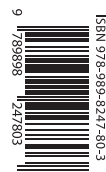


«*On the Origin of Mitosing Cells* teve um impacto muito amplo, embora tenha sido inicialmente controverso – foi rejeitado por mais do que uma dúzia de revistas científicas antes de surgir, enfim, nas páginas do *Journal of Theoretical Biology*. Porquê? Nos anos 60, era consensual que as células eucarióticas (células que contêm um núcleo) e os seus organitos subcelulares tinham evoluído de um modo estritamente vertical a partir de cianobactérias. Margulis (Sagan) teve a audácia louvável de rejeitar esta ideia: propôs então que as mitocôndrias, os plastos das algas e das plantas e o flagelo não tinham evoluído dentro da célula, mas que tinham de facto derivado de bactérias que, em tempos, eram de vida livre. Hoje, no conforto de uma retrospectiva, sabemos que ela estava certa em duas das suas três hipóteses: as mitocôndrias e os plastos são comprovadamente de origem endossimbiótica, mas não há (pelo menos até agora) provas convincentes que suportem a hipótese de o flagelo eucariótico ter evoluído a partir de uma bactéria espiroqueta. (...) Os leitores portugueses podem, agora, desfrutar do primeiro contributo de Lynn para a simbiose, um campo de investigação que ela inspirou e cuidou ao longo da sua próspera carreira. Espero que o descubra divertido e informativo.»

John M. Archibald
Do Prefácio



ORIGEM ENDOSSIMBIÓTICA DAS CÉLULAS EUCARIÓTICAS

FUNDAMENTOS & PERSPECTIVAS

Editado por
Ricardo R. Santos
Ricardo Melo
Gil Santos

Centro de Filosofia das Ciências
da Universidade de Lisboa

ORIGEM ENDOSSIMBIÓTICA DAS CÉLULAS EUCARIÓTICAS

Ricardo R. Santos

Instituto de Saúde Ambiental
& Centro de Bioética
Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa
Av. Prof. Egas Moniz – Edifício Egas Moniz
1649-028 Lisboa
E-mail: ricardoreis@medicina.ulisboa.pt

Ricardo Melo

Departamento de Biologia Vegetal & MARE -
Marine and Environmental Sciences Centre
Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa
Campo Grande, C2.5.13
1749-016 Lisboa
E-mail: rmelo@ciencias.ulisboa.pt

Gil C. Santos

Departamento de História e Filosofia das
Ciências & Centro de Filosofia das Ciências da
Universidade de Lisboa
Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa
Campo Grande, C4.3.24
1749-016 Lisboa
E-mail: gilcosan@gmail.com

© Lynn Sagan (1967), On the Origin of Mitosing Cells. *Journal of Theoretical Biology* 14:225–274.
Tradução e reimpressão com permissão da Elsevier.

© John M. Archibald (2011), Origin of Eukaryotic Cell. *Symbiosis* 54:69–86.
Tradução e reimpressão com permissão da Springer.

© Centro de Filosofia das Ciências da Universidade de Lisboa e Autores

Colecção *Documenta* 12

Título: *Origem Endossimbiótica das Células Eucarióticas – Fundamentos & Perspectivas*

Editores: Ricardo R. Santos, Ricardo Melo & Gil C. Santos

Autores: John M. Archibald, Maria Amélia Martins-Loução, Lynn Margulis, Gil C. Santos, Ricardo R. Santos e Ricardo Melo

Data de publicação: Maio 2019 (1.^a edição)

Imagem de capa e capa: Sara Fuentes

Depósito legal n.º 454845/19

ISBN (papel): 978-989-8247-80-3

Impressão: ULZAMA DIGITAL S.L.

Livro co-editado pelo CFCUL – Centro de Filosofia das Ciências da Universidade de Lisboa, no âmbito do Projecto Estratégico com a referência UID/FIL/00678/2019, apoiado pelo Programa de Financiamento Plurianual de I&D da Fundação para a Ciência e a Tecnologia e pelo Programa de Apoio à Comunidade Científica, e pelo MARE – Marine and Environmental Sciences Centre, no âmbito do Projecto Estratégico com a referência UID/MAR/04292/2019, financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia.

RICARDO R. SANTOS, RICARDO MELO & GIL C. SANTOS
EDITORES

ORIGEM ENDOSSIMBIÓTICA DAS CÉLULAS EUCARIÓTICAS

FUNDAMENTOS & PERSPECTIVAS

Prefácio
Jonh M. Archibald

Apresentação
Maria Amélia Martins-Loução

Colecção *Documenta* 12
Centro de Filosofia das Ciências da Universidade de Lisboa
2019

Índice

Prefácio	
<i>John M. Archibald</i>	7
Apresentação	
<i>Maria Amélia Martins-Loução</i>	9
 I. FUNDAMENTOS	
Sobre a origem das células eucarióticas	
<i>Lynn Sagan</i>	15
 II. PERSPECTIVAS	
Origem das células eucarióticas: 40 anos depois	
<i>John M. Archibald</i>	79
Uma teoria relacional da emergência: o caso exemplar da endo-simbiose	
<i>Gil C. Santos e Ricardo R. Santos</i>	123
Im memoriam – Lynn Margulis (1938-2011)	
<i>Ricardo Melo</i>	185

Prefácio

É, para mim, um privilégio ser acompanhado, neste volume, por Lynn Margulis. O seu artigo *On the Origin of Mitosing Cells*, de 1967, aqui traduzido pelo biólogo Ricardo R. Santos, constituiu um importante contributo para a biologia. Na altura da sua publicação, dava pelo nome de Lynn Sagan, com 29 anos de idade, mulher do astrónomo Carl Sagan. Ambos atingiram a fama internacional. Carl como uma personalidade televisiva e um popularizador da ciência e Lynn como a defensora moderna da teoria endossimbiótica.

On the Origin of Mitosing Cells teve um impacto muito amplo, embora tenha sido inicialmente controverso – foi rejeitado por mais do que uma dúzia de revistas científicas antes de surgir, enfim, nas páginas do *Journal of Theoretical Biology*. Porquê? Nos anos 60, era consensual que as células eucarióticas (células que contêm um núcleo) e os seus organitos subcelulares tinham evoluído de um modo estritamente vertical a partir de cianobactérias. Margulis (Sagan) teve a audácia louvável de rejeitar esta ideia: propôs então que as mitocôndrias, os plastos das algas e das plantas e o flagelo não tinham evoluído dentro da célula, mas que tinham de facto derivado de bactérias que, em tempos, eram de vida livre. Hoje, no conforto de uma retrospectiva, sabemos que ela estava certa em duas das suas três hipóteses: as mitocôndrias e os plastos são comprovadamente de origem endossimbiótica, mas não há (pelo menos até agora) provas convincentes que suportem a hipótese de o flagelo eucariótico ter evoluído a partir de uma bactéria espiroqueta.

Lynn Margulis faleceu em 2011, com 73 anos de idade. O seu legado permanece vivo nas dezenas de artigos e livros que publicou, muitos dos quais escritos em parceria com o seu filho Dorion Sagan. A história mostra-nos que Margulis não foi a primeira a propor uma origem endossimbiótica

para os organitos eucarióticos, mas é em grande parte devido a si que, sem dúvida, a simbiose é hoje um conceito que está na base da biologia evolutiva. Os leitores portugueses podem, agora, desfrutar do primeiro contributo de Lynn para a simbiose, um campo de investigação que ela inspirou e cuidou ao longo da sua próspera carreira. Espero que o descubra divertido e informativo.

Professor John M. Archibald

Senior Fellow, Instituto Canadano para a Investigação Avançada,
Programa em Biodiversidade Microbiana Integrada

Distinguished University Research Professor

Director, Centro de Genómica Comparativa & Bioinformática Evolutiva
Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular,
Universidade de Dalhousie, Canadá

Apresentação

A origem endossimbiótica das células eucarióticas é um tema que, na actualidade, não oferece quaisquer dúvidas. Mas nem sempre foi assim. Na década de 60 do século xx, Lynn Margulis soube ser audaz ao arriscar a sua promissora e jovem carreira afirmando que a «symbiogenesis» era o mecanismo biológico que explicava o aparecimento do núcleo e a formação das células eucarióticas. Só passados alguns anos, já na década de 70, viu a sua teoria endossimbiótica aceite, depois de cientificamente comprovada por evidências genéticas. Ao longo da sua brilhante carreira defendeu, fervorosamente, o papel da simbiose como motor da evolução, assumindo uma atitude frontal contra a corrente neodarwinista.

O termo *simbiose* (do grego *syn* = juntos + *biosis* = modo de vida) entrou na literatura biológica através de Anton de Bary (século xix) para definir dois organismos que vivem consistentemente juntos. De modo geral, pode definir-se simbiose como uma interacção inter-específica, entre dois ou mais organismos, que estabelecem e vivem em estreito contacto físico. No início do século xx, o liquenologista Konstantin Mereschkovsky reforçou esta definição ao introduzir o termo simbiogénese para explicar a formação da simbiose liquénica como a unificação de dois organismos distintos. As simbioses mais frequentes podem ser agrupadas em três tipos: i) comensalismo, em que apenas uma espécie beneficia sem prejuízo da outra; ii) mutualismo, em que ambas as espécies beneficiam; iii) parasitismo, em que apenas uma espécie beneficia com prejuízo da outra. Existe, no entanto, uma visão mais redutora da definição como sendo uma associação com benefícios mútuos. A natureza não é, porém, tão simples. O que se encontra nas simbioses mutualistas é um gradiente complexo entre momentos onde impera o comensalismo, passando por outros onde existe um benefício mútuo até

momentos onde o parasitismo se evidencia. Este gradiente de interações funciona como se se tratasse de um jogo, mas que efectivamente está dependente das condições do meio externo, biótico ou abiótico. As variações são tão díspares, mas tão estreitas, que têm vindo a ser explicadas pela teoria de jogos que, embora tenha sido desenvolvida para sistemas económicos, pode ajudar a explicar o que se passa nos sistemas biológicos. A simbiose é, cada vez mais, um fenómeno generalizado em biologia funcionando como explicativo de muitos processos de ecologia evolutiva.

Os caminhos que levaram os diferentes cientistas a reconstruir a história da vida foram díspares, de acordo com os equipamentos e tipos de observação disponíveis. Os filósofos antigos acreditavam que a vida surgia de uma intervenção sobrenatural. De acordo com Tales de Mileto, o primeiro filósofo e pensador grego de que há notícia, no início era o caos. Mais tarde, os filósofos e matemáticos Leucipo e Demócrito postularam que a vida era uma ligação de átomos. No primeiro século antes de Cristo, Diodoro Sículo, historiador grego, afirmava que o lodo do Nilo dava origem a animais «extraordinários». Durante dezoito séculos (I a.C. - XVII d.C.) a noção de geração espontânea foi aceite como dogma universal. Até Francis Bacon, filósofo inglês de destaque dos séculos XVI e XVII, considerado o criador do método experimental, definia insecto como um animal que provinha da putrefacção. Os primeiros que argumentaram contra esta noção foram o italiano Francesco Redi (século XVII), físico naturalista considerado o pai da parasitologia e os holandeses Jan Swammerdam (século XVII), biólogo que descreveu as diferentes fases larvares dos insectos, e Anton van Leeuwenhoek (século XVII), comerciante, que construiu e desenvolveu o microscópio, tornando possível a primeira observação de bactérias. Foram descritos os seres vivos mais pequenos que se conheciam devido a uma das primeiras conquistas instrumentais: o microscópio. Todos eles chegaram à conclusão de que era necessária a existência de um «germe» para que fosse possível o desenvolvimento de seres vivos novos. No entanto, só no século XIX a noção de geração espontânea foi totalmente abandonada. Este feito deve-se a Louis Pasteur, biólogo francês, conhecido pelas suas experiências que deram origem à vacinação e pasteurização, que lutou tenazmente contra o mito da geração espontânea. E venceu-a quando demonstrou cientificamente que meios orgânicos, mesmo não sujeitos à acção do calor, não dão origem a microorganismos. Podem, no entanto, dar origem a células porque no ar, nas poeiras, nos utensílios de laboratório, não esterilizados, pululam «germes» microbianos que rapidamente crescem e se desenvolvem. A ciência

veio provar que a vida não aparecia do nada, que podia ir do infinitamente pequeno ao infinitamente grande. A química e a instrumentação tinham permitido a identificação e a caracterização da unidade da vida, a célula. Foi também possível entender a noção de espaço ocupado, através da observação, mas faltava uma outra dimensão: o tempo. A descoberta do tempo e da sua influência na evolução da vida surgiu com Charles Darwin, contemporâneo de Pasteur. Com a sua teoria da evolução e a dimensão tempo, Darwin transporta a evolução para a origem da vida, que chega aos nossos dias ainda por resolver.

Lynn Margulis parte da célula, a base da vida. As células podem ser sistemas simples, mas autopoieticos, devido à presença de uma membrana, e são capazes de se reproduzir. Esta capacidade advém da presença de moléculas de DNA. Estes organismos mais simples com DNA disperso são procariotas. Com a sua teoria endossimbiótica, Lynn explica a evolução de uma célula procariótica a eucariótica, com núcleo, através da fusão de dois procariotas. Foi uma descoberta revolucionária para a década de 70 do século xx. Em 2004, Maria Rivera e James Lake deram uma nova visão a esta teoria. Usaram um novo método filogenético para estudar a evolução dos genomas, mostrando a importância da transferência lateral de genes. Propuseram então que a árvore da vida deveria antes ser chamada de anel da vida para evidenciar a importância da fusão de dois genomas procariotas, uma arquea e uma bactéria, como marco da evolução dos eucariotas.

Em conclusão, a divulgação da obra de Lynn Margulis é fundamental porque é sempre actual e central. Jan Sapp afirma que o seu nome está ligado à noção de simbiose tal como o de Darwin à evolução. A evolução é, de facto, um reticulado complexo e sinuoso onde a simbiose ocupa um lugar relevante. Os primeiros passos para esta compreensão e entendimento foram dados por Lynn Margulis, que aqui se homenageia.

Professora Maria Amélia Martins-Loução

Bióloga

Professora catedrática da Universidade de Lisboa

I.
FUNDAMENTOS

Sobre a origem das células eucarióticas^{1,2}

LYNN SAGAN³

Departamento de Biologia, Universidade de Boston
Boston, Massachusetts, EUA

(Recebido em 8 de Junho de 1966)

Resumo: Apresenta-se uma teoria da origem das células eucarióticas (células «superiores» que se dividem por mitose clássica). Por hipótese, três organitos fundamentais – as mitocôndrias, os plastos fotossintéticos e os corpos basais (9+2) dos flagelos – foram eles mesmos, em tempos, células (procarióticas) de vida livre. É descrita a evolução da fotossíntese sob as condições anaeróbias da atmosfera inicial, formando assim bactérias anaeróbias, bactérias fotossintéticas e, eventualmente, cianobactérias (e protoplastos). A posterior evolução do metabolismo aeróbio em procariotas, resultando na formação de bactérias aeróbias (protoflagelos e protomitocôndrias), ocorreu presumivelmente durante a transição para uma atmosfera oxidativa. A mitose clássica evoluiu em células do tipo protozoário milhões de anos após a evolução da fotossíntese. É apresentado um esquema plausível para a origem da mitose clássica em amiboflagelados primitivos. Durante o curso da evolução da mitose, os plastos fotossintéticos (eles próprios derivados de procariotas) foram simbioticamente adquiridos por alguns destes protozoários para formar as algas eucarióticas e as plantas verdes.

São apresentadas provas citológica, bioquímica e paleontológica para esta teoria, bem como sugestões para outras verificações experimentais possíveis. As implicações deste esquema para a sistemática de organismos inferiores são aqui discutidas.

¹ Reimpresso e traduzido a partir de Lynn Sagan (1967), On the Origin of Mitosing Cells. *Journal of Theoretical Biology* 14:225-274, com permissão especial da Elsevier. Tradução do original por Ricardo R. Santos e revisão de Ricardo Melo.

² Apesar do título original ser *On the Origin of Mitosing Cells*, optámos por traduzi-lo, por uma questão de simplificação, por *Sobre a Origem das Células Eucarióticas*, uma vez que «células com mitose» (*mitosing cells*) pode ser considerado equivalente a «células eucarióticas» (*eukaryotic cells*). No entanto, note-se que, em 1970, Lynn Margulis publicaria um livro precisamente intitulado *Origem das Células Eucarióticas* (*Origin of Eukaryotic Cells*). (N. do T.)

³ Este artigo surge assinado como Lynn Sagan porque, à época, Lynn era casada com o famoso cientista Carl Sagan (1934-1996), do qual acabou por se divorciar em 1965. Na verdade, o seu nome de solteira era Lynn Alexander. Tornou-se, então, Lynn Margulis após o seu casamento com Thomas N. Margulis. (N. do T.)

1. Introdução

Todos os organismos de vida livre são células ou são feitos de células. Existem dois tipos básicos de células: *procarióticas* e *eucarióticas*. As células procarióticas incluem as eubactérias, as cianobactérias, as bactérias deslizantes, as bactérias gemulantes, os organismos semelhantes aos da pleuropneumonia, as espiroquetas e as riquetsias, etc. As células eucarióticas são, é claro, os componentes familiares das plantas e dos animais, dos fungos e dos protozoários e de todos os outros organismos «superiores». Contêm organitos subcelulares, tais como mitocôndrias e núcleos delimitados por uma membrana, e têm muitas outras características em comum.

As numerosas e fundamentais diferenças entre a célula eucariótica e a célula procariótica, que têm vindo a ser descritas neste capítulo, foram totalmente reconhecidas somente nos últimos anos. De facto, esta divergência básica na estrutura celular, que separa as bactérias e as cianobactérias de todos os outros organismos celulares, representa provavelmente a única grande descontinuidade que pode ser encontrada no mundo vivo actual (Stanier, Douderoff & Adelberg, 1963).

