEDEN. O encurtecimento de cada fibra dá em resultado uma deformação de cada ansa, que cada vez se afasta mais da sua congénere, começando o afastamento das duas pelo meio, de modo a constituírem primeiro uma ellipse alongada transversalmente, depois um círculo, depois uma ellipse cujo primeiro eixo será dirigido como o do fuso; as duas ansas mantêem-se unidas só pelas extremidades, mas, afinal, mesmo estas se separam (Fig. XXX); a placa equatorial é então substituída por duas meias placas. Daqui por diante começa a anaphase.

c) **Anaphase**: — Cada uma das ansas é arrastada para cada um dos polos. Uma e outra se approximam muito do polo respectivo, mas nunca o attingem; entre os vértices dos chromosômas, que não chegam ao contacto, e a esphera attractiva, que elles não attingem, fica um pequeno espaço chamado — *Campo polar,* que, se fosse verdadeira a hypothese de RABL, representaria o seu *campo polar de repouso.* Ora, emquanto dura esta deslocação dos chromosômas, as ansas gémeas ficam sempre unidas por fibras finíssimas, lançadas entre ellas, e chamadas — *Filamentos connectivos,* os quaes seram tanto mais longos, quanto mais vizinhas as ansas forem dos polos. A existéncia destas fibras confunde singularmente os histologistas, e levanta, a respeito da constituição do fuso, problemas que estam insoluveis aínda agora.

Quem primeiro descreveu estas *fibras reunidoras* ou *filamentos connectivos* foi VAN BENEDEN. Para elle as coisas passam-se assim: — Se os filamentos, que vam dos polos aos chromosômas, constituíndo o fuso, se interrompem ao nivel destes, então estes filamentos connectivos sam de nova formação com toda a probabilidade derivados da fita de substáncia hyalina, que divide longitudinalmente o chromosôma, ao longo da qual se faz a separação deste em duas ansas gemeas e que se estiraria em fios quando estas se separam; a emigração dos chromosômas da placa equatorial para os polos effectuar-se-ha então por contracção dos filamentos constitutivos do fuso.

VAN BENEDEN e BOVERI attribuem-lhes um papel activo na execução deste phenómeno, e formam por isso do fuso uma concepção original. Em sua opinião o fuso, como póde vêr-se por exemplo na *Ascaris,* compõe-se de dois meios fusos independentes um do outro; cada um delles compõe-se de numerosas fibras protoplásmicas, que convergem para

o corpúsculo polar e se fixam ahi por uma das suas extremidades, emquanto que as suas extremidades oppostas divergem approximando-se das ansas nucleares e fixando-se em differentes pontos aos chromosômas-filhos, dirigidos do seu lado. Como na *Ascaris* só ha quatro chromosômas, os quatro segmentos filhos afastam-se do plano equatorial, e sam attraídos para o corpúsculo polar, graças ao encurtamento destas fibras determinado por uma contracção. LUSTIG e GALEOTI (1893) estam de accordo com este modo de vêr de VAN BENEDEN e BOVERI (Fig. XXXI).

Fig. XXXI. — Composição do fuso em dois meios fusos cujas fibras se fixam sobre os segmentos nucleares-filhos; eschemática (segundo VAN BENEDEN e NEYT).

Mas, supponhamos que esses filamentos connectivos não sam senão a parte média de filamentos contínuos lançados de um polo a outro; nesse caso a emigração dos chromosômas será devida não a uma contracção das fibras do fuso, como eu figurei na metaphase, mas a um escorregamento destes sobre as fibrillas do fuso; e o que vemos como fibras connectivas é, não o resultado da extensão da fita longitudinal hyalina, mas a porção média dessas fibras do fuso, Esta hypóthese, apresentada por STRASBURGER, comprehende-se bem; e então que força faria emigrar os chromosômas? provavelmente uma attracção chymiotatica procedente das espheras attractivas.