Este artigo apresenta uma teoria para a origem desta descontinuidade entre células eucarióticas (mitóticas ou «superiores») e células procarióticas. Em particular, as mitocôndrias, os corpos basais (9+2) dos flagelos e os plasmas fotossintéticos podem todos eles ser considerados como tendo derivado de células de vida livre, sendo a célula eucariótica o resultado da evolução de antigas simbioses. Embora estas ideias não sejam novas [Merechowsky (1910) & Minchin (1915) em Wilson (1925), Wallin (1927), Lederberg (1952), Haldane (1954), Ris & Plaut (1962)]⁴, neste artigo elas foram sintetizadas de forma a serem consistentes com os mais recentes dados bioquímicos e citológicos sobre os organitos subcelulares. De acordo com o registo fóssil e de acordo com esta teoria, os eucariotas inferiores (protozoários, algas eucarióticas e fungos) podem agora ser incluídos em uma única árvore filogenética (Fig. 1). Ao contrário do que se pensava anteriormente sobre este assunto (Cronquist, 1960; Dougherty & Allen, 1960; Fritsch, 1935), muitos aspectos

⁴ «Mais recentemente, Wallin (1922), sustentou que os condriossomas podem ser considerados bactérias simbióticas cujas associações com outros componentes citoplasmáticos podem ter surgido nos estádios iniciais da evolução... para muitos, sem dúvida, tais especulações podem parecer demasiado fantásticas para serem actualmente consideradas pela comunidade biológica; no entanto, é possível que tais especulações possam algum dia vir a ser objecto de uma consideração mais séria» (Wilson, 1925, ver p.378).

desta teoria são verificáveis pelas técnicas modernas da biologia molecular.

A ideia, aqui defendida, de que a célula eucariótica surgiu por uma série de endossimbioses específicas, permite a emergência de um esquema plausível para a origem da mitose propriamente dita. (O termo «mitose» é usado apenas no sentido clássico do seu significado; a análoga distribuição equitativa de genes pelas células-filhas em procariotas não é aqui relevante).

O artigo está organizado em três partes. A primeira parte apresenta a teoria da origem da célula eucariótica. A segunda parte é uma compilação da literatura científica que apoia as sequências apresentadas na primeira parte. A última parte sugere alguns resultados experimentais que podem ser preditos a partir da teoria.

2. Origem hipotética das células eucarióticas

2.1. A EVOLUÇÃO DAS CÉLULAS PROCARIÓTICAS EM UMA ATMOSFERA REDUTORA

As células procarióticas que contêm DNA, que sintetizam proteínas em ribossomas e que usam o RNA mensageiro como intermediário entre o DNA e as proteínas, são ancestrais de toda a vida celular existente. Tais células surgiram sob as condições redutoras da atmosfera terrestre primitiva (há 4,5-2,7x10⁹ anos). Todos os eventos anteriores que deram origem a uma população de entidades de vida livre, sobre as quais a selecção natural podia actuar (isto é, células), estão fora do âmbito desta discussão, isto é, ocorreram antes dos eventos descritos (Bernal, 1957).

2.2. A EVOLUÇÃO DE VIAS SINTÉTICAS DE PORFIRINA, FOTOSSÍNTESE E RESPIRAÇÃO EM CÉLULAS PROCARIÓTICAS

As sequências de nucleótidos (genes) que codificavam para a síntese de porfirina evoluíram cedo na história das células procarióticas. O que se segue é considerada uma sequência histórica plausível: a fotodissociação de vapor de água na atmosfera superior resultou na fuga de hidrogénio livre, o que levou à produção de oxigénio molecular. Este constituiu uma ameaça ao ácido nucleico altamente reduzido dos primeiros sistemas celulares auto-replicantes. A associação de porfirinas queladas com metal protegeram estes sistemas da oxidação. Os genes que codificavam para as vias envolvidas na síntese de tais porfirinas queladas (por exemplo, as coenzimas da peroxidase e da catalase) foram seleccionados e mantidos sob esta ameaça contínua dos agentes

oxidantes naturalmente produzidos. O facto accidental de tais compostos anti-mutagénicos absorverem preferencialmente luz visível constituiu-se como uma vantagem evolutiva: eventualmente evoluíram as células que continham mecanismos de produção de ATP (e os outros nucleótidos) através da utilização de energia solar visível absorvida pelas porfirinas semelhantes a clorofila. Estas células, agora fotossintéticas, substituíram as anteriores, nas quais o ATP era sintetizado pela absorção directa de ultravioleta. Com a energia libertada a partir do ATP fotoproduzido, os átomos de hidrogénio atmosférico e de sulfureto de hidrogénio foram usados na redução do CO_2 para material celular.

Em outras populações de microrganismos heterotróficos dependentes da fermentação de açúcares e de aminoácidos para a produção de ATP, as células que usavam as suas porfirinas em uma mais eficiente oxidação dos hidratos de carbono foram eventualmente seleccionadas. Daqui resultaram microrganismos capazes de uma produção de ATP mediada por citocromo *via* sistema de transporte de electrões (por exemplo, respiradores anaeróbios: redutores de nitrato e sulfato, etc.).

Eventualmente, entre os fototróficos primitivos, surgiu uma população de células que usava ATP fotoproduzido, tendo a água como fonte de átomos de hidrogénio na redução do CO_2 para a produção de material celular. A formação de oxigénio gasoso surge, neste contexto, como um subproduto da fotossíntese. Essa eliminação de oxigénio por fotossintetizadores microbianos aumentou a pressão parcial de oxigénio na atmosfera. Nos respiradores anaeróbios, a abundância, pelo menos em alguns locais, do oxigénio livre levou à evolução do passo final e aeróbio na respiração, ou seja, a oxidação completa de hidratos de carbono *via* sistema citocromo com a eliminação de CO_2 e H_2O .

Entre os microrganismos⁵ autotróficos que usavam porfirinas na fotossíntese anaeróbia à luz, os mutantes capazes de usar essas mesmas porfirinas na respiração aeróbia na ausência de luz foram eventualmente seleccionados. Isto resultou na evolução de algas procarióticas ancestrais das algas azuis extantes – com ambos os mecanismos, fotossintético e respiratório, de produção de ATP. Estes procariotas versáteis representaram um grande passo na eficiência celular. Continuaram a eliminar oxigénio gasoso na fotossíntese acelerando ainda mais a transição para uma atmosfera oxidativa. Assim, algum tempo depois da origem da Terra e antes da deposição de

⁵ Embora a autora use distintamente os termos «micróbio» (*microbe*) e «microrganismo» (*microorganism*), optámos por usar somente o termo «microrganismo». (N. do T.)

rochas oxidadas e de microfósseis – um período de cerca de 2400 milhões de anos – evoluíram populações de procariotas com uma elevada capacidade metabólica fotossintética e respiratória (há $4,5-2,1 \times 10^9$ anos).

2.3. A EVOLUÇÃO DAS CÉLULAS EUCARIÓTICAS A PARTIR DE CÉLULAS PROCARIÓTICAS POR SIMBIOSE

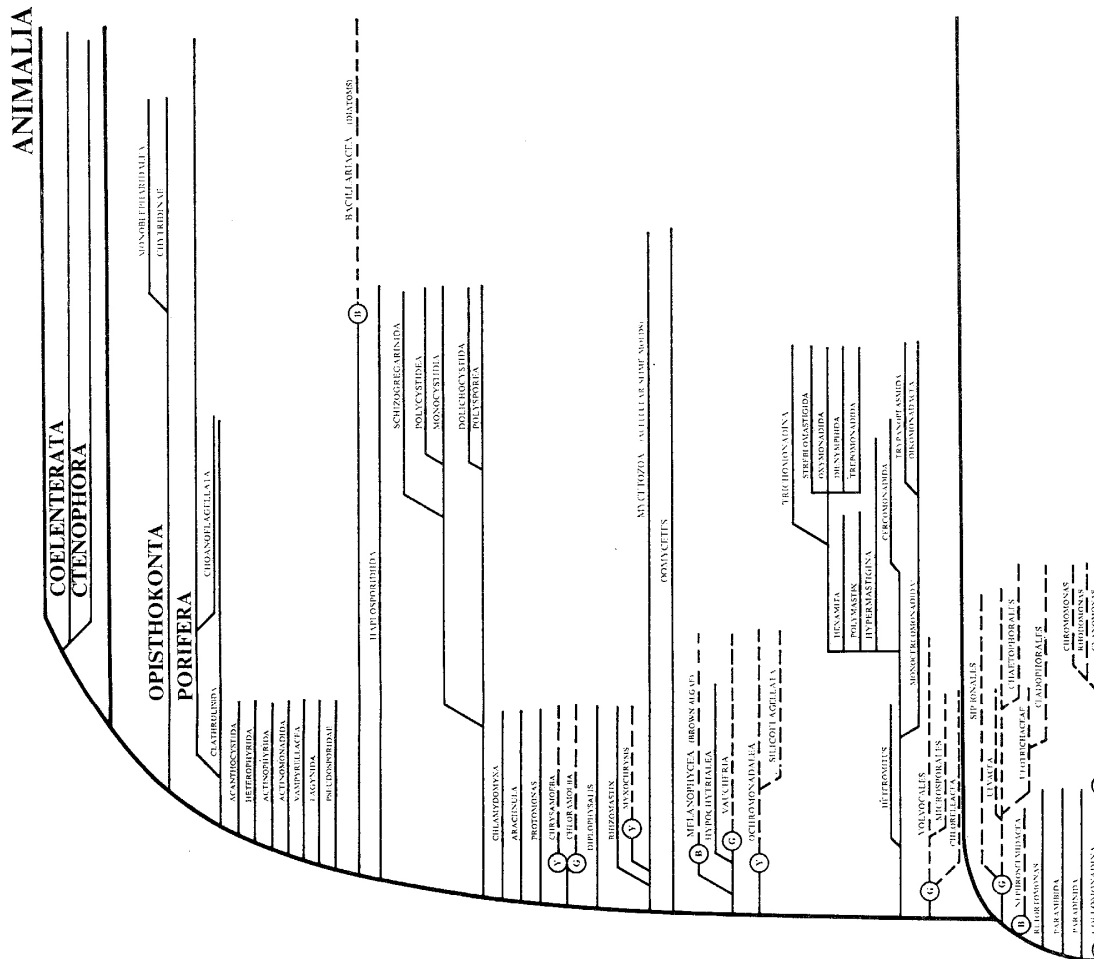
A produção contínua de oxigénio livre como um subproduto da fotossíntese causou numa crise: todas as células tiveram de se adaptar a uma atmosfera contendo oxigénio, ou tiveram de sobreviver num ambiente anaeróbio especializado. A evidência geológica indica que o oxigénio estava presente na atmosfera há $2,7 \times 10^9$ anos e tornou-se relativamente abundante há $1,2 \times 10^9$ anos (Cloud, 1965). Então, por esta altura, toda a produção de matéria orgânica abiogénica deve ter chegado a um impasse; não apenas a sua fonte de energia foi removida pela absorção de luz ultravioleta, por parte do ozono, na atmosfera superior, mas tal matéria orgânica, a ser produzida, teria sido rapidamente oxidada (Abelson, 1963). Por conseguinte, toda a vida terrestre se tornou dependente, directa ou indirectamente, da fotossíntese celular antes de $1,2 \times 10^9$ anos. Para garantir a replicação dos seus ácidos nucleicos, os heterotróficos foram forçados a alimentar-se de matéria orgânica produzida por processos fotossintéticos ou quimioautotróficos.

Sugere-se que o primeiro passo para a origem dos eucariotas, a partir dos procariotas, esteve relacionado com a sobrevivência na nova atmosfera contendo oxigénio: um microrganismo procariota aeróbio (isto é, a protomitocondria) foi absorvido para o interior do citoplasma de um heterotrófico anaeróbio. Esta endossimbiose tornou-se obrigatória e resultou na evolução dos primeiros organismos amibóides amitóticos aeróbios.

Por hipótese, alguns destes amibóides absorveram certos procariotas móveis. Eventualmente, estes tornaram-se também simbióticos nos seus hospedeiros. A associação de bactérias móveis com o amibóide formou os amiboflagelados primitivos. A mitose clássica evoluiu nestes amiboflagelados heterotróficos.

A evolução da mitose, assegurando uma distribuição uniforme de grandes quantidades de ácidos nucleicos (ou seja, cromossomas do hospedeiro contendo genes do hospedeiro) em cada divisão celular, deve ter durado milhões de anos. Provavelmente ocorreu após a transição para uma atmosfera oxidante, já que todos os organismos eucarióticos contêm mitocôndrias e são fundamentalmente aeróbios. Com base na abundância de fósseis eucariotas, deve

Homólogo (9+2) usado quer como corpo basal quer como flagelo e outro homólogo (9+2) permanentemente diferenciado como centros de divisão extranuclear (centríolos).



V Homólogo (9+2) usado quer como corpo basal quer como flagelo, bem como centro de divisão extranuclear.

ter ocorrido antes da alvorada do Câmbrio. Portanto, o período mais provável para a evolução da mitose é entre 1,2 e $0,6 \times 10^9$ anos atrás – um período de cerca de 600 milhões de anos.

A primeira aquisição simbiótica, a da protomitocôndria, produziu células com as típicas vias eucarióticas oxidativas dos hidratos de carbono. A degradação anaeróbia da glucose em piruvato ao longo da via de Embden-Myerhof ocorreu no citoplasma solúvel sob a direcção do genoma do hospedeiro. A oxidação adicional da glucose usando oxigénio molecular *via* ciclo de Krebs (átomos de H de ácidos orgânicos combinam-se com DPN, FAD e citocromos; é gerado ATP; e a água é eliminada) ocorreu apenas na mitocôndria simbiótica sob a direcção dos seus próprios genes.

Esta simbiose mitocôndria-hospedeiro pode ter resultado na síntese de fosfolípidos membranares e de esteróides, típicos dos eucariotas, e, em particular, na formação de uma membrana nuclear e de um retículo endoplasmático. A grande quantidade de energia disponível após a incorporação da mitocôndria originou grandes células com movimentos amibóides e de ciclose. No entanto, a diversidade nos tipos e nas quantidades de proteínas que tais células poderiam produzir teria sido limitada pela quantidade de DNA disponível para gerir a síntese de proteínas. Assim, na ausência de qualquer mecanismo eficiente capaz de garantir a distribuição uniforme do DNA recém sintetizado, o tamanho da célula hospedeira amibóide deve ter sido limitado. A multinuclearidade e a duplicação de cistrões ou de genomas inteiros (poliploidia) podem ter sido mecanismos iniciais para distribuir, de forma uniforme, uma maior quantidade de DNA pelas células-filhas, uma vez que múltiplas cópias aumentam significativamente a probabilidade de cada filha receber pelo menos uma cópia do genoma. No entanto, a ineficiência da poliploidia e a vantagem selectiva dos *linkage groups* sobre a poliploidia têm sido demonstradas (Gabriel, 1960). O problema da segregação uniforme dos *daughter linkage groups* permaneceu.

2.4. A EVOLUÇÃO DA MITOSE EM AMIBOFLAGELADOS

Como é que o eficiente mecanismo mitótico que segrega uniformemente os *daughter linkage groups* evoluiu? Nos eucariotas inferiores, a divisão do núcleo sugere ela mesma uma sequência evolutiva plausível para a mitose.

É provável que o grande tamanho e os hábitos heterotróficos dos amibóides os tenham levado à ingestão de todos os tipos de pequenos procariotas (Trager, 1964). Entre estes, coloca-se a hipótese de algum ancestral amibóide

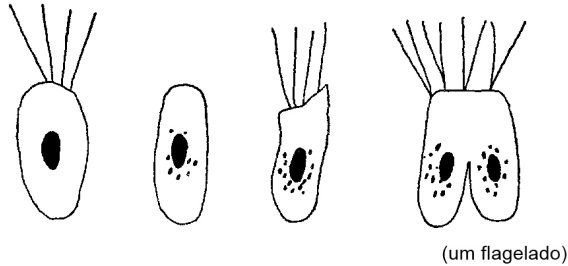
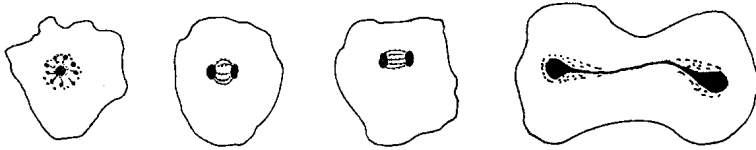
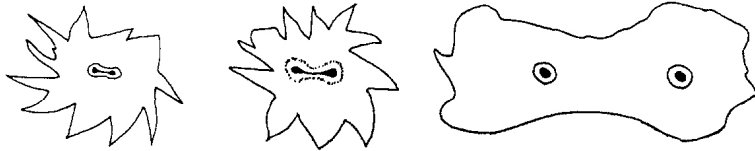
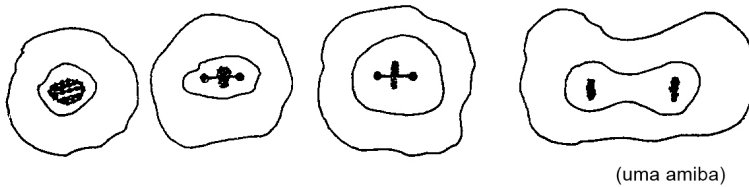
I. *Tetramitus* (Wilson, 1925, p.82)

 II. A. (a) *Amoeba tachypodia* (Wilson, 1925, p.206)

 II. A. (b) *Amoeba polypodia* (Wenyon, 1926, p.63)

 II. A. (c) *Hartmanella hyalina* (Wenyon, 1926, p.63)


Fig.2 – Figuras mitóticas de alguns eucariotas representativos. Estas figuras foram adaptadas de ilustrações que podem ser encontradas nas referências citadas. Os nomes dos organismos aqui referendis são genéricos. O nome entre parêntesis indica o grupo maior no qual o organismo pode ser encontrado na Fig.1, a árvore filogenética. É dada uma descrição comum para alguns dos gêneros menos conhecidos. Os grupos com numeração românica correspondem aos ramos da árvore filogenética, tal como discutido nas secções 2.5.1 a 2.5.6 do texto. Pensa-se que os organismos nos grupos I, III e VI são pré-mitóticos. Nos grupos II, IV e VI, os subgrupos A e B referem-se a «pré-mitóticos» e «eumitóticos», respectivamente. [As letras minúsculas (a) e (b)... foram incluídas simplesmente para referência.]

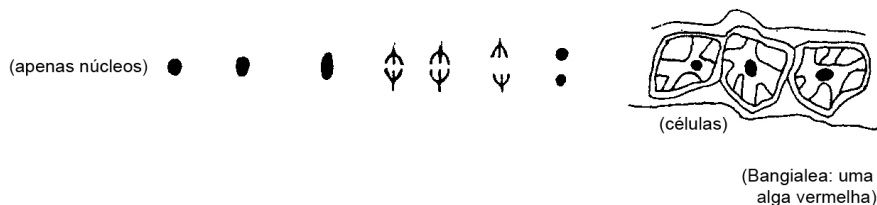
ter adquirido um parasita móvel, talvez semelhante a uma espiroqueta, por ingestão. Os genes do parasita, é claro, codificavam para a sua morfologia característica, fibrilas (9+2) em secção transversal. As células hospedeiras amibóides que mantiveram os seus endossimbiontes tinham a grande vantagem selectiva da motilidade muito antes da mitose ter evoluído; podiam procurar activamente o seu alimento.

Por hipótese, o endossimbionte procariota móvel é em si o ancestral de um complexo flagelar das células eucarióticas. O ácido nucleico replicante dos genes endossimbiontes (que determina a sua subestrutura (9+2) característica) foi eventualmente utilizado para formar os centrómeros cromossómicos e os centríolos dos eucariotas eumitóticos e para distribuir a cromatina nuclear recém sintetizada pelas células-filha do hospedeiro.

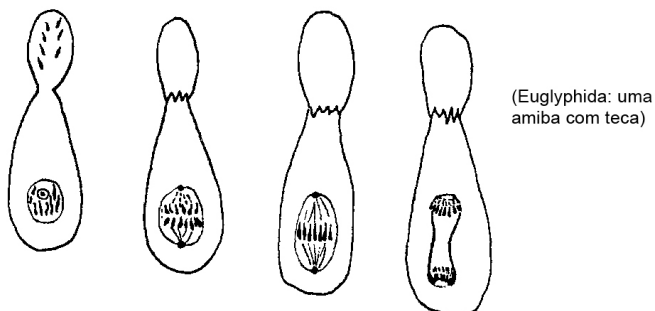
Como é que o ácido nucleico do endossimbionte se diferencia em centrómeros cromossómicos e em centríolos? Foram necessárias pelo menos duas sequências de etapas mutacionais: uma levando ao desenvolvimento de algum tipo de atracção entre o ácido nucleico do hospedeiro e o do simbiote, e eventualmente à ligação permanente de endossimbiontes-filhos aos cromossomas filhos do hospedeiro na formação dos centrómeros cromossómicos; uma segunda sequência conduzindo à segregação dos endossimbiontes-filhos replicados para pólos opostos da célula hospedeira. Em qualquer caso, em cada geração foram seleccionadas apenas aquelas células-filha amibóides contendo um genoma euplóide completo, isto é, pelo menos uma cópia de cada gene. Desta forma, assegurou-se uma pressão selectiva contínua para os mecanismos melhorados de segregação do ácido nucleico do hospedeiro. A julgar pelas actuais figuras mitóticas entre eucariotas inferiores, o desenvolvimento da eumitose deve ter ocorrido, muito provavelmente, várias vezes em diversos amiboflagelados primitivos. Tal pode ser considerado análogo ao desenvolvimento de diferentes mecanismos de determinação de polimorfismos sexuais em organismos superiores. O objectivo biológico de tudo isto é o mesmo: assegurar que a recombinação genética acompanha sistematicamente a reprodução. Como os vários mecanismos de determinação do sexo não são directamente homólogos (por exemplo, os ovários em insectos, mamíferos e plantas com flor), é provável, também, que algumas eumitoses em eucariotas inferiores sejam análogas em vez de directamente homólogas.

Um corolário de tudo isto é a afirmação de que os eucariotas primitivos podem ser classificados de acordo com as várias linhas que representam na evolução da eumitose. Nas secções 2.5.1 a 2.5.6 apresenta-se uma tentativa

II. B. (a) *Porphyra tacinata* (Copeland, 1956, p.42)



II. B. (b) *Euglypha* (Minchin, 1912, p.113)



II. B. (c) *Amoeba limax* (Goldschmidt & Popoff, 1907)

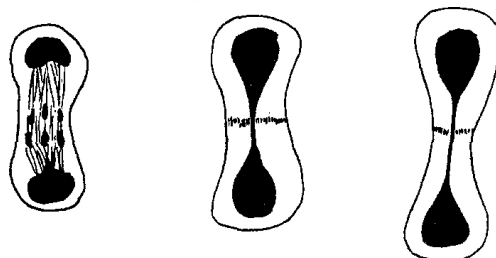


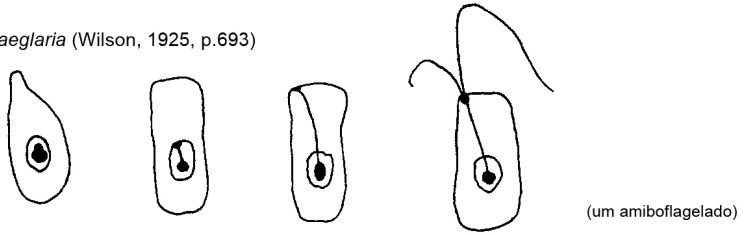
Fig.2 – Figuras mitóticas de alguns eucariotas representativos (*cont.*)

de reconstrução dessas linhas com base em dados genéticos e citológicos entretanto acumulados e publicados. As etapas plausíveis na diferenciação dos centrómeros cromossómicos e dos centríolos a partir dos corpos basais flagelares «homólogos (9+2)» foram reconstruídas a partir dos dados disponíveis, sendo que as vantagens selectivas imediatas de cada etapa são discutidas nas secções 2.5.1 a 2.5.6. Os grandes grupos de organismos que presumivelmente derivaram a partir destas etapas são apresentados nos ramos I a VI da árvore filogenética (Fig. 1). Os grupos foram formados para incluir o máximo de dados possível sobre a eumitose dos eucariotas inferiores de um modo que é considerado ser consistente com a classificação geral destes organismos, *exclusiva dos seus plastos fotossintéticos*.

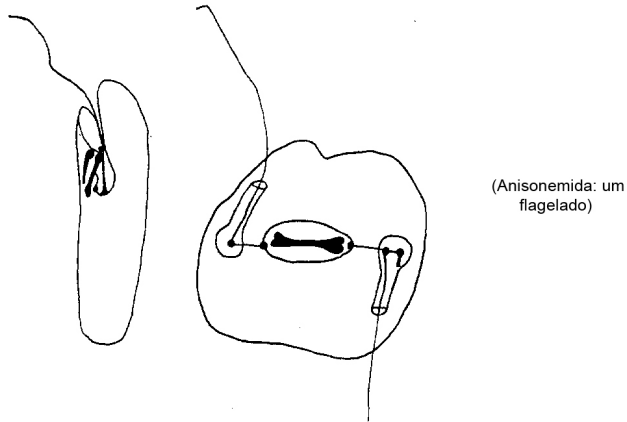
2.5 ETAPAS NA EVOLUÇÃO DA EUMITOSE

As figuras correspondentes, compreendendo em conjunto a «Fig.2», foram adaptadas da literatura como exemplos de figuras mitóticas reais. O termo «homólogo (9+2)» refere-se a flagelos e a cílios, bem como aos mais especializados cirros (cílios fundidos), axopodia, e outros organitos celulares com uma secção transversal característica ao microscópio electrónico. «Corpos basais» (encontrados na base destes organitos móveis, talvez auto-reprodutores), centríolos, ou alguns outros homólogos sub-microscópicos, são considerados o repositório de ácidos nucleicos do sistema de replicação e, por conseguinte, os descendentes dos genes do simbionte original. O «centro de divisão» também é considerado homólogo (Wilson, 1925, ver p.204). Portanto, o termo «homólogo (9+2)» é usado aqui com um sentido mais geral, implicando o sistema genético que codifica para o desenvolvimento de flagelos, cílios, «centros de divisão», centríolos, ou de qualquer outro destes organitos homólogos. Os diagramas I a VI, que ilustram as relações hipotéticas entre o genoma do hospedeiro e o genoma homólogo (9+2), incluem em cada geração os rácios entre os genomas do simbionte e do hospedeiro sugeridos pela teoria. Embora seja necessário pelo menos um homólogo (9+2) em divisão em cada linkage group do hospedeiro (ou seja, um centrómero cromossómico) para garantir a euploidia, vários números de cromossomas foram omitidos nos diagramas por uma questão de maior clareza; a sua omissão não altera de modo algum o argumento geral. Sabemos que espécies muito próximas entre si podem diferir no seu número total de cromossomas e, em geral, o número per se de qualquer estrutura replicativa fundamental é um critério muito fraco em taxonomia (Dillon, 1962). Nos

III. (a) *Naeglaria* (Wilson, 1925, p.693)



III. (b) *Peranema triochophorum* (Copeland, 1956, p.108)



III. (c) *Oxyrrhis* (Wilson, 1925, p.209)

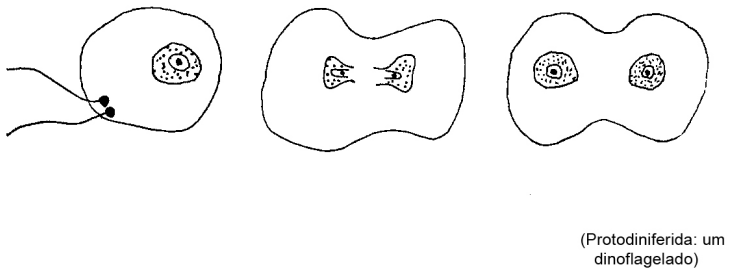


Fig.2 – Figuras mitóticas de alguns eucariotas representativos (*cont.*)

diagramas, o numerador do rácio «genomas (9+2) simbiote por genoma nuclear do hospedeiro» refere-se apenas aos homólogos (9+2) *funcionalmente* distintos.

A «pré-mitose», nos diagramas I a VI, ilustra explicitamente o presumível fenómeno que está na base da falta de «sexo» (meiose e fecundação) em muitos eucariotas inferiores. Estes organismos apresentam características gerais de células eucarióticas (mitocôndrias, membranas nucleares, etc.), mas nas suas figuras «aberrantes» de divisão muitas vezes estão ausentes os fusos e os centríolos de uma típica eumitose. (*Amoeba*, *Euglena*, *Tetramitus*, etc.: ver Fig.2). É provável que não sejam fitoflagelados degenerados, mas sim organismos eucariotas pré-mitóticos, no sentido em que se ramificaram a partir das principais linhas de evolução da célula superior antes da eumitose ter evoluído. O ciclo diplóide-haplóide (ou seja, o «sexo») é a indicação mais segura da evolução da eumitose em qualquer grupo de organismos. Organismos eumitóticos são, portanto, aqueles que demonstram os típicos padrões genéticos descritos como mendelianos.

2.5.1. Homólogo (9+2) somente como corpo basal para flagelos

No primeiro grupo de flagelados eucariotas primitivos, o ácido nucleico do simbiote móvel é usado apenas na sua própria replicação e na síntese das suas próprias proteínas. A motilidade foi a vantagem selectiva imediata da aquisição do endossimbiote (9+2). Podem ter persistido vestígios deste evento em alguns grupos isolados de pequenos flagelados, por exemplo *Tetramitus* (Wilson, 1925, ver p.82). Nestes organismos, a «mitose» não corresponde de forma alguma ao padrão e, claro, a sexualidade no sentido meiótico é desconhecida e, por hipótese, nunca vai a ser descoberta (Fig.2. I, Diagrama I).

2.5.2. Homólogo (9+2) incorporado no núcleo do centro de divisão, sem flagelos

As mutações que ocorreram em populações de organismos descritos na secção 2.5.1 promoveram a atracção entre o hospedeiro e o ácido nucleico



Diagrama I

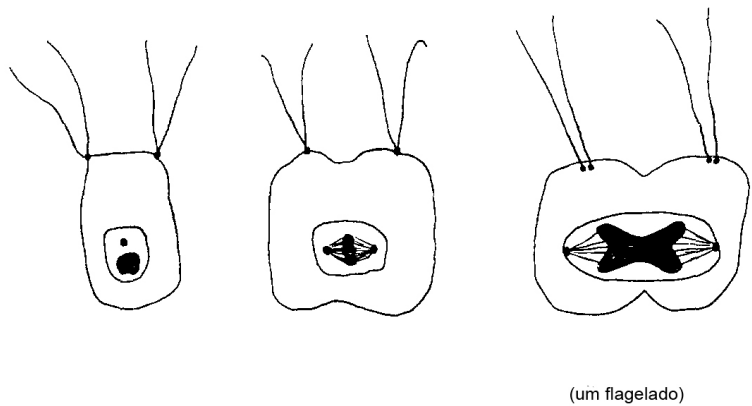
do endossimbionte (9+2), que resultou na incorporação do genoma replicado do simbionte (9+2) no núcleo do hospedeiro. Quando o simbionte (9+2) se dividiu, foi utilizado pelo hospedeiro como um «centro de divisão» intranuclear. (O termo «centro de divisão» é retirado da literatura clássica, ver Wilson, 1925, p.204). O corpo cora profundamente com corantes nucleares. As suas homologias com os corpos basais dos flagelos, etc., foram reconhecidas (e disputadas) nos elegantes estudos de microscopia óptica sobre a mitose em protozoário feitos no início deste século (Wilson, 1925, p.206; Wenyon, 1926, ver pp.62 e 102).

Estes eventos produziram, primeiro, amibas pré-mitóticas, as quais nunca tiveram flagelos em nenhuma fase do seu ciclo de vida, mas contêm centros de divisão intranuclear. É possível que as amibas multinucleares e outras amibas assexuadas sejam, elas mesmas, vestígios desta fase pré-mitótica. Por exemplo, Dobell diz o seguinte acerca da divisão em *Amoeba lacertae*: «Não se forma placa equatorial e os «cromossomas», ou grânulos cromáticos, deslocam-se irregularmente para os pólos, entretanto, todo o cariossoma arranja-se na forma de fuso, acabando por, finalmente, dividir-se. É discutível se podemos falar aqui de cromossomas ou até mesmo de mitose, mas este tipo de divisão também pode constituir o ponto de partida para a evolução de um verdadeiro processo mitótico» (Wilson, 1925, p.213; Wenyon, 1926, p.101) [Fig.2. R II. (a) a (c)].

Eventualmente, diferentes grupos de organismos eumitóticos evoluíram a partir destas várias amibas, nomeadamente, algumas amibas eumitóticas; os zigomicetes, os ascomicetes e os basidiomicetes; fungos mucilaginosos; as algas verdes conjugadas; as duas grandes classes de algas vermelhas e as suas homólogas verdes – as *Schizogoniaceae*. Todos estes organismos não possuem flagelos em todas as fases dos seus ciclos de vida, embora muitos deles sejam aquáticos [Fig.2. IIB. (a) a (c)] (Copeland, 1956, p.42; Minchin, 1912, p.113; Goldschmidt & Popoff, 1907).

Como é que a eumitose teve início nesta linha em que há ausência permanente de flagelos? O primeiro passo pode ter envolvido replicações do homólogo (9+2) (depois disso tornou-se o centro de divisão intranuclear) na ausência de divisão nuclear. Desta forma, ficaram disponíveis pares de homólogos (9+2) intranucleares. Ocorreu depois uma mutação, fazendo com que um membro do par tenha sido atraído pela cromatina do hospedeiro e, eventualmente, tenha começado a funcionar como um centrómero cromossómico. O outro, não atraído pela cromatina do hospedeiro, funcionava como um centríolo intranuclear. Os membros destes pares atraíam-se

IV. A. (a) *Collodictyon* (Wilson, 1925, p.677)



IV. A. (b) *Chilomonas* (Belar, 1915)

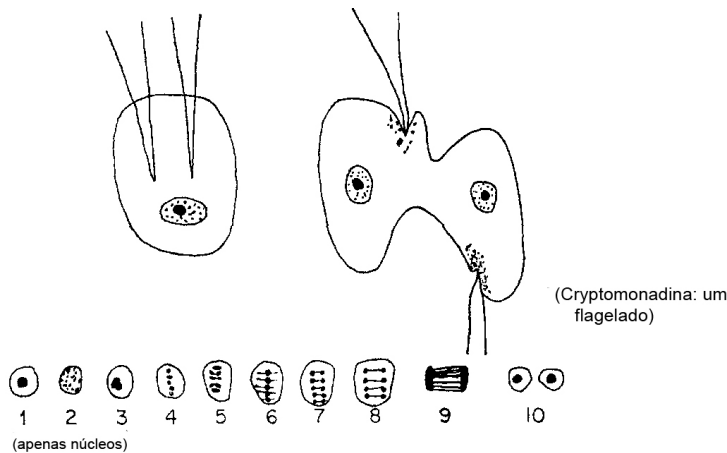


Fig.2 – Figuras mitóticas de alguns eucariotas representativos (*cont.*)

mutuamente. A atracção do homólogo (9+2) (centrómero cromossómico), arrastando com ele a cromatina do hospedeiro enquanto se move para as suas homólogas (9+2) irmãs (centríolo nuclear), pode ser análoga a quaisquer mecanismos que estão geralmente envolvidos na atracção de células procarióticas antes da união.