As coisas podem porém conceber-se aínda doutro modo. Depois da emigração dos chromosômas as fibras lançadas entre os asters continuam a vêr-se; supponhamos que as fibras do fuso não mantêem a sua continuidade ao nivel dos chromosômas; supponhamos que a fita longitudinal hyalina se não estira em fio; aínda assim os filamentos connectivos podem vêr-se. Mas então é preciso admittir que elles não

sam lançados entre os chromosômas, mas sim que sam a parte média de filamentos lançados de polo a polo e independentes dos chromosômas.

HERMANN apresenta esta hypóthese, suppondo que, na anaphase, existem dois fusos: — um, *periphérico*, constituído como quer VAN BENEDEN; outro, *Fuso central*, constituído por fibras directamente lançadas de um polo a outro. Depois da progressão dos chromosômas e encurtamento, por contracção, das fibras do fuso periphérico, ficar-se-hia aínda a ver esta parte média das fibras do fuso central. Nos *Echinodermes*, por exemplo, é facil ver os dois asters reunidos

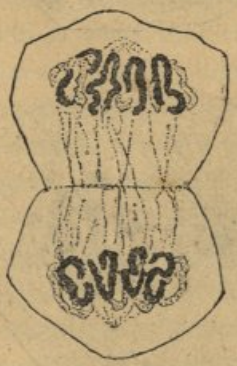

Fig. XXXII. — Representação eschemática da divisão nuclear para a formação dos núcleos-filhos (segundo FLEMMING).

por fibrillas verticaes constituindo um halter, que outra coisa não é senão um fuso central. Tal seria, por exemplo, a disposição representada na figura XXXII.

Acceitar ou repudiar qualquer destas opiniões não é coisa para mim possivel. Para se fazer ideia da difficuldade que estes factos representam, basta notar o que succede na

figura XXXIII: — *a* e *b* são duas céllulas irmãs (1) e na mesma phase; *b* é porém vista de perfil e já então mostra elementos fusoriaes, que na posição *a* não apparecem.

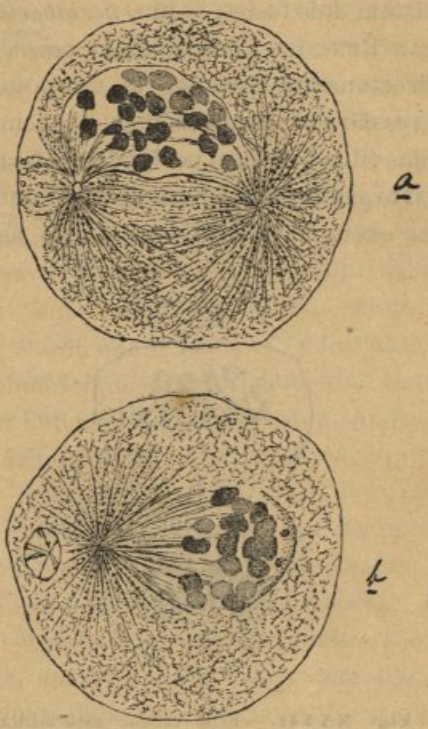

Fig. XXXIII. — Espermatócytos da *Helix pomatia* (segundo Bolles Lee).

Outro tanto succede para a questão, egualmente duvidosa, de saber se os elementos do fuso sam de origem nuclear ou extranuclear. Nós temos até aqui descripto a apparição do fuso, a progressão dos chromosômas para os

(1) Bolles Lee, loc. cit., estampas 10 e 10 bis.

polos e portanto a desapparição dos elementos do fuso, se aquella se não faz por símplez escorregamento das ansas gemeas; ora muitas vezes a formação do fuso é observada da maneira seguinte:

O centrosôma com a sua esphera attractiva divide-se; as suas duas porções afastam-se e dirigem-se para as duas extremidades de um mesmo diámetro do núcleo, girando sobre a membrana intacta deste; depois os centrosômas afastam-se um pouco do núcleo, e, entre este e elles, apparece um espaço claro; em volta de todo o núcleo, ao mesmo tempo, fórma-se tambem um espaço claro, emquanto que a membrana nuclear se engêlha e enruga um pouco, como que para expremer de si o succo que vae formar esse espaço claro; só então se vêem filamentos a partir dos polos, a dirigirem-se para o núcleo, englobando-o, formando um fuso completo, phenómeno que coincide com a desapparição da membrana nuclear e com a connexão dos chromosômas com os filamentos do fuso.