2.5.3. Homólogo (9+2) usado como centro de divisão intranuclear e como corpo basal flagelar

Fora desta linhagem ancestral de animais flagelados, evoluíram células que teriam sido móveis em determinadas fases do ciclo de vida. Em outras

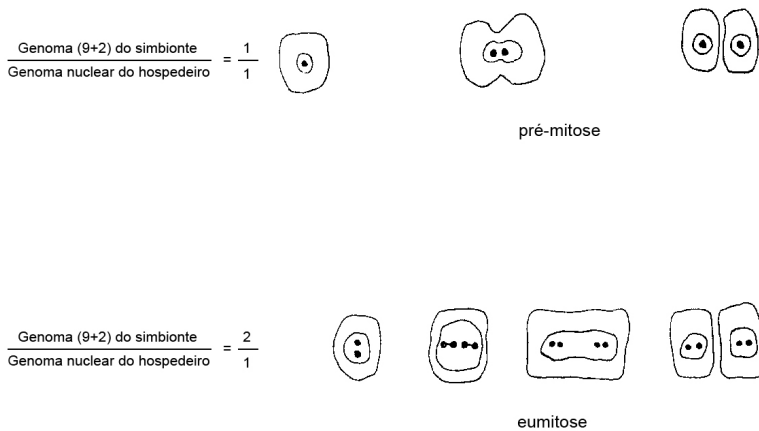
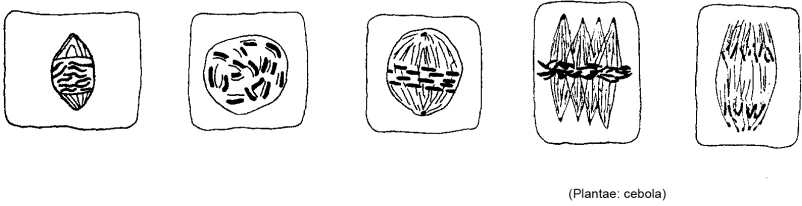


Diagrama II

fases, o corpo basal (9+2) flagelar entrou no núcleo e dividiu-se. Um pouco antes de o homólogo (9+2) se dividir, foi «emprestado» para servir de centro de divisão intranuclear na segregação da cromatina do hospedeiro. Após a divisão, o homólogo (9+2) retomou a sua função na base do flagelo. Esta linha pode ter conduzido a um conjunto de amibas flageladas que não se dividem durante as suas fases móveis; em algumas observa-se uma relação morfológica entre os flagelos e o núcleo [Fig. 2. III (a) a (c)]. São vestígios desta linha, por exemplo: *Naeglaria* (Wilson, 1925, p.693), *Anisonemids* (peranemídeos) (Copeland, 1956, p.108) e dinoflagelados (Wilson, 1925. p.209); *Dimastigamoeba*, *Mastigella* e *Mastigina* (Goldschmidt, 1907). Os três primeiros grupos são considerados pré-mitóticos, nos quais fenómenos sexuais não são conhecidos, ou a sua ocorrência é seriamente contestada (diagrama III).

IV. B. (a) *Allium* (Wilson, 1925, p.697)



IV. B. (b) *Paramecium caudatum* (Wilson, 1925, p.610)

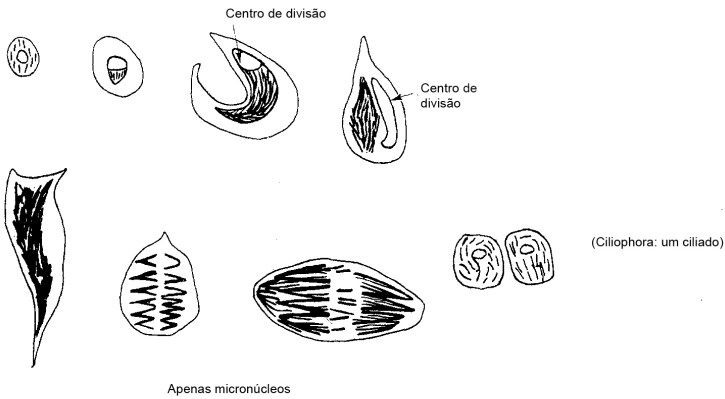


Fig.2 – Figuras mitóticas de alguns eucariotas representativos (*cont.*)

2.5.4. *Homólogos (9+2) usados como corpos basais dos flagelos e outros homólogos (9+2) permanentemente diferenciados como centros de divisão intranuclear*

As mutações que ocorrem fora da linha geral dos amiboflagelados produziram essencialmente dois «clones» distintos de homólogos (9+2). Um homólogo (9+2) mutante produziu «descendência», que funcionou permanentemente como centro de divisão intranuclear. O outro homólogo (9+2)

$$\frac{\text{Genoma (9+2) do simbionte}}{\text{Genoma nuclear do hospedeiro}} = \frac{2}{1}$$

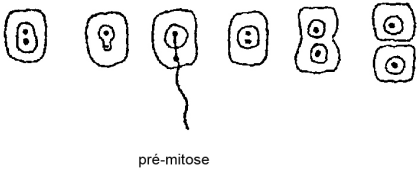
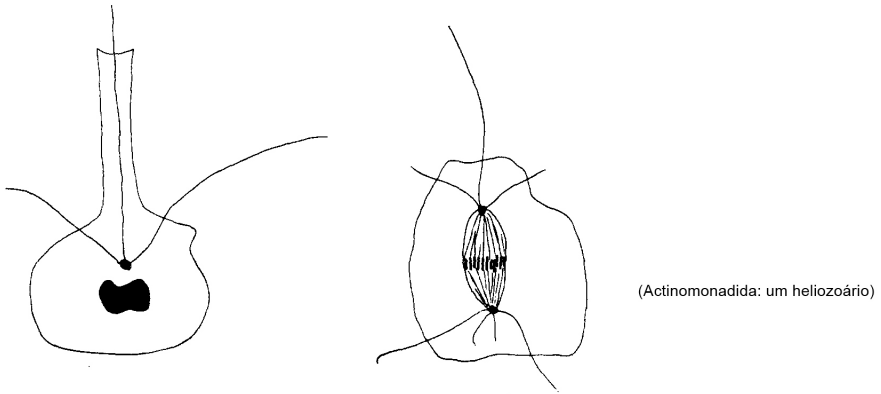
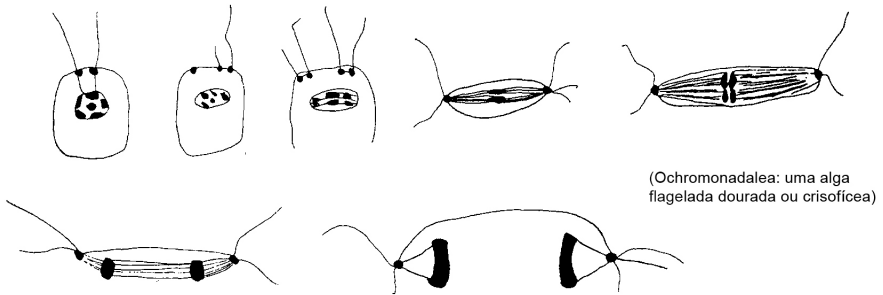


Diagrama III

V. (a) *Dimorpha mutans* (Picken, 1962, p.259)

 V. (b) *Ochromonas* (Doflein & Reichenow, 1929)

Fig.2 – Figuras mitóticas de alguns eucariotas representativos (*cont.*)

produziu descendentes que se mantiveram apenas como corpos basais dos flagelos. Um centro de divisão intranuclear e, eventualmente, a eumitose evoluíram numa linha na qual os corpos basais-homólogos (9+2) de flagelos independentes foram retidos. Esta série de mutações (que pode ter ocorrido mais do que uma vez) levou presumivelmente ao aparecimento dos grupos de protozoários, algas verdes, crisofíceas, etc. Alguns destes grupos são claramente pré-mitóticos (p. ex. *Euglenophyta*) [Fig.2. IV, alíneas a, b], (Wilson, 1925, p.697; Belar, 1915).

Uma, ou talvez várias, destas linhas originou o aparecimento das plantas verdes eumitóticas com estádios anteriores de motilidade flagelar e (por hipótese) com centros de divisão intranuclear (Wilson, 1925, p.151); outra linha pode ter evoluído em alguns esporozoários (Copeland, 1956, p.17).

A vantagem selectiva destas mutações é clara: elas asseguram ao organismo uma distribuição equitativa da sua cromatina e a retenção da sua motilidade flagelar.

Os grupos relativamente homogéneos de protozoários, os ciliados com os seus núcleos dimórficos, evoluíram presumivelmente a partir de uma série análoga de mutações fora da linha primitiva dos amiboflagelados. Eles têm um micronúcleo eumitótico (com um fuso intranuclear) reservado para a continuidade genética (Weinrich, 1954). Mantêm também a replicação dos corpos basais para os cílios (9+2) do córtex independente do aparelho mitótico. No entanto, nestes organismos, a «linha germinativa» mitótica e o «soma» pré-mitótico estão estranhamente diferenciados em dois tipos de núcleos. O macronúcleo endopoliplóide não contém centrómeros cromossómicos ou cromossomas individuais, e divide-se por amitose. Presumivelmente, a série de mutações que foram seleccionadas no curso da evolução da eumitose no micronúcleo começou numa célula binucleada, na qual foram produzidas regularmente muitas cópias do genoma e reservadas para a gestão activa da síntese de proteínas. A evolução da eumitose nunca ocorreu no macronúcleo [Fig.2. IVB. (b)] (Wilson, 1925, p.610).

2.5.5. *Homólogo (9+2) usado como corpo basal dos flagelos e como «centro de divisão» extranuclear*

Nos membros das populações iniciais de amiboflagelados já contendo homólogos (9+2) intranucleares, devem ter ocorrido mutações que levaram

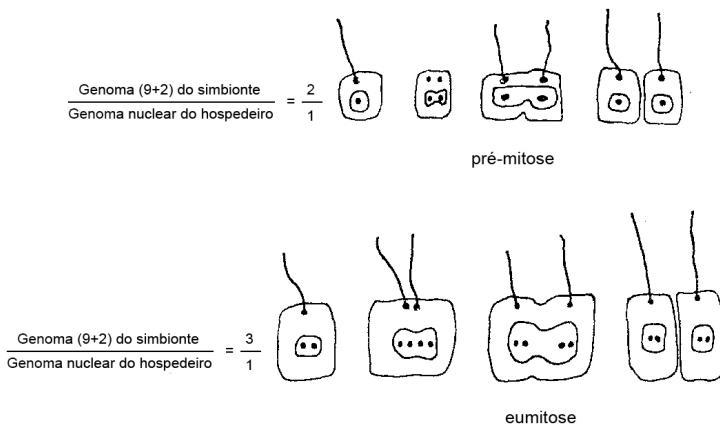
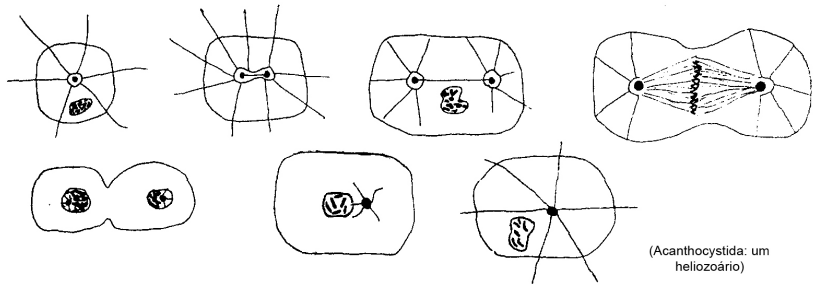


Diagrama IV

V. (c) *Acanthocystis* (Calkins, 1909, p.31)



V. (d) *Prowazekia* (Belar, 1915)

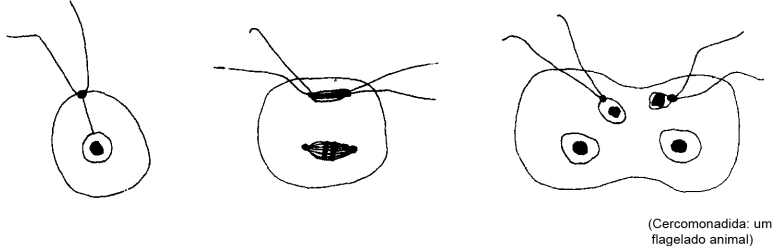


Fig.2 – Figuras mitóticas de alguns eucariotas representativos (*cont.*)

ao aparecimento de células em que os corpos basais dos flagelos, quando se dividiam, funcionavam como centros de divisão extranuclear. Existem exemplos notáveis do corpo basal a funcionar como um centro de divisão extranuclear durante fases mitóticas em formas bastante distintas entre os muitos organismos existentes [*Dimorpha mutans* (Picken, 1962), *Clathrina* (Wilson, 1925, p.42), *Ochromonas* e *Centropyxis* (Doflein & Reichenow, 1929)]. Alguns destes organismos [por exemplo, *Acanthocystis* (Calkins, 1909), *Wagnerella* (Wilson, 1925, p.677)] têm figuras de divisão do tipo animal, mas os centríolos são indistinguíveis dos corpos basais flagelares. Durante a divisão, os flagelos de muitos destes organismos ainda estão ligados aos centríolos nos pólos da figura mitótica. Em alguns casos, quando o homólogo (9+2) se divide, um produto da divisão funciona como o centríolo, e o outro dá origem ao corpo basal flagelar, que se diferencia, perdendo assim a sua capacidade de replicação contínua (Renaud & Swift, 1964).

Nesta linha evolutiva, na qual os corpos basais extracelulares em divisão funcionavam como centríolos atraídos pelos centrómeros cromossómicos intranucleares, é provável que tenha surgido uma série de flagelados especializados e que mantêm ao longo do ciclo de vida algumas ligações morfológicas entre o aparelho flagelar e a figura mitótica, por exemplo, *Trichomonas* (Wilson, 1925, p.205); *Polymastix* (Wilson, 1925, p.694); *Heteromita* (Wenyon, 1926, p.118); *Prowazekia* (Belar, 1915) e *Eudorina* (Hartmann, 1921). Em alguns organismos é provável que esta ligação tenha sido perdida secundariamente, por exemplo, *Cryptobia* (Copeland, 1956, p. 160); *Herpetomonas* (Wenyon, 1926, p.118); *Vaucheria* (Fritsch, 1935, p.70); *Dictyota* (Wilson, 1925, p.200); *Paramoeba* (Goldschmidt & Popoff, 1907); *Gurleya* (Wenyon, 1926, p.742). Protozoários hipermastigotas, cujos centríolos mitóticos se formam a partir da banda flagelar na célula viva, são especialmente ilustrativos deste grupo (Copeland, 1956, p.171; Cleveland, 1956, 1963). Por exemplo, depois de muito estudo sobre o ciclo de vida dos centríolos nos hipermastigotas, *Barbulanympha*, Cleveland conclui:

«... o processo de reorganização (dos centríolos) descrito mostra claramente várias coisas; uma relação definitiva entre os centríolos de hipermastigotas e aqueles das formas superiores de vida; a capacidade do centríolo para, em determinados momentos, funcionar mais do que uma vez na formação de flagelos axóstilos e parabasais, assim como o é capaz de fazer em todos os momentos na formação da figura acromática (ou seja, aparelho mitótico); a capacidade dos centríolos funcionarem na produção de organelos extranucleares sem que eles mesmos se reproduzam, e também sem uma reprodução nuclear ou citoplasmática; a incapacidade dos flagelos, dos parabasais e dos axóstilos, se reproduzirem; e, mais importante do que tudo, o facto de que o ápice anterior destes centríolos dos flagelos, invulgarmente grandes, ser a sua parte reprodutora» (Cleveland, 1956).

2.5.6. Homólogos (9+2) usados como corpos basais dos flagelos e de outros homólogos (9+2) permanentemente diferenciados como centros de divisão extranuclear (centríolos)

Esta série de mutações, que conduziram aos típicos centríolos e anfiásteres da mitose do tipo animal, envolve etapas análogas às previstas na secção 2.5.4. Foram produzidos dois «clones» de homólogos (9+2): em um, o homólogo (9+2) dá origem permanentemente a corpos basais que, por sua vez, só dão origem a outros corpos basais que produzem flagelos. No outro,

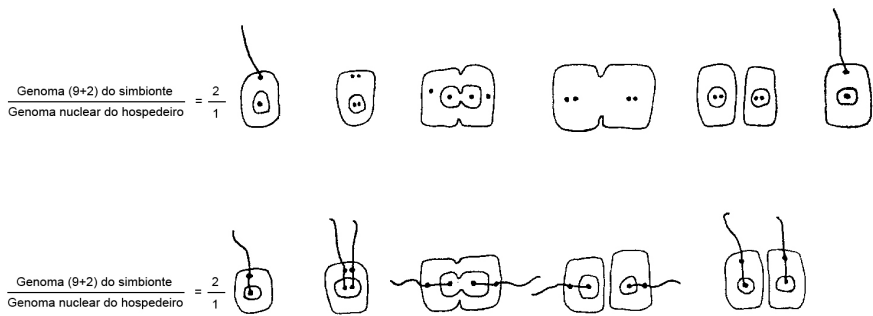
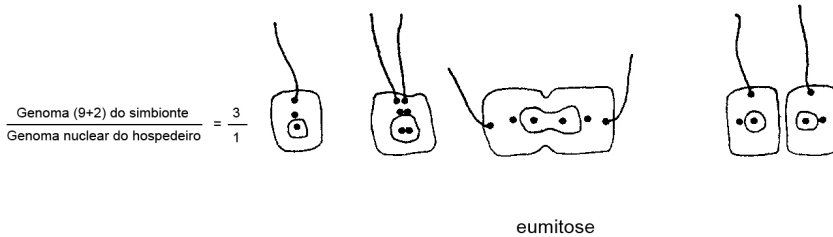


Diagrama V

o homólogo (9+2) dá origem a centríolos extranucleares. Isto pode ter envolvido mutações que levaram à perda de duas fibras centrais do homólogo (9+2), resultando na estrutura não-móvel (9+0) do centríolo. [Pode ser que sejam as fibras centrais que conferem motilidade aos flagelos e que são um pouco parecidas com a fibra axial das espiroquetas (Stanier et al., 1963, p.158).] A vantagem selectiva de uma diferenciação funcional permanente dos dois organitos é clara, conforme secção 2.5.4, a motilidade flagelar é completamente independente do aparelho mitótico: as células flageladas, em organismos eumitóticos, também se podem dividir. Encontram-se exemplos deste tipo de mitose, com anfiásteres a circundar os centríolos extranucleares, em alguns protozoários e na maioria dos grupos de eumetazoários (Wilson, 1925, p.124). O centríolo extranuclear conspicuo das diatomáceas também pode ser funcionalmente homólogo. Tal é consistente com o facto interessante deste grupo relativamente homogéneo de algas avançadas ter entrado em cena durante o Cretáceo [Fig.2. VI (b)] (Fritsch, 1935, p.660).

2.6. A EVOLUÇÃO DAS PLANTAS EUCARIÓTICAS A PARTIR DE DIVERSAS LINHAS DE PROTOZOÁRIOS QUE ADQUIRIRAM ALGAS PROCARIÓTICAS SIMBIÓTICAS

Tal como acima referido, presume-se que a evolução da mitose ocorreu milhões de anos após a evolução da fotossíntese. Esta hipotética origem dos eucariotas é totalmente incompatível com a noção de que o ancestral das células superiores existentes é um simples fitoflagelado – as células vegetais eucarióticas não evoluíram uma fotossíntese eliminadora de oxigénio, que mais tarde «empacotaram» em plastos delimitados por membrana; elas

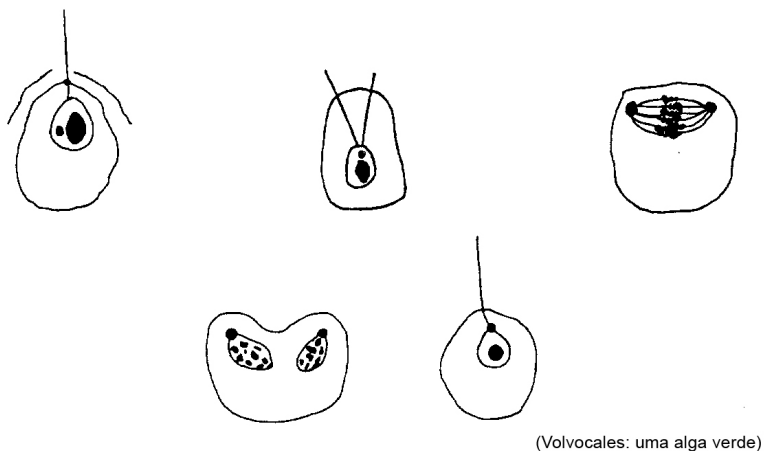
**Diagrama VI**

adquiriram-na por simbiose. A diversidade da estrutura celular e o ciclo de vida em algas eucarióticas inferiores implica que foram ingeridos diferentes procariotas fotossintéticos (protoplastos) por protozoários heterotróficos em vários momentos durante a evolução da eumitose. Os próprios protoplastos evoluíram a partir de procariotas eliminadores de oxigénio, homólogos das algas azuis. Para sua própria vantagem selectiva, permaneceram nos hospedeiros protozoários que os tinham absorvido e, eventualmente, tornaram-se plastos simbióticos obrigatórios, retendo os seus característicos pigmentos e vias fotossintéticas. Em muitas algas eucarióticas e em todas as plantas superiores, é claro, a simbiose continuou a evoluir muito, e os vestígios de heterotrofia foram eventualmente perdidos. Isto implica que, em plantas eucarióticas, os plastos são homólogos aos das algas azuis; a parte não-cloroplasto das plantas é directamente homóloga aos eucariotas heterotróficos.

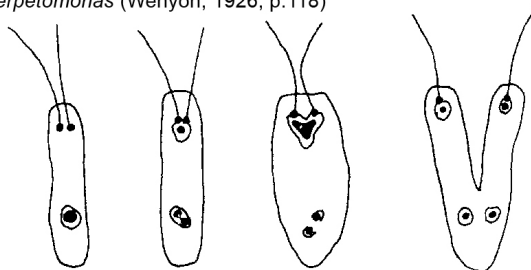
A árvore filogenética – Fig.1. Com base na hipótese acima referida, a Fig.1 apresenta uma árvore filogenética contendo os principais grupos de organismos eucariotas inferiores. Num tratado taxonómico extremamente original, H.F. Copeland classificou muitos destes organismos eucarióticos inferiores em grupos naturais relativamente isolados. Excepto na aceitação da autonomia genética dos plastos fotossintéticos, o trabalho independente de Copeland é consistente, de forma notável, com a teoria da evolução aqui apresentada. O seu livro (Copeland, 1956) foi inestimável para o desenvolvimento desta filogenia.

Assim, existem duas grandes inovações apresentadas na árvore filogenética. Uma envolve a separação das algas eucarióticas inferiores em grupos baseados nas supostas homologias do «hospedeiro» ou parte protozoária do organismo. Os círculos com letras, que representam plastos nas linhas, indicam as homologias dos endossimbiontes fotossintéticos procarióticos; com menos precisão, a posição destes círculos representa o estágio da evolução

V. (e) *Eudorina* (Hartmann, 1921)



V. (f) *Herpetomonas* (Wenyon, 1926, p.118)



V. (g) *Paramoeba eilhardi* (Goldschmidt & Popoff, 1907)

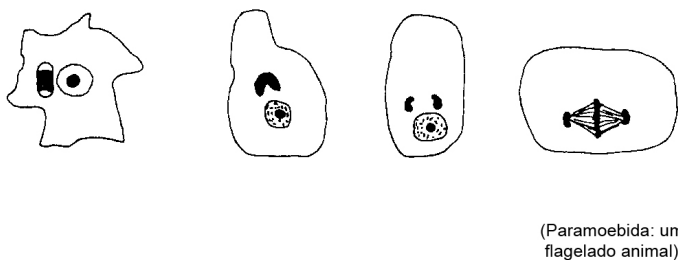
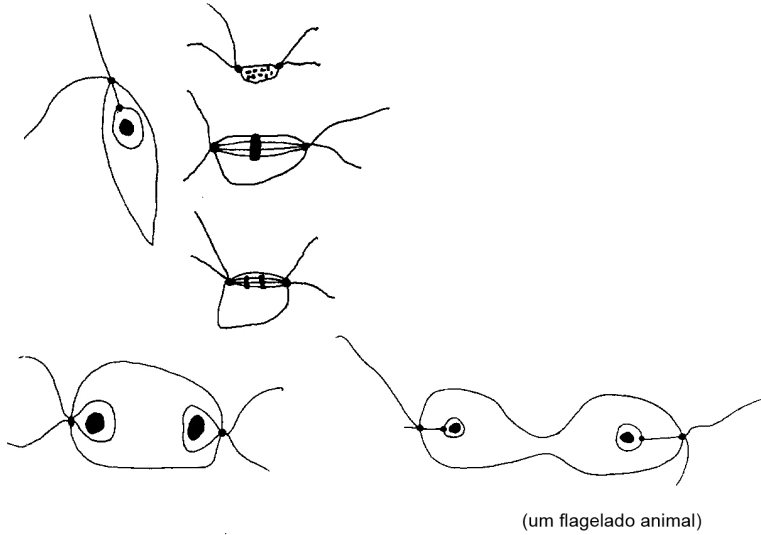


Fig.2 – Figuras mitóticas de alguns eucariotas representativos (*cont.*)

V. (h) *Heteromita ucinata* (Wenyon, 1926, p.118)



V. (i) *Gurleya* (Wenyon, 1926, p.742)

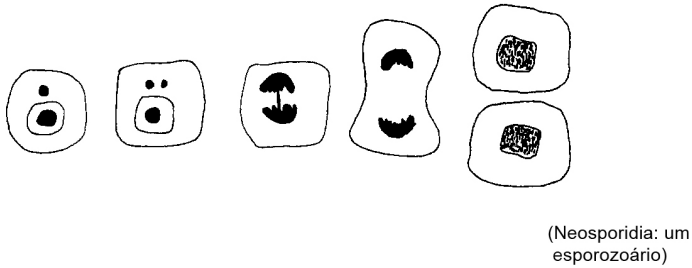
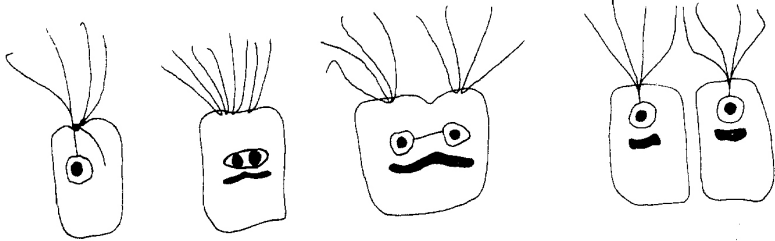


Fig.2 – Figuras mitóticas de alguns eucariotas representativos (*cont.*)

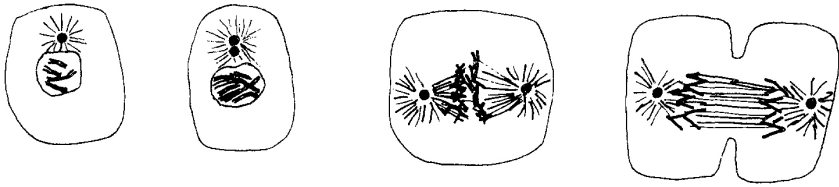
em que ocorreu a aquisição simbiótica. A segunda inovação é uma tentativa de reclassificar grupos de protozoários reconhecidamente heterogêneos (por exemplo, esporozoários, sarcodíneas, etc.), de acordo com a suas citologias mitóticas e, assim, os estádios que presumivelmente representam na evolução da eumitose. À parte destas grandes modificações, a taxonomia-padrão foi seguida. Na árvore filogenética, adoptou-se a terminologia de Copeland

V. (j) *Polymastix* (Wilson, 1925, p.205)



(Polymastigida: um flagelado animal)

VI. (a) *Ascaris* (Wilson, 1925, p.124)



(Animalia: um verme redondo)

VI. (b) *Surirella* (Fritsch, 1935, p.660)



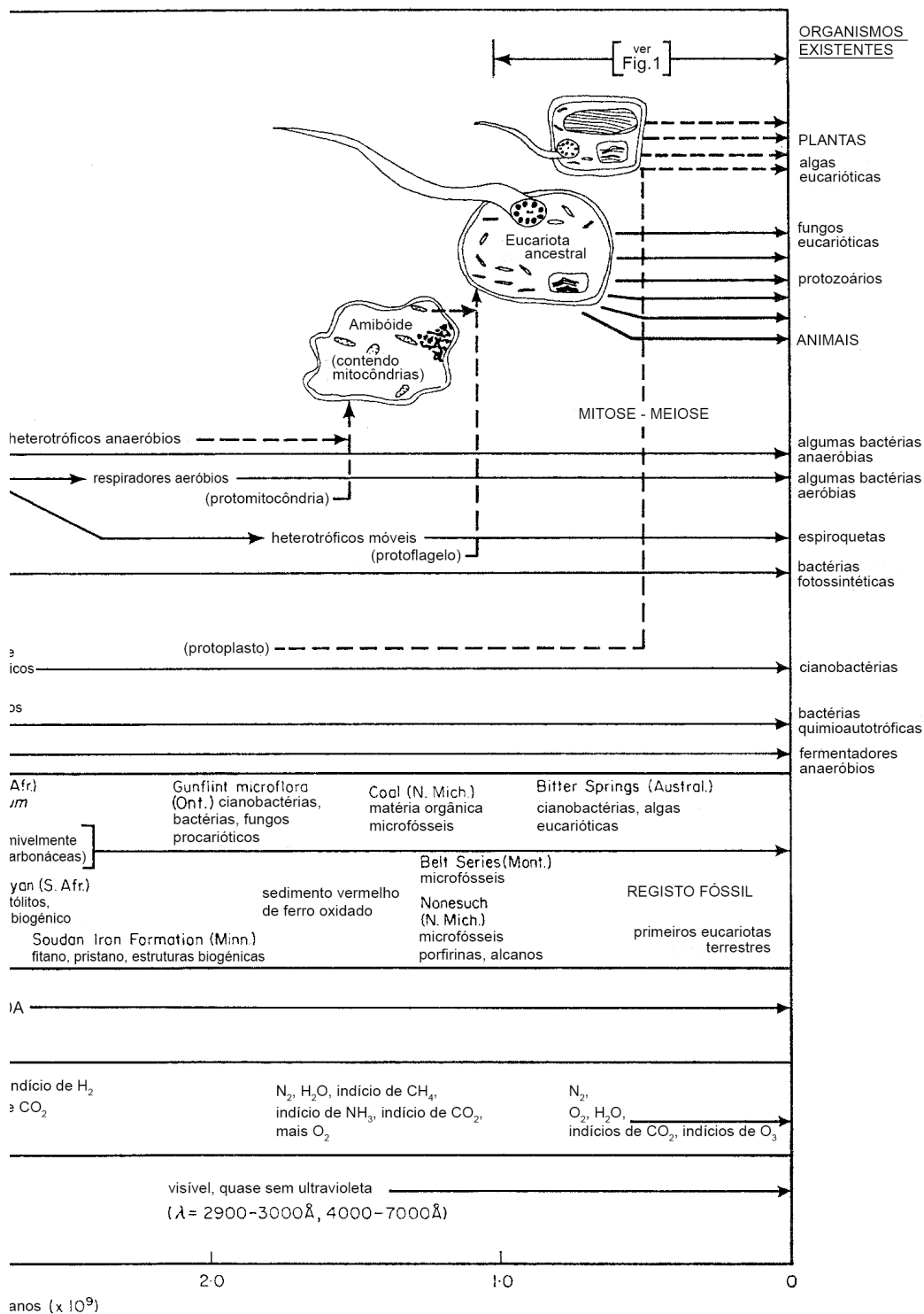
(Bacillariea: uma alga diatomácea)

Fig.2 – Figuras mitóticas de alguns eucariotas representativos (*cont.*)

para todos os organismos, excepto para as algas verdes, para as quais é usada a terminologia de Fritsch. Excepto para organismos explicitamente mencionados em outro lugar na árvore, os grupos são considerados equivalentes aos de Copeland.

Tabela 1

EVOLUÇÃO DAS CÉLULAS e das suas vias metabólicas	<p>CÉLULAS, SELECÇÃO NATURAL (digestão directa de ATP; sistema de síntese de proteínas, DNA codificado)</p> <p>polinucleótidos de replicação pré-celular</p> <p>sintetizadores de porfirina antimutagénica</p> <p>respiradores anaeróbios</p> <p>sintetizadores de ATP fotoautotróficos anaeróbios</p> <p>FOTOSÍNTESE</p> <p>sintetizadores de ATP fotoautotróf</p> <p>quimioautotróficos aeróbios</p>
Eucariotas	
Procariotas	
FÓSSEIS	<p>Fig Tree Series (S. <i>Eobacterium isolatu</i> pristano, fitano rácios de $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ presur biogénico (em rochas c.</p> <p>Bulawa estroma calcário</p>
COMPOSTOS ORGÂNICOS ABIOTÓGENICOS	<p>cianeto de hidrogénio, aldeídos cetonas, aminoácidos, pirrolos, ácidos hidroxi, hidratos de carbono, purinas, pirimidinas, nucleótidos</p> <p>NAD</p>
ATMOSFERA	<p>H_2, N_2, H_2O CH_4, indicio de NH_3 indicio de CO_2</p> <p>N_2, indicio de NH_3, i CH_4, H_2O, indicio de indicio de O_2</p>
RADIACÃO SOLAR (que chega à superfície da Terra)	<p>ultravioleta visível ($\lambda > 2100\text{\AA}$)</p> <p>ultravioleta de onda longa visível ($\lambda = 2400-2900\text{\AA}$, $4000-7000\text{\AA}$)</p>
5·0	4·0
3·0	



A aquisição da fotossíntese por eucariotas heterotróficos pode então ser pensada como bastante análoga a algumas reconhecidas simbioses, as quais, com base na identificação do simbionte fotossintético, deve ter sido originada muito mais recentemente, por exemplo, *Paramecium bursaria*, crisófitos em Radiolários, *Hydra viridis*, as associações algas-fungos em líquenes. Foram relatadas ocorrências de simbiontes de algas verdes, azuis e criptomonádaceas em tecidos na maior parte dos grupos de animais inferiores (Buchner, 1930, 1953).

Toda a cronologia aqui apresentada está resumida na Tabela 1.

Para documentar esta teoria, o seguinte, no mínimo, é necessário verificar-se: (1), a teoria deve ser consistente com os registos fósseis e geológicos; (2), cada um dos três organitos citoplasmáticos (mitocôndrias, homólogos (9+2) e plastos) deve demonstrar características gerais relacionadas com as características das células que têm origem em hospedeiros como simbiontes. Nenhum pode ter características que entrem em conflito com essa origem; (3), as previsões tendo em conta a origem dos eucariotas devem ser verificadas. O resto deste artigo discute a evidência que apoia esta teoria, em termos de suposições feitas com base na biologia molecular, o que pode ser feito considerando os mecanismos evolutivos.