Esta opinião, que admitte a origem extra-nuclear dos elementos do fuso, é partilhada por STRASBURGER, GUIGNARD e quasi todos os botánicos, e aínda por alguns zoólogos, como FOL, BOBRETSKY, BOVERI (1888), HENNEGUY (1891). Outros, como BÜTSCHLI, PFITZNER, CARNOY, RABL, HERTWIG, GRÜBER, ZACHARIAS, SCHEWIAKOF, VAN DER STRICHT, suppõem que os filamentos do fuso provêem sempre exclusivamente da rêde de linina, porque, em certos casos, o fuso inteiro póde achar-se no interior do núcleo, quando a membrana nuclear está ainda intacta: é facto observado por O. HERTWIG (1875, 1877, 1878) e H. FOL (1877) nos ovos de certos *Gasterópodos* inferiores como a *Pterotrachea,* a *Phyllirhoe,* etc., por SCHEWIAKOFF na *Euglypha* e R. HERTWIG em diversos infusórios.

Entretanto HENNEGUY (1891) fez notar que estes factos

não sam tam demonstrativos, como parecem, porque as espheras attractivas estam exteriormente encostadas á membrana nuclear nos pontos em que terminam os polos do fuso; a membrana é, portanto, atravessada, furada, nestes pontos, e por estes orifícios os elementos do fuso tanto podem entrar como saír. A figura XXVII (pag. 212) parece dar-lhe uma certa razão. VAN DER STRICHT (1894) admitte que das fibrillas, que partem dos centrosômas, umas se vam ligar aos chromosômas e formam os — *cones principaes* ou *cones de attracção de* VAN BENEDEN, outras ficam independentes dos chromosômas e formam os — *cones accessórios,* mas que uns e outros sam extra-nucleares.

Outros histologistas têem uma opinião intermédia; VAN BENEDEN (1883), FLEMMING (1891) PLATNER, HERMANN (1891), MITROPHANOW (1894) attribuem ao fuso uma origem dupla: o que nós chamamos — *fuso central,* — e, no caso dum fuso único, a porção polar deste fuso, — parece provir indubitavelmente da substáncia mesma das espheras attractivas ou do cytoplasma ambiente, como os raios do aster; mas a porção equatorial do fuso periphérico, — ou do fuso único se não ha senão um, — proviria dos filamentos de linina, convenientemente dispostos.

Tenham as coisas logar como tiverem, o que é certo é que, depois da progressão dos chromosômas se ter realizado, o estado de repouso vae reconstituir-se; uma nova phase, que póde chamar-se — *Dispirema,* evoluciona por fórma que os mesmos phenómenos quasi que se praticáram no princípio, vam produzir-se, mas por ordem inversa.

Em cada um dos polos os chromosômas perdem a sua fórma e a sua disposição regulares; os seus ramos contornam-se, as suas ansas abrem-se, alongam-se e finalmente arranjam-se num conjuncto irregular, que lembra o estado de novello segmentado; depois approximam-se, tornam-se

menos distinctos uns dos outros, formam mais ou menos nitidamente o novello apertado: está attingido o *dispirema*. Por último a fórma do ou dos cordões torna-se irregular, engelhada, como se filamentos muito finos crescessem aos seus lados e, sem se saber como, o estado de rêde em repouso está attingido.

O fuso central, depois que os chromosômas alcançaram os polos, torna-se menos distincto, e, á medida que o estado do dispirema se approxima do seu fim, vae elle desapparecendo gradualmente, até se eliminar de todo. O aster, ao mesmo tempo, amortece de intensidade nos polos; a esphera attractiva com o seu centrosôma torna-se menos distincta e aloja se numa depressão da membrana nuclear, sem, todavia, mudar de logar; o estado de repouso está então attingido (Fig. XXXIV).