3. Evidência a partir da literatura

3.1. SOBRE OS CRITÉRIOS PARA UMA FILOGENIA MICROBIANA NATURAL

Em toda a literatura sobre sistemática existe o pressuposto subjacente de que quanto mais características dois organismos possuem em comum, mais relacionados eles estão. Organismos superiores, tais como vertebrados e plantas com flor, mostram padrões morfológicos consistentes que mudam em etapas que podem estar relacionadas directamente com o valor adaptativo. A observação dos organismos vivos, a fisiologia comparativa e a anatomia, bem como o registo fóssil, fornecem todos eles evidências para esta hipótese.

No entanto, a ausência de uma série comparável de critérios morfológicos consistentes tem frustrado a tentativa de traçar a história evolutiva dos «organismos inferiores», por exemplo, os «ficomictos», os «mastigóforos», os «sarcodíneos», etc., como qualquer investigação da literatura sobre o assunto pode revelar.

Neste sentido, em que é que a reconstrução da história evolutiva dos microrganismos se pode basear? Os recentes avanços na biologia molecular

dão uma ideia da importância relativa dos diversos critérios no desenvolvimento da filogenia microbiana, mesmo se uma grande quantidade de dados fundamentais não está ainda disponível. Por exemplo, é claro que *não* basta simplesmente recolher arbitrariamente um número grande de «características» de igual valor e tentar agrupar os microrganismos com base no maior número de tais «características» em comum. Em vez disso, como a base genética de muitas dessas «características» acaba por se tornar conhecida, podemos classificá-las em função do número total de mutações pontuais necessárias para a sua evolução. Na determinação da relação entre dois microrganismos – ou seja, a quantidade de tempo que decorreu desde o momento em que eles divergiram a partir de um ancestral comum – podemos perguntar: quantas sequências de pares de base homólogas partilham eles no DNA? O número de passos mutacionais que ocorreram para produzir um a partir do outro está relacionado com o número de gerações que decorreram desde o momento em que as duas populações divergiram.

Assim, embora os dois organismos possam diferir numa única característica «mensurável», deve ser claramente reconhecido que a base genética de tal característica pode variar entre uma única (ou em muito poucas) alteração e milhares ou dezenas de milhares de alterações nos pares de base do DNA.⁶

É claro que, para construir uma taxonomia que mostre a filogenia natural, e não a analogia evolutiva, os microrganismos devem ser agrupados

⁶ Isto pode ser ilustrado com um exemplo tirado de duas espécies de algas de uma única célula. *Chlamydomonas* resistentes à estreptomicina e *Chlamydomonas* sensíveis à estreptomicina podem diferir em apenas uma única característica – assim podem a estirpe «estiolada» e a estirpe verde de *Euglena gracilis* diferir apenas numa única característica, a da «cor verde». No entanto, é provável que a diferença em *Chlamydomonas* seja devida apenas a um único *mutão* [*mutão* é a unidade mais pequena de DNA onde pode ocorrer uma mutação (N. do T.)] (Sager & Tsubo, 1961), enquanto que em clones de *Euglena* a única característica da cor verde (por exemplo, clorofila) em células permanentemente «estioladas» tem sido relacionada com a presença de todo o cloroplasto, e a potencialidade para a sua formação (Lyman, Epstein & Schiff, 1961). Assim, *Euglena* «verde» e «estiolada», diferindo na característica óbvia da cor, revelam uma diferença genética de milhares de *mutões*. No cloroplasto da *Euglena* há pelo menos 15 tipos diferentes de enzimas (Smillie, 1963) e estima-se que cada uma tenha aproximadamente 100 resíduos de aminoácidos. Com um rácio de codificação de três nucleótidos por cada aminoácido, a presença de um cloroplasto implica material genético suficiente, só para genes estruturais, para codificar $15 \times 100 \times 3 = 4500$ mutões independentes. No pressuposto de que uma célula em cerca de um milhão contém mutações ao acaso que acabam por ser favoráveis para a evolução dos genes estruturais no cloroplasto, teria levado cerca de ($2^n \approx 10^6$, $n \approx 20$) vinte gerações de *Euglena* para obter cada uma das 4500 mutações favoráveis na via. Portanto, a característica da cor verde na *Euglena*, que pode ser perdida, de forma permanente, pela exposição das células à luz ultravioleta durante uns minutos (Lyman,

com base na quantidade total de homologias genéticas que compartilham. Uma única mutação num microrganismo, resultando em uma pequena alteração química com um profundo efeito fenotípico em relação à selecção, poderia facilmente induzir em erro o taxonomista de organismos inferiores. Por outro lado, os organismos podem partilhar características fenotípicas e ainda assim o seu parentesco ser distante. Por exemplo, o facto de dois microrganismos metabolizarem ambos a glucose, mas através de vias totalmente distintas, implica um grande número de cistrões diferentes e, portanto, um período de tempo bastante longo desde que os dois organismos divergiram de um ancestral comum.

Devido à falta de informação, é impossível, é claro, determinar o número e a ordem dos pares de bases do DNA que codificam para um determinado cistrão vantajoso; porém, certos critérios para a determinação do grau de parentesco entre dois microrganismos podem ser classificados em função da validade geral (Tabela 2). Por exemplo, a homologia de uma via metabólica inteira é um critério taxonómico muito mais significativo do que a presença ou ausência de uma única enzima ou pigmento. De facto, o ponto no qual as vias metabólicas divergem em dois microrganismos, de outro modo semelhantes, pode ajudar a determinar o tempo decorrido desde que os dois microrganismos divergiram de um ancestral comum.

A necessidade de compreender os padrões metabólicos por inteiro, ao invés de características bioquímicas individuais, é especialmente relevante para o trabalho de botânica evolutiva sobre «plantas inferiores», onde pigmentos fotossintéticos comuns e produtos metabólicos têm sido considerados marcadores filogenéticos primários. Alguns grupos de organismos têm sido considerados intimamente relacionados com base nos seus pigmentos [ou seja, *Schizogoniaceae*, *Euglenídeos*, *Conjugaceae*, e outros clorófitos (Fritsch, 1935, p.70), *Myxochrysis* e *Crysothylakion* (Copeland, 1956, p.63)]. Em alguma literatura botânica chega-se mesmo a pensar que as algas vermelhas possam ter derivado das azuis:

«A fucoxantina, que é compartilhada por crisomonadáceas, diatomáceas e algas castanhas, apoia uma origem evolutiva comum para estes membros da linha «castanha» de metaprotistas. O facto das diatomáceas e dos dinoflagelados possuírem em comum diadinoxantina, é sugestivo de uma afinidade entre estes grupos... A posse comum desta classe de cromoproteínas

Epstein & Schiff, 1961), deve ter levado (muito aproximadamente, mas provavelmente um limite inferior extremo), 20x4500, ou 90 000 gerações para evoluir.

Tabela 2

*Critérios taxonómicos na formação de uma filogenia natural dos microrganismos
(listado aproximadamente em ordem de importância relativa)*

Critério	Técnicas aplicadas
Homologia total dos pares de base do DNA	Sequenciação directa de nucleótidos do DNA Técnica de gel de agar para homologias do DNA Capacidade para recombinar geneticamente (ou seja, técnicas de genética clássica) Rácios de bases do DNA sobre um gradiente de densidade de CsCl Determinação da desnaturação do DNA (ponto de fusão)
Vias metabólicas homólogas	Bioquímica clássica
Cistrões homólogos, as mesmas «letras do código genético»	RNA mensageiro homólogo (homologias DNA-RNA). Identidade da transferência individual de RNA para aminoácidos específicos
Morfologia ultraestrutural	Microscopia electrónica
Morfologia e ciclo de vida	Microscopia óptica, citologia clássica
Pigmentos bioquímicos únicos, enzimas, etc., em comum	Espectroscopia, bioquímica clássica
Estrutura molecular de um pigmento, ou enzima	Química clássica
Características fenotípicas comuns	Capacidade para crescer sobre o mesmo hidrato de carbono, produção do mesmo produto final, motilidade, etc.

– as biliproteínas – por parte das algas azuis e vermelhas, encaixa muito bem com a derivação do aparelho fotossintético das algas vermelhas a partir do das algas azuis...» (Dougherty & Allen, 1960, p.129).

Classicamente, os organismos fotossintéticos têm sido separados em Reinos (ou Classes) distintos dos seus homólogos sem plastos, independentemente das suas morfologias celulares, as quais implicam (pelo menos para os zoólogos) que eles devem ser agrupados juntos [por exemplo, «*Chrysamoebida* (ordem): *Rhizochrysidaceae*, *Chrysarachiaceae*, *Myxochrysidaceae* (famílias)...

organismos nos quais apenas os plastos os distinguem dos diferentes grupos de Rizópodes, Heliozoários e Sarcodíneos»] (Copeland, 1956, p.63). Uma vez que os zoólogos dão menos importância às características de plasto e tendem a colocar tais organismos pigmentados nos seus respectivos grupos de protozoários, as inconsistências surgem na literatura taxonómica dos eucariotas inferiores de forma galopante.

3.2. SOLUÇÃO PARA ALGUNS PROBLEMAS TAXONÓMICOS

De acordo com a tese fundamental deste trabalho, estes problemas são resolvidos se a validade de ambas as perspectivas forem consideradas simultaneamente. Por exemplo, em *Chrysamoebida* não é necessário, para os zoólogos, colocarem a hipótese de que a fotossíntese do tipo crisofíceas tenha evoluído separadamente, mas de um modo exactamente análogo, em diversas linhas de heliozoários, rizópodes e sarcodíneos; é igualmente desnecessário os botânicos acreditarem que os vários rizópodes, heliozoários e sarcodíneos evoluíram a partir de ancestrais crisofíceas pela perda de plastos fotossintéticos. Consistente com a hipótese acima mencionada é a teoria de que as algas, com características fotossintéticas de crisofíceas, evoluíram milhões de anos antes a partir de procariotas fotossintéticos e foram adquiridas simbioticamente em espécies de heliozoários, rizópodes e sarcodíneos, e que estas algas procarióticas se tornaram plastos simbióticos obrigatórios nos vários protozoários. Em outros casos (por exemplo, *Chloramoeba* e *Chrysamoebae*), as crisofíceas e as típicas algas «verdes» procarióticas foram ingeridas por amiboflagelados muito semelhantes, cujos descendentes evoluíram subsequentemente formas de vida do tipo das «algas». Presumivelmente, também, típicas algas verdes procarióticas foram adquiridas por euglenídeos, cloromonadáceas, *Schizogoniaceae*, etc., explicando a semelhança notável nas características relacionadas com o cloroplasto nestes diferentes organismos «hospedeiros». Não há realmente nenhuma outra explicação razoável para a evolução de certos grupos naturais de flagelados, altamente especializados, que contenham diferentes tipos de plastos com pigmentos distintos e produtos de armazenamento [ex.: *Cryptomonadina* (família): *Rhodomonas* (vermelha), *Cryptochrysis* (crisofíceas), *Cryptomonas* (incolor)]. Como é agora reconhecido na classificação dos líquenes, o hospedeiro e os componentes plastidiais dos eucariotas fotossintéticos, à semelhança dos componentes dos líquenes – os fungos e as algas –, devem ser classificados separadamente. Talvez, então, uma filogenia natural dos eucariotas inferiores poderia assim ser estabelecida, o que é satisfatório para botânicos, zoólogos e micologistas.

Em alguns casos, sem dúvida, a perda secundária de plastos em vários protozoários resultou no seu regresso ao modo de vida heterotrófico. A probabilidade de o hospedeiro poder tolerar a perda do simbiote deve estar relacionada com a extensão da evolução da própria simbiose. Por exemplo, *Paramecium bursaria* e várias outras células animais contendo algas simbióticas podem sobreviver à perda induzida das suas capacidades fotossintéticas (Siegel & Karakashian, 1959). *Euglena gracilis* pode sobreviver à perda dos seus cloroplastos. No entanto, em ambos os organismos, «curar as células» das suas algas fotossintéticas ou cloroplastos envolve alguma perda de viabilidade na maioria dos meios (Karakashian, 1963). Por exemplo, *Paramecium bursaria* cultivada no escuro acaba por perder as suas algas. Embora este ciliado possa ainda dividir-se assexuadamente, na ausência das suas zooclorelas simbióticas ele não inicia os eventos meióticos antes da conjugação (Siegel, comunicação pessoal). Em *P.bursaria*, a relação simbiote-hospedeiro pode ser rapidamente restaurada, bastando para tal disponibilizar como alimento as zooclorelas específica (que podem ser cultivadas *in vitro*) ao ciliado «curado» (Siegel, 1960). No entanto, o crescimento *in vitro* de cloroplastos e a sua reintrodução em *Euglena* têm colocado problemas técnicos insuperáveis até à data. A dependência do «hospedeiro» em relação ao plasto simbiótico é, pois, ainda mais pronunciada na maioria das plantas superiores, incapazes de sobreviver a uma perda da capacidade fotossintética excepto, talvez, em condições muito especiais. (Por exemplo, as pessoas podem manter milho albino vivo, alimentando as plantas com açúcar directamente através das suas folhas.)

Assim, em geral, uma maior dependência mútua reflecte provavelmente uma associação hospedeiro-simbiote mais longa. Isto ocorre porque novas sínteses, tornadas possíveis graças à simbiose, serão seleccionadas e gradualmente tornar-se-ão necessárias para a sobrevivência. É altamente provável que muitas das vias particulares do metabolismo das plantas – a formação da parede celular vegetal, a síntese de alcalóides, a formação de determinados produtos de armazenamento, etc. – têm origem na antiga simbiose entre algas procarióticas e protozoários, análoga à síntese de amido em *Peliaina*.

«*Peliaina cyanea* é um flagelado (crisomonadácea ou criptomonadácea nas suas afinidades) que contém entre um grande até seis pequenas cianelas (algas azuis). Fissões assimétricas raras produzem mónadas incolores (hospedeiros flagelados), as quais produzem óleos de reserva, ao invés de amido, tal como o complexo *Peliaina*. Uma vez que cianófitos livres também não produzem amido, o complexo alcançou uma nova função. O sincianoma deve ser antigo, uma vez que não é possível ao flagelado ter ingerido cianelas.

Fases fagotróficas e amibóides foram descritas em alguns flagelados primitivos, e a absorção de um cianófito de vida livre por um ancestral amibóide terá presumivelmente iniciado a simbiose...» (Lederberg, 1952).

Com base num argumento biológico muito geral, pode dizer-se que a fotossíntese evoluiu nos procariotas e a mitose evoluiu nos protozoários. Isto é, a partir do nosso conhecimento da evolução de organismos superiores, parece que, para identificar a população na qual uma característica determinada por multicistrões evoluiu, é necessário que organismos relacionados demonstrem uma grande variedade de pequenas variações na referida característica, a qual pode ser correlacionada com factores ambientais selectivos específicos.

A falta de variação em uma característica determinada por multicistrões num grupo natural de organismos sugere que a característica evoluiu mais cedo em alguns outros ancestrais da população. (Por exemplo, nos mamíferos: o metabolismo da glucose; a histologia do tecido ósseo; pulmões desenvolvidos a partir de um brotamento da faringe primitiva; o sistema circulatório fechado contendo corpúsculos vermelhos do sangue; coluna vertebral; o sistema nervoso dorsal, oco, etc.; em angiospérmicas: intermediários do ciclo de Krebs; fotossíntese em plantas verdes; meiose e fertilização; tecido vascular; sementes; etc.)

Por outro lado, as variações, entendidas em termos de valor adaptativo para a população, são consideradas uma prova de que, por exemplo, estas características evoluíram nos seguintes grupos naturais: desenvolvimento triploblástico em metazoários; o tetrápode de cinco dedos em vertebrados anfíbios; desenvolvimento de anfíbios e répteis em ambientes secos durante todo o ciclo de vida; grande variedade de formas de bicos e de patas nos tentilhões das Galápagos; glândulas mamárias nos mamíferos; e a flor nas angiospérmicas.

Já discutimos algumas das variações sobre o tema da mitose em protozoários, secções 2.4 a 2.5.6; para a discussão das variações no metabolismo fotossintético em procariotas contemporâneos, ver secções 3.4 e 3.5.

3.3. PROPRIEDADES GERAIS DA SIMBIOSE

O argumento apresentado para a origem da célula eucariótica aponta inequivocamente para a aquisição das mitocôndrias por simbiose, o genoma do complexo do flagelo (9+2) e o plasto. Quais são os critérios gerais dos organitos que derivaram por simbiose?

(1) Um simbiote originou-se como uma célula de vida livre e, portanto, deve ter sido capaz de replicar seu próprio DNA na sua própria maquinaria de síntese de proteínas. Como descrito acima, supõe-se que estes organitos subcelulares tenham evoluído ao longo da linha principal de evolução celular terrestre e, portanto, deviam conter DNA, RNA mensageiro e ribossomal, etc., ou seja, todos os requisitos mínimos para a reprodução da célula comum à vida celular terrestre. Isto não exclui a possibilidade de modos alternativos de replicação celular terem antecipado aqueles nos quais estamos interessados (Pirie, 1959). Assim, pelo menos um simbiote deve ter tido: (a) DNA; (b) RNA mensageiro (mRNA) complementar a esse DNA; (c) um sistema de síntese de proteínas funcional; (d) uma fonte de ATP e de outros nucleótidos; (e) uma fonte de pequenas moléculas para utilização no fabrico de proteínas e ácidos nucleicos; e (f) um sistema de síntese da membrana celular. Após a entrada num hospedeiro, tal simbiote pode perder nenhuma ou todas estas capacidades sintéticas, *excepto a capacidade de replicar o seu próprio DNA* e de sintetizar mRNA complementar a esse DNA – condição *sine qua non* de qualquer organismo. Assim, se qualquer um destes organitos tem origem como simbiote, o seu DNA específico característico deve estar presente no hospedeiro em todos os estádios do seu ciclo de vida. Sucede, é claro, que o rácio entre a síntese de DNA do genoma do hospedeiro e a síntese de DNA do genoma do simbiote deve ser aproximadamente de 1:1. Se o rácio for maior do que 1:1, o hospedeiro vai suplantar o simbiote e dar origem a filhas sem esse simbiote; se o rácio entre a síntese de DNA do hospedeiro e a síntese de DNA do simbiote for menor do que 1:1, o simbiote vai suplantar o hospedeiro e acabará por ocorrer lise.