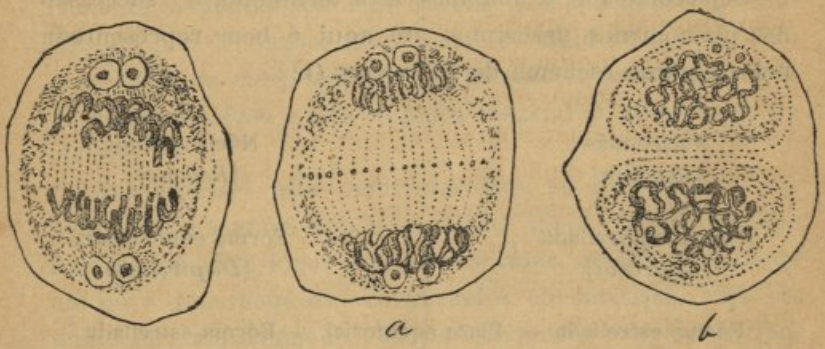

Fig. XXXIV. — *Lilium mortagon.* Estados successivos da reconstituição dos núcleos-filhos. Em *a* a placa nuclear apparece sob a fórma duma linha granulosa; em *b* os núcleos estam formados e as espheras occupam a sua face externa, ficando extra-nucleares (segundo Guignard).

Parece derivar-se daqui que a rêde de linina provém dos chromosômas; os chromosômas da futura divisão serám provenientes desta mesma rêde; logo os chromosômas subsistem indefinidamente mas ninguem sabe até agora se as

coisas se passarám, em toda a parte e sempre, com esta simplicidade; dahi vêem novas discordias: — Para uns, os chromosômas sam constantes em número mas não em substância, e o filamento nuclear recorta-se, no momento da divisão, não importa como (O. HERTWIG); para outros a permanéncia da substância existe, ou porque o filamento se recorta sempre nos mesmos pontos em cada divisão (STRASBURGER, BOVERI), ou porque os chromosômas nunca perdem a sua individualidade (RABL) na constituição dos núcleos-filhos; articulam-se sempre, mas nunca se fundem.

Pelo que respeita ao número a questão é mais facil; os zoologistas affirmam todos que o número de chromosômas é sempre o mesmo; ainda VOM RATH, em 1894, por investigações no *Cão, Salamandra, Ascaris,* etc., o confirmou; para os vegetaes fazem-se algumas reservas.

Seja como fôr, a anaphase está terminada e a successão dos phenómenos descriptos até aqui é bem representada pelo seguinte eschema de FLEMMING (1):

Núcleo-mãe		Núcleos-filhos
[*Repouso*]		[*Repouso*]
↓		↑
Fórma ennovellada		Fórma ennovellada
[*Espirema*]		[*Dispirema*]
↓		↑
Fórma estrellada →	Placa equatorial →	Fórma estrellada
[*Aster*]	[*Metacinése*]	[*Diaster*]

d) **Telophase**: — HEIDENHAIN em 1884 reconheceu, que a divisão indirecta da céllula não está completamente termi-

(1) LUCIEN COURCHET: *Du noyau dans les céllules végétales et animales. Structure et fonctions.* Paris. Oct. Doin. Ed. 1884, pag. 107.

nada no fim da anaphase, quando os núcleos-filhos estam reconstituidos, e propôs designar com o nome de —*Telophase* a série dos phenómenos seguintes, que se observam no cytoplasma depois da anaphase, bem como a regressão dos restos das figuras achromáticas. Effectivamente, reformado, duplicado o núcleo, a céllula não está aínda dividida; alguns phenómenos novos decorrem mesmo durante a divisão.

Nas plantas, antes do fuso central desapparecer, vê-se surgir sobre cada um dos filamentos unidores, exactamente no plano equatorial, uma pequena nodosidade; todos estes pequenos gránulos fórmam, pela sua união, uma placa chamada — *Placa cellular* por FLEMMING ou *Phragmoplasta* por ERRERA, que é destinada a formar a membrana de separação entre as duas céllulas (Fig. XXXIV *a*). CARNOY distingue aínda na placa cellular duas partes, que encontra inteiramente distinctas nos *Arthrópodos:* — a *placa fusorial* constituída por dilatações dos filamentos unidores, e a *placa completiva* ou *marginal* ou *cytoplásmica*, que apparece fóra da região do fuso e une a placa fusorial á membrana da céllula.

Nos animaes esta particularidade só se encontra por excepção, e sempre sob uma fórma mais rudimentar que nas plantas. Em logar da placa cellular, acham-se sómente um ou muitos pequenos corpúsculos chromáticos, cuja reunião fórma o chamado—*Corpo intermediário de* FLEMMING, os quaes desapparecem depois da divisão. O corpo intermediário foi encontrado nas céllulas cartilagíneas por FLEMMING (1882), nas céllulas da córnea do *Tritão* por GEBERG (1891), na *Ascaris megalocéphala* por VAN BENEDEN (1891) e por PRENANT (1892) etc.

e) **Divisão do corpo cellular:** — Á producção destes phenómenos segue-se a divisão do corpo cellular, que é tão

simplez quanto a divisão nuclear é complicada; essa divisão começa já durante a anaphase, quando as ansas gemeas attingem os polos: na peripheria da céllula, exactamente no plano equatorial, fórma-se um sulco; esse sulco accentua-se gradualmente, de maneira que, quando os asters se amortecem, é completo o circulo por elle formado em tôrno da céllula; nos momentos seguintes de cada vez se aprofunda mais, de modo que, dentro em pouco, acaba por cortar a cellula-mãe em duas céllulas-filhas, cada uma das quaes contém um núcleo dos novi-formados. A figura XXXIV *b*, dá idêa do facto. Esta descripção applica-se evidentemente ao caso geral, porque a divisão do núcleo póde ter logar um grande número de vezes sem ser seguida da divisão do protoplasma; e essa disposição tanto póde ser transitória como permanente, por exemplo na *Vaucheria*.

*

E) **Divisões indirectas anormaes:** — Em 1887 FLEMMING descreveu uma variedade de divisão indirecta na qual a divisão longitudinal dos chromosômas não tem logar pela fórma descripta aqui, antes por est'outra: os chromosômas dividem-se em dois grupos eguaes; cada um desses grupos dirige-se para um dos polos, onde os chromosômas existem portanto em número metade menor do número total dos chromosômas da céllula; só ahi nos polos é que elles soffrem uma divisão longitudinal, que reconduz o seu número ao número normal. HACKER, em 1892, constatou que este modo de divisão se encontra só nas céllulas-mães dos elementos sexuaes, e FLEMMING designa este processo por — *divisão nuclear heterotypica*.

Ha outras divisões nucleares, — *divisão polypolar,* — em que o número de polos póde ser superior a 2, apparecendo 3, 4, etc., até 12. Ás figuras produzidas então dá-se o nome de *Triaster, Tetraster,* etc. É um modo de divisão observavel

Fig. XXXV. — Figura nuclear duma célula gigante do figado de um embrião de *Mammifero.* Os chromosômas filhos formam numerosos grupos affastados uns dos outros para os numerosos polos da figura (segundo KOSTANECKI).

na *fecundação polyspérmica* e em tecidos pathológicos como o *Carcinôma* (Fig. XXXV).

A synonímia da divisão indirecta é extremamente complicada; eu vou vêr se a resumo:

Caryocinese ..... [SCHLEICHER]
Cytodiérese ..... [HENNEGUY]
Segmentação nuclear ..... [HERTWIG]
Divisão cinética < *Divisão do núcleo — Caryodiérese* ..... / *Divisão do protoplasma — Plasmodiérese* } [CARNOY]
Divisão indirecta ou *mitótica* ou *mitose* ou *mitoschisis* (de μιτος «fio»; e σχισις «divisão» ..... } [FLEMMING]
Caryòlyse ..... [AUERBACH]

Prophase [STRASBURGER] {
Fórma em novêllo, novêllo-mãe *(mutterknäuel)* (1) espirema [FLEMMING]
Fórma em estrella, estrella-mãe *(mutterstern),* monaster [KLEIN]
Aster [FLEMMING], astroide [FLEMMING], corôa equatorial [CARNOY]

(1) A impossibilidade de traduzir litteralmente os termos empregados pelos auctores allemães, pela falta de correspondência com os termos portuguêses, pelo que respeita ao género, fórça-me a empregar neste quadro designações apparentemente incorrectas, mas que o não sam.