Por analogia com o parasitismo e o mutualismo em organismos superiores, é altamente provável que, após uma longa associação, a redundância intrínseca às relações simbióticas seja seleccionada negativamente. Por conseguinte, o simbiote tende a relegar todas as funções metabólicas dispensáveis para o hospedeiro. Isto resulta tendencialmente em simbiose, que se vai tornando progressivamente cada vez mais obrigatória.

(2) Se um organismo ou um organito foi adquirido por simbiose, será retido intracelularmente no seu hospedeiro se e só se existir algum mecanismo que garanta que cada célula-filha do hospedeiro recebe pelo menos uma cópia do genoma simbiote em cada divisão. Qualquer mutação que assegure a distribuição do simbiote pelas duas células-filhas em cada divisão vai ser de alto valor selectivo para o complexo (por exemplo, um mecanismo comum eficaz, mas dispendioso, seria a presença de muitas cópias

do simbiote dentro das células hospedeiras, aumentando a probabilidade de cada filha receber pelo menos um simbiote). Na verdade, quando vistas desta forma, muitas observações citológicas clássicas sobre o comportamento dos centríolos, das mitocôndrias e dos cloroplastos nas células dos seus «hospedeiros» podem facilmente ser interpretadas, como de facto o foram, como sendo mecanismos que asseguram a continuidade genética do genoma do organito.

(3) Se um organito celular é adquirido por simbiose, não deve haver nenhum organismo que contenha estádios intracelulares intermediários do organito. Toda a série de capacidades metabólicas conferidas ao hospedeiro pelo simbiote deve ser adquirida em conjunto, ou seja, «empacotada» como uma unidade.

(4) Se o simbiote for perdido, todas as características metabólicas codificadas no genoma do simbiote são perdidas em conjunto. Uma vez perdido, um simbiote nunca pode ser recuperado a menos que seja readquirido por absorção. Na verdade, a menos que a reabsorção aconteça imediatamente a seguir à perda, é improvável que precisamente o mesmo simbiote venha a ser readquirido. Por exemplo, tal reabsorção tem sido sugerida para a origem de *Glaucozystis nostoc*, um organismo com as características de «hospedeiro» de um *Oocystaceae* contendo distintamente um tipo de algas azuis, em vez de plastos «verdes» (Fritsch, 1935, p.186), e para *Gloeochaete*, «há muito tempo referido como um género anómalo de *Myxophyceae*, mas sabe-se agora que representam uma forma de *Tetraspraeceous* incolor, em que os cromatóforos azuis são algas azuis simbióticas» (Fritsch, 1935, p.125).

Deve efectuar-se, é claro, uma distinção clara entre a perda e a desdiferenciação do simbiote. Na desdiferenciação, o potencial genético para a formação do simbiote é retido, implicando uma retenção completa do genoma do simbiote permanente e, portanto, do seu DNA. A perda do simbiote implica a perda permanente do DNA do simbiote.

As vias metabólicas reflectidas em alguma morfologia (por exemplo, ribossomas, lisossomas, retículo endoplasmático, membranas nucleares, etc.), as quais estão codificadas no genoma nuclear caso sejam perdidas do citoplasma, podem ser substituídas no ambiente adequado pela acção de genes nucleares. Isto nunca pode ser verdadeiro para os organitos que se originaram por simbiose.

(5) Uma vez que qualquer simbiote intracelular deve ter os seus próprios genes, pode ser feita uma correlação entre as características genéticas conferidas ao hospedeiro pelo simbiote e a presença morfológica do

simbionte. Por exemplo, em todos os eucariotas, o número de mitocôndrias e de plastos não será necessariamente metade na meiose e o dobro na fertilização, de modo a estabelecer a sua constância. Assim, eles não revelam necessariamente uma distribuição mendeliana das características de geração em geração. As observações de que, em alguns casos, as mitocôndrias e os plastos são herdados apenas com o gâmeta feminino, em fertilizações anisogaméticas, conduziram às hipóteses iniciais de que estes organitos eram portadores de «hereditariedade citoplasmática». Por conseguinte, em organismos em que as mitocôndrias ou os cloroplastos são herdados uniparentalmente devemos encontrar uma genética não-mendeliana. A transmissão da característica deve estar associada com o parente doador [por exemplo, nos ouriços-do-mar todas as mitocôndrias paternas são encontradas em apenas um blastómero na fase de 32 células (Wilson, 1925, p.713). Em casos excepcionais isto pode aplicar-se também aos homólogos (9+2) (p. ex. a hereditariedade patrilinear do centrossoma, por exemplo em *Culex* (Darlington, 1958, p.174)]. Em geral, é claro, as características genéticas transportadas pelos centrómeros cromossômicos (9+2) irão mostrar estritamente padrões de hereditariedade mendeliana.

(6) Se um organito se originou como uma célula de vida livre, é possível que homólogos que ocorrem naturalmente possam ainda ser encontrados entre os organismos existentes. Mesmo que não possam ser encontrados co-descendentes morfológicos e fisiológicos precisos, ainda existentes, o organito deve ter características genéticas e fisiológicas conhecidas por serem consistentes com aquelas geralmente presentes nas células terrestres.

Pela aplicação dos critérios acima referidos, o núcleo da célula eucariótica não poderia ter sido originado por simbiose. Grande parte da literatura sobre a genética e a citologia de organismos superiores defende a tese de que os genes nucleares controlam as sínteses citoplasmáticas que tornam possível a duplicação do DNA nuclear e o crescimento da célula antes da divisão seguinte (Brachet, 1957). Evidências recentes indicam que um grande número de locais espalhados por muitos cromossomas nucleares controlam a produção do RNA citoplasmático (Prescott, 1964). O núcleo e o citoplasma do sistema eucariótico são claramente parte de um sistema altamente integrado e contínuo. Parece que há poucas provas que podem ser citadas para as suas origens independentes.

Para documentar esta teoria, o resto da discussão é dedicada à origem das células procarióticas destinadas hipoteticamente a tornarem-se organitos de eucariotas, e a apresentar o estado actual dos organitos citoplasmáticos em

termos de critérios gerais para uma origem simbiótica, conforme desenvolvido anteriormente.

3.4. ANAEROBIOSE ANTIGA E FOTOSSÍNTESE MICROBIANA

A atmosfera da Terra, tanto pela ausência de hidrogénio como pela presença de grandes quantidades de oxigénio, é cosmicamente atípica. Embora não haja consenso em relação aos detalhes, astrónomos e geólogos acreditam hoje que a atmosfera terrestre original, que foi posteriormente perdida, era composta principalmente por hidrogénio. Foram feitas diversas tentativas laboratoriais de simulação da origem da vida; uma variedade de moléculas (por exemplo, aminoácidos, pirimidinas, ATP) presentes em organismos contemporâneos pode ser produzida se as condições químicas forem redutoras. No entanto, se as condições forem oxidantes, como o são na actual atmosfera, a produção de compostos orgânicos comuns é extremamente ineficiente. Todas as provas são consistentes com a hipótese amplamente aceite de que a vida surgiu em condições redutoras da atmosfera primitiva (Sagan, 1965b).

A fotossíntese, no sentido da utilização da energia solar na produção de compostos orgânicos, antecede muito provavelmente a origem da própria vida. A elevada capacidade de absorção de luz ultravioleta por parte da maioria dos componentes dos ácidos nucleicos, do ATP e dos aminoácidos e péptidos, pode ter resultado na sua acumulação local há 4-5 mil milhões de anos, na ausência de sistemas de replicação celular sobre os quais a selecção natural podia actuar (Sagan, 1961).

Quando é que a atmosfera se tornou oxidante? Estudos geoquímicos, independentes da especulação biológica, fornecem provas sobre a datação da transição para a atmosfera oxidante. Há 2-3 mil milhões de anos, depositaram-se sedimentos nos escudos canadenses, brasileiros e sul-africanos contendo uraninite (UO_2) que não tinha sido oxidada a pecheblenda, sugerindo a ausência de uma pressão parcial de oxigénio significativa ao tempo da deposição. No entanto, foram encontradas rochas muito antigas oxidadas, com $2,5 \times 10^9$ anos, sugerindo que, nessa altura, o oxigénio livre era suficientemente abundante para oxidar o ferro e formar depósitos de limonite (Rutton, 1962).

Recentemente, Cloud examinou cuidadosamente a literatura e acumulou uma boa quantidade de provas que resolvem as aparentes discrepâncias nos dados. Encontrou microestruturas, indiscutivelmente fósseis, que

considera assemelharem-se bastante aos procariotas extantes (algas azuis e ferrobactérias) em rochas com uma datação de $2,1 \times 10^9$ anos. [Na verdade, microestruturas de fósseis procariotas (p. ex. *Eobacterium isolatum*) foram entretanto identificadas em rochas antigas com $3,1 \times 10^9$ anos (Barghoorn & Schopf, 1966).] Na conclusão da sua revisão, Cloud assinala,

«Em conjunto, as provas provenientes da paleontologia e da estratigrafia indicam, portanto, que a potencialidade para a evolução do oxigénio através da fotossíntese das plantas verdes existia há pelo menos $2,7-2,1 \times 10^9$ anos, e que esse oxigénio atmosférico começou a estar disponível em quantidades relativamente grandes provavelmente há cerca de $1,2 \times 10^9$ anos (uma conclusão alcançada de forma independente por Lepp e Goldich seguindo uma outra linha de raciocínio)» (Cloud, 1965).

(A fotossíntese das «plantas verdes» referida por Cloud inclui a fotossíntese das algas azuis procarióticas; distingue-se da fotossíntese bacteriana, pois no processo ocorre eliminação de oxigénio gasoso.)

A correcta identificação dos fósseis implica a origem do metabolismo fotossintético, o qual utiliza a região visível do espectro, que surgiu em sistemas celulares há 2,1 mil milhões de anos ou até mesmo há $3,1 \times 10^9$ anos. Isto é consistente com os argumentos astronómicos independentes que indicam que os compostos reduzidos pela absorção de UV estavam, provavelmente, na atmosfera contemporânea destas algas fotossintéticas procarióticas (Sagan, 1965b).

Em qualquer caso, a utilização de luz visível na fotossíntese microbiana deve ter evoluído há mais de $1,2 \times 10^9$ anos (altura em que o oxigénio gasoso livre estava claramente presente), pois é provável que, naquele tempo, a luz ultravioleta que penetrava a camada de ozono da alta atmosfera era insuficiente para fornecer a energia necessária à formação de compostos orgânicos que são a base para toda a vida. Mesmo que tenha continuado a produção de nova matéria orgânica, ela teria sido destruída por oxidação. Assim, dentro dos limites destas datas, este esquema para a evolução da fotossíntese celular foi assim reconstruído.

As porfirinas (tetrapirróis conjugados com metais, tais como aqueles encontrados na catalase e na peroxidase) são de ocorrência universal em todas as células existentes, com excepção de alguns anaeróbios obrigatórios (Lascelles, 1964). A sua ubiquidade tem sido relacionada com a sua capacidade de reduzir agentes oxidantes mutagénicos. O oxigénio molecular está continuamente a ser produzido por fotólise da água, na alta atmosfera, e pela libertação de hidrogénio (Urey, 1959). Este oxigénio deve

ter sido letal para os primeiros sistemas auto-replicantes. A fotoprodução atmosférica de oxigénio ao longo das diferentes idades proporcionou, presume-se, pressões selectivas para a retenção destes antigos cistrões envolvidos na síntese de porfirinas anti-mutagénicas. Por hipótese, o facto de estes compostos tetrapirrólicos anti-mutagénicos serem absorvedores fortes de luz visível foi posteriormente usado como vantagem na evolução da fotossíntese microbiana mediada pela clorofila (Sagan, 1961).

A fixação do CO_2 (reações de escuro) na fotossíntese é conhecida por estar presente para a produção de material celular em muitos organismos não-fotossintéticos diferentes (por exemplo, quimiolitotróficos: bactérias capazes de oxidarem hidrogénio gasoso, sulfureto, enxofre, amónio e nitrito). É possível que as mutações que tornaram possível a utilização de porfirinas na fotoprodução celular de ATP tenham ocorrido originalmente em microrganismos que já continham as «reações de escuro» de fixação do CO_2 . Isto pode ter resultado na evolução do mecanismo fotossintético fundamental, fornecendo assim uma nova fonte de ATP produzido pela absorção da luz visível pelas porfirinas. Em alguns organismos, métodos quimiotróficos ou heterotróficos directos de obtenção de ATP foram, supostamente, substituídos por métodos de absorção da luz visível mediada pela clorofila, uma característica de todos os fotossintetizadores microbianos.

A relação da síntese de porfirina com o metabolismo intermediário, isto é, a síntese *via* glutamato, ácido α -cetoglutarico e succinil-CoA, sugere que as porfirinas inicialmente seleccionadas, devido às suas propriedades anti-mutagénicas – por exemplo, na redução do peróxido de hidrogénio – podem ter sido utilizadas numa oxidação mais eficiente dos hidratos de carbono. Os organismos incapazes de formar estas porfirinas acabaram por ficar condenados à eterna anaerobiose obrigatória (Stanier et al., 1963, p.85). Assim, respiradores heterotróficos anaeróbios (microrganismos que oxidam hidratos de carbono na ausência de oxigénio molecular para formar ATP via porfirinas conjugadas com ferro, como os citocromos) poderiam também ter evoluído a partir de sintetizadores primitivos de porfirina.

Em fotossintetizadores anaeróbios procarióticos devem ter ocorrido mutações que tornaram possível o desenvolvimento de organismos capazes de usar átomos de H a partir da (muito mais abundante) água, em vez do (menos abundante) hidrogénio gasoso ou do sulfureto de hidrogénio (por exemplo, o fotossintetizador anaeróbio *Thiorhodacea*) como dadores de electrões para a clorofila. A consequência natural destas mutações foi a eliminação do oxigénio proveniente da água durante o processo de fotossíntese.

O facto de os depósitos de limonite oxidada terem $2,5 \times 10^9$ anos constitui uma prova forte de que ocorreram mutações que favoreceram uma fotossíntese eliminadora de oxigénio em alguns microrganismos autotróficos muito antes daquela data.

3.5. ATMOSFERA OXIGÉNICA E ORIGEM DOS AERÓBIOS

A presença de uma quantidade crescente de oxigénio, produzido pela nova fotossíntese, deve ter sido extremamente deletéria: deixou de haver qualquer síntese inorgânica de compostos orgânicos; os anaeróbios obrigatórios encontraram progressivamente menos nichos; toda a vida se tornou, em última análise, dependente da fotossíntese com luz visível para produzir nucleótidos e hidratos de carbono oxidáveis. Sob tais condições, a constante pressão selectiva deve ter incidido nos microrganismos que toleravam e utilizavam oxigénio. No caso dos respiradores anaeróbios contendo citocromo – células que já tinham genes codificantes para as etapas iniciais das vias respiratórias – foram seleccionados mutantes capazes de transferir átomos de hidrogénio para o oxigénio (em vez de azoto ou sulfato). Isto poderia ter resultado na evolução das vias de ATP envolvendo a oxidação completa da via de produção do hidrato de carbono aeróbio. Tais mutações, que conduziram à degradação aeróbia de hidratos de carbono, ocorreram também, provavelmente, em alguns fotoautotrofos, resultando na evolução dos ancestrais das algas azuis.

Assumir que há $2,1-0,6 \times 10^9$ anos os fotossintetizadores procarióticos libertavam muito mais oxigénio para a atmosfera é consistente com o metabolismo microbiano e as provas geológicas. Em consequência, evoluíram diferentes tipos de microrganismos (incluindo a protomitocôndria e as algas aeróbias procarióticas) com capacidade para lidar com a crescente abundância de oxigénio. O objectivo das longas sequências metabólicas codificadas em genomas microbianos foi, naquele tempo, como continua ainda hoje a sê-lo, a manutenção de um meio altamente redutor necessário à reprodução. Ironicamente, a mudança de condições redutoras para oxidantes, às quais as células microbianas foram forçadas a adaptar-se, tinha sido causada pelas próprias células.

Um facto interessante para a nossa argumentação é que, embora tenham sido encontradas, desde há $3,1 \times 10^9$ anos, formas de microfósseis bastante análogas aos procariotas existentes, a verdade é que não surgem algas eucarióticas em rochas datadas até à alvorada do Paleozóico. As *Dasycladaceae* são conhecidas desde o início do Ordovício, há cerca de $0,4 \times 10^9$ anos, e filamentos de algas, talvez vermelhas ou castanhas (*Epiphyton*), são conhecidos

desde o início do Câmbrico, $0,50-0,55 \times 10^9$ anos (Cloud, 1965, comunicação pessoal).⁷ Assim, os «elos perdidos» entre algas procarióticas e eucarióticas não estão apenas conspicuamente ausentes da flora actual, como também estão ausentes do registo fóssil durante esses 2700 milhões de anos (ou seja, entre $3,1-0,4 \times 10^9$ anos), nos quais as primeiras células procarióticas (Schopf & Barghoorn, comunicação pessoal) e, mais tarde, o oxigénio atmosférico, se sabe terem estado presentes!