Metaphase [STRASBURGER]	Disposição em círculo da figura chromática, placa equatorial *(equatorial platte)*. [FLEMMING] Metacinese [FLEMMING] Ascensão polar [CARNOY]
Anaphase [STRASBURGER]	Fórma em estrella dos núcleos-filhos, estrella-filha *(Tochterstern)* [FLEMMING] Diaster [KLEIN, FLEMMING], diastroide [FLEMMING] Corôa polar [CARNOY], amphiaster [FOL] Fórma em novêllo dos núcleos-filhos, novêllo-filho *(Tochterknaüel)* [FLEMMING] Dispirema, figura pectiniforme [FLEMMING]
Telophase [HEIDENHAIN]	Reabsorpção dos filamentos unidores, amortecimento dos asters, [FLEMMING] Apparição da placa cellular [FLEMMING] Corpo intermediário [FLEMMING], Phragmoplasta [ERRERA] Placa fusioral e completiva ou marginal ou cytoplásmica [CARNOY].

*

F) **Gemmação:** Se entre dois núcleos se effectuar a divisão por fórma tal, que um dos productos seja tão pequeno em relação ao outro, que mal lhe diminúa o volume, diz-se que ha — *gemmação.* Esta fórma especial de divisão observa-se frequentemente em certos grupos de organismos monocellulares, por exemplo — a *Podophyra gemnipora,* a *Acineta maritima,* etc.; o núcleo desta como o de uma multidão de infusórios tem a fórma de ferradura. Mas onde a gemmação é mais notavel é na formação dos glóbulos polares do óvulo; aqui é sôbremodo facil de estudar na *Asteria glacialis.* Os glóbulos polares foram pela primeira vez observados por CARUS em 1824, no ôvo da *Limnea;* em 1841 foram descriptos por FR. MÜLLER, que lhes deu o nome de — *Vesículas*

directrizes (Richtungsbläschen). ROBIN em 1862 chamou-lhes — *glóbulos polares,* por apparecerem no polo do ôvo e FLEMMING em 1874 — *Corpos directores (Richtungkörper).*

Normalmente sam dois; geralmente sam lançados fóra do ôvo antes da penetração do espermatozoide, como, por exemplo, nos *Mammíferos* e *Echinodermes;* nalguns animaes como a *Rã* e a *Lampreia,* o primeiro glóbulo polar é expulso antes, o segundo depois da penetração do espermatozoide; na *Ascaris megalocephala,* ambos os glóbulos polares

Fig. XXXVI. — Formação das céllulas polares na *Asterias glacialis.* (segundo O. HERTWIG).

sam expulsos depois da fecundação; na maior parte dos *Insectos* os glóbulos polares ficam permanentemente no interior do vitello. O mechanismo da sua formação é bem representado na figura XXXVI.

ÍNDICE

SEGUNDA SECÇÃO

Protoplasma

CAPÍTULO I

Estructura do protoplasma

CAPÍTULO II

Composição chymica do protoplasma

TERCEIRA SECÇÃO

O Núcleo

CAPÍTULO I

Membrana nuclear

CAPÍTULO II

Estructura do núcleo

CAPÍTULO III

Os nucléolos

CAPÍTULO IV

Composição chymica do núcleo

CAPÍTULO V

Novas granulações cellulares

CAPÍTULO VI

Constância do núcleo

CAPÍTULO VII

Importância tróphica do núcleo

CAPÍTULO VIII

Importância cellulígena do núcleo

PÁDUA

ESTRUCTURA
E
COMPOSIÇÃO
DA CELLULA