Além da prova directa do registo fóssil, há razões biológicas para se considerar a fotossíntese como um processo fundamentalmente anaeróbio que evoluiu em procariotas. As algas azuis bem como os fotossintetizadores bacterianos estão claramente relacionados com outros procariotas.

Todos os fotossintetizadores bacterianos são tipicamente bactérias morfológicamente Gram-negativas. A excepção é *Rhodomicrobium*, bactérias fotossintéticas gemulantes que têm também homólogos não-fotossintéticos procarióticos (*Hyphomicrobium*). Em todos estes fotossintetizadores bacterianos, o processo fotossintético é anaeróbio. É somente no escuro que um fotossintetizador bacteriano se revela aeróbio e respira. Mesmo em algas azuis, o consumo de oxigénio é inibido pela luz (Marsh, Gatmiche & Gibbs, 1964).

As algas azuis têm também homólogos morfológicos não-fotossintéticos entre os procariotas (bactérias deslizantes filamentosas). Algumas destas bactérias, como a *Beggiota*, metabolizam o H_2S para formar enxofre. Estes organismos crescem usando o CO_2 como a sua única fonte de carbono; os átomos de H do H_2S são transferidos para «corrigir» o CO_2 na redução do material celular. Nas algas azuis, os átomos de H de H_2O são transferidos para «corrigir» o CO_2 na redução do material celular com recurso a ATP produzido fotossinteticamente. Assim, estas bactérias deslizantes estão fisiológica e morfológicamente relacionadas com as algas azuis.

O facto de algumas algas azuis metabolizarem juntamente a pentose-fosfato (em vez da *via* Embden-Meyerhof, tão ubíqua em eucariotas contendo mitocôndrias) também reflecte a sua origem e a sua relação com os procariotas (Fewson, Al-Hafidh & Gibbs, 1962). Esta diferença nos primeiros passos do metabolismo dos hidratos de carbono nestes dois grandes grupos de algas eliminadoras de oxigénio indica a sua antiga divergência evolutiva⁸ (Haldane, 1954).

⁷ Nota adicionada na prova: é agora provável que fósseis Australianos (Bitter Springs) Pré-Câmbricos com cerca de $0,8 \times 10^9$ anos contenham algas cocóides eucarióticas primitivas (Schopf & Barghoorn, 1966, comunicação pessoal).

⁸ Este tipo de raciocínio foi pela primeira vez usado por Haldane em 1929. Ele chamou a

A evolução monofilética das algas eucarióticas a partir das algas azuis é de difícil conciliação com muitos outros factos. As algas azuis são procariotas típicos: não têm um núcleo delimitado por uma membrana, não têm mitocôndrias, nem flagelos, nem mitose, nem sexo, não existe simultaneidade de respiração e fotossíntese, e, em geral, têm menor dimensão do que as outras algas. Além disso, nunca foram encontrados organismos intermédios entre as algas azuis e as algas verdes, embora tenham sido exaustivamente procurados.

Para uma revisão abrangente da literatura recente, demonstrando as semelhanças na estrutura celular das bactérias e das algas azuis, ver Echlin & Morris, 1965.

Porque são, então, tão semelhantes os mecanismos fotossintéticos em algas azuis procarióticas e em algas verdes eucariotas? Se os procariotas azuis não foram ancestrais das algas eucarióticas e das plantas superiores, que organismos é que o foram?

Este aparente paradoxo pode ser resolvido pelo reconhecimento da validade da tese apresentada neste artigo, nomeadamente que a evolução da fotossíntese precedeu a evolução da célula eucariótica, milhões de anos antes, e que a fotossíntese eliminadora de oxigénio das plantas verdes – tão característica das algas azuis e dos «clorófitos» – evoluiu em procariotas e, mais tarde, foi adquirida simbioticamente por vários eucariotas.

Esta perspectiva é válida apenas se a evolução da célula eucariótica a partir de um ancestral aeróbio e heterotrófico puder ser compreendida. Que provas temos nós de que as células eucarióticas com mitose evoluíram de um modo monofilético e independente da evolução da fotossíntese? Qual é o fundamento para a alegação de que as mitocôndrias e os homólogos (9+2) tiveram origem como endossimbiontes, e que a nossa hipótese sobre a evolução da célula eucariótica está, pelo menos no essencial, correcta?

3.6. A REPRODUÇÃO DA MITOCÔNDRIA

Um grande número de estudos recentes, revistos cuidadosamente por Gibor & Granick, apresentaram um testemunho inexorável para o seguinte: as mitocôndrias contêm DNA e RNA específicos; elas são corpos auto-

atenção para a uniformidade dos primeiros passos no metabolismo anaeróbio e para a diversidade dos passos posteriores que utilizam – ou evitam – oxigénio molecular para indicar a idade mais avançada dos processos anaeróbios. A partir daqui, ele deduziu algo da natureza da atmosfera redutora – na ausência de simulações experimentais em laboratório e dos dados geológicos que estão disponíveis hoje!

-replicantes que não surgem *de novo*; o sistema multigénico do organito é responsável, em parte, pelas propriedades bioquímicas do organito; e o desenvolvimento mitocondrial (em células de levedura, pelo menos) é controlado por um mecanismo adaptativo que é sensível ao oxigénio. Têm surgido alguns estudos que mostram que as mitocôndrias são capazes de uma incorporação limitada de aminoácidos em proteínas e que contêm também os seus próprios mecanismos de síntese de proteínas. Para uma descrição detalhada e uma bibliografia pertinente sobre este assunto, veja-se esta excelente revisão (Gibor & Granick, 1964). É indiscutível que as mitocôndrias têm fontes de ATP e de pequenas moléculas. Não é ainda claro se as membranas mitocondriais são codificadas por genes mitocondriais. Em qualquer dos casos, as mitocôndrias satisfazem o primeiro critério das células que tiveram origem em endossimbiontes, conforme discutido anteriormente (secção 3.3).

Em 1927, Wallin argumentou que as mitocôndrias tiveram origem como endossimbiontes das células superiores. O seu argumento teve por base o tamanho, a forma, as propriedades de coloração e o comportamento citológico geral dos organitos que o autor alegou serem comparáveis às bactérias. É claro que, naquela época, ele só podia ter uma pequena ideia sobre a sua fisiologia. A prova mais convincente para a autonomia mitocondrial, ao nível genético, envolveu estudos sobre a sua continuidade. Estas observações, revistas por Wilson, em 1925, indicaram que as mitocôndrias estão invariavelmente no interior dos espermatozóides e que estão, em geral, presentes em todas as fases do ciclo de vida das células eucarióticas. Alguns dos mecanismos pelos quais as mitocôndrias são mantidas nas células-filha durante a divisão celular estão listados na Tabela 3. A discussão completa surge na literatura clássica (Wilson, 1925).

Recentemente, a ausência de mitocôndrias visíveis no citoplasma de leveduras anaeróbias (o que pode ser observado através do microscópio electrónico) foi novamente considerada uma prova para a falta de continuidade genética do organito. Uma vez que, sabemos agora, a replicação fundamental ocorre ao nível molecular, uma prova experimental conclusiva para o contrário poderia ser a simples demonstração de que essa «banda satélite do DNA» da levedura (por exemplo, o DNA mitocondrial) está ainda presente em organismos que não possuem mitocôndrias visíveis, mas que mantêm o potencial para formá-las.

As entradas na Tabela 3 podem ser interpretadas como mecanismos que garantem que cada célula-filha do hospedeiro recebe pelo menos uma cópia do genoma simbionte em cada divisão. Na formação de espermatozóides, as

Tabela 3*Mecanismos citológicos para a retenção de organitos ao longo do ciclo de vida*

Organismo	Mecanismo
A. Mitocôndrias	
Muitas células animais e vegetais; divisão das células germinativas de vertebrados; estádios de clivagem	Muitas mitocôndrias distribuídas aleatoriamente por toda a célula (Wilson, 1925, p.712)
Espermatócitos de alguns escorpiões, como <i>Opisthancanthus</i> , <i>Hadrurus</i> , etc.	Espermatócitos primários: mitocôndrias pequenas e numerosas unem-se para formar 24 esferóides Espermatócitos secundários: são segregados 12 esferóides para cada célula-filha Espermatídeos: seis esferóides são segregados para cada pólo; assim, seis esferóides mitocondriais estão presentes em cada célula espermática (Wilson, 1925, p.163)
Espermatócitos de escorpião, como <i>Centrurus</i>	Espermatócitos primários: mitocôndrias agregadas num corpo em forma de anel, orientadas no fuso, a divisão celular corta transversalmente em dois meios anéis; cada meio anel forma uma haste. Espermatócito secundário: cada haste é transportada no fuso e cortada pela divisão celular em meia haste (Wilson, 1925, p.365)
Espermatócitos de vermes, como <i>Ascaris</i>	Mitocôndrias estão orientadas no fuso em direção aos centríolos. Não se dividem, mas são segregadas para as células-filha em virtude da sua orientação (Wilson, 1925, p.163)
Alguns insectos, como <i>Hydrometra</i>	Hastes alongadas de mitocôndrias estão orientadas no fuso; algumas destas hastes mitocondriais são cortadas pelo equador celular (Wilson, 1925, p.164)
Alguns ciliados	Divisões mitocondriais de numerosas mitocôndrias em sincronia com a divisão nuclear (Wilson, 1925, p.13)
Vicia, um feijoeiro	Dois grupos de mitocôndrias orientados para pólos opostos na divisão (Wilson, 1925, p.163)
<i>Micromonas</i> , um flagelado fotosintético	Uma mitocôndria divide-se sincronicamente com o núcleo (Gilbor & Granick, 1964)

Tabela 3 (cont.)

Mecanismos citológicos para a retenção de organitos ao longo do ciclo de vida

Organismo	Mecanismo
B. Cloroplastos	
Diatomáceas	Número pequeno e constante, distribuído uniformemente na mitose (Darlington, 1958)
<i>Micromonas</i> , um flagelado fotossintético	Divide-se um cloroplasto (Gibor & Granick, 1964) em sincronia com o núcleo
<i>Chlamydomonas</i> , um flagelado fotossintético	Um cloroplasto grande cortado pelo plano de clivagem (Gibor & Granick, 1964)
A maioria das plantas superiores	Muitos cloroplastos distribuídos aleatoriamente na mitose (Wilson, 1925, p.162)

mitocôndrias são muitas vezes acondicionadas em torno da fibra axial, um homólogo (9+2), garantindo também a continuidade do organito através da fertilização (Wilson, 1925, p.373) (critério (2), secção 3.3).

As mitocôndrias preenchem outros requisitos para organitos que tiveram origem em simbiontes? Parece não haver nenhum organismo actual que não possua mitocôndrias e que contenha outras características de eucariotas. Tal se deve, provavelmente, ao facto de a simbiose mitocondrial ser tão antiga que ela é obrigatória em todos os eucariotas: a perda total do organito é uma situação invariavelmente letal (critério (3), secção 3.3). No entanto, também não existem organismos nucleados ou contendo plastos que contenham enzimas mitocondriais «desempacotadas» (critério (4), secção 3.3).

São bem conhecidos exemplos de hereditariedade citoplasmática mitocondrial (Gibor & Granick, 1964; Jinks, 1964) (critério (5), secção 3.3). Muitas bactérias aeróbias fornecem homólogos de vida livre à protomitocôndria, uma vez que o metabolismo aeróbio da glucose mediado pelo citocromo é bem conhecido entre bactérias (critério (6), secção 3.3).

Independentemente da história, devem ter ocorrido milhares de mutações na evolução das mitocôndrias (ou seja, cerca de 100 enzimas x 100 aminoácidos por enzima x 3 pares de nucleótidos por aminoácido $\approx 3 \times 10^4$ pares de nucleótidos). A evolução do cloroplasto numa célula aeróbia contendo

mitocôndrias e, por conseguinte, na evolução da fotossíntese em plantas verdes de um modo precisamente análogo ao das cianobactérias é, pois, altamente improvável. Uma tal origem monofilética dos cloroplastos exigiria milhares de outras mutações altamente específicas para a fotossíntese evoluir. A ausência de dados fósseis e de organismos intermediários actuais na evolução deste «fitoflagelado primitivo» torna improvável que a fotossíntese aeróbia na presença de plastos tenha ela mesma evoluído numa célula contendo mitocôndrias. Uma vez que apresentámos já provas de que a fotossíntese é fundamentalmente um processo anaeróbio que evoluiu em procariotas (secção 3.5), isto é especialmente improvável.

Por outro lado, se a evolução das mitocôndrias acompanhou a evolução dos plastos, não há nenhuma razão óbvia para considerar que os eucariotas fotossintéticos devam mostrar uma notável uniformidade ao nível da estrutura mitocondrial e do metabolismo. Organismos contendo plastos com padrões metabólicos de hidratos de carbono alternativos devem ter evoluído, especialmente porque se sabe que tais vias alternativas estão presentes em algas azuis.

3.7. A REPRODUÇÃO DE HOMÓLOGOS (9+2) E A SUA RELAÇÃO COM O NÚCLEO

«... que um dualismo fundamental existe no fenómeno da mitose, a origem e a transformação da figura acromática sendo em grande medida independente das que ocorrem nos elementos cromáticos. A mitose consiste, de facto, em duas séries de eventos estreitamente correlacionadas, mas separáveis» (Wilson, 1925).

A homologia da «figura acromática» (ou seja, aparelho mitótico, corpos basais, centríolos, etc.) e a sua relativa independência da cromatina nuclear está na base dos argumentos acima referidos, os quais resumem os resultados de cerca de 40 anos de observações citológicas, talvez pelos melhores biólogos da época (c.1885-1925).

A citogenética clássica e o mais recente trabalho experimental envolvendo técnicas modernas têm confirmado e alargado as observações dos primeiros autores. Especialmente relevantes são os cuidadosos estudos de Cleveland que desassocia experimentalmente a replicação cromossómica e a divisão celular.

«Concentrações de oxigénio de 70%-80% destroem todos os cromossomas do hipermastigota flagelado, *Trichonympha*, desde que o tratamento com

oxigénio seja realizado durante as fases iniciais da gametogénese, justamente quando os cromossomas estão em processo de auto-duplicação. Após a perda dos cromossomas, este tratamento não causa nenhum dano ao citoplasma nem aos seus organitos. Os centríolos estão envolvidos na produção da figura acromática (por exemplo, o aparelho mitótico), dos flagelos e dos corpos parabasais. Em seguida, o citoplasma divide-se, produzindo assim dois gâmetas anucleados que realizam alguns progressos na diferenciação citoplasmática característica de gâmetas masculinos e femininos normais de *Trichonympha*» (Cleveland, 1956).

Por outro lado, as observações de Cleveland sobre a célula binucleada com 5 centríolos mostraram que «... sem centríolos nenhuma figura acromática é formada, não há nenhum movimento polar dos cromossomas para formar o núcleo-filho. Os cromossomas reproduzem-se, mas o núcleo não. No entanto, dois ou mais centríolos devem estar presentes e devem estar razoavelmente perto do núcleo, caso o núcleo esteja a reproduzir-se» (Cleveland, 1963). Quando surgir uma oportunidade nestas células multicentríoladas, os cromossomas irão mover-se ao longo de outro que não o fuso central.

A diferença fundamental entre a mitose eucariótica e a distribuição equitativa de genes na divisão celular procariótica é a quantidade total de DNA que pode ser distribuído pelas células-filhas. Se o DNA celular recém sintetizado pudesse ser anexado a algum corpo intracelular auto-replicante, que no momento da divisão do hospedeiro fosse segregado a partir das *suas* irmãs, poderia então resultar um mecanismo para a distribuição uniforme do material genético. Este mecanismo, funcionando de forma completamente independente das «mensagens» transportadas pelo DNA do hospedeiro, iria simplesmente assegurar a segregação do recém sintetizado DNA do hospedeiro associado a um corpo intracelular auto-replicante. Em tal cenário, não é necessário explicar como o corpo intracelular de auto-replicação se diferencia a partir do núcleo *antes* de ter sido seleccionado como um centro de divisão. A hipótese alternativa em que um endossimbionte replicante pré-existente, o corpo basal do flagelo, foi utilizado com um novo papel, é coerente com a ideia tradicional de que a evolução é oportunista e não providente. O papel da segregação da cromatina do hospedeiro é reconhecidamente uma função do centrómero; células às quais lhes faltam os centrómeros simplesmente não chegam aos pólos do fuso mitótico para serem incorporadas nos núcleos das filhas, e os cromossomas procedem sempre para os pólos como centrómero. Os cromossomas podem conter dois cen-

trómeros que migram para pólos opostos da célula em divisão; muitas vezes, quando estes cromossomas dicêntricos se quebram, cada fragmento associado ao seu centrómero é incorporado na célula-filha resultante.

A função do aparelho basal flagelar na mitose e o seu uso na distribuição de organitos celulares foi amplamente reconhecida na literatura citológica clássica (Tabela 3). Um exemplo notável pode ser encontrado em *Trypanoplasma* (Belar, 1915). A divisão do blefaroplasto na base do flagelo – designado por *blephoplasteilung* – é tão evidente como a divisão nuclear, formando um aparente segundo «aparelho mitótico» relacionado com os flagelos [por exemplo, Fig.2. V (d); [critério (2), secção 3.3].

Em *Leishmania*, o cinetoplasto associado ao aparelho flagelar, por exemplo, é positivo no teste de Fuelgen e sabe-se que se divide. Têm sido apresentadas provas muito claras para uma banda satélite de DNA especializado associada ao organito (Du Buy, Morandi & Riley, 1964), consistente com as provas de que o organito incorpora timidina no DNA (Gibor & Granick, 1964). A microscopia electrónica indica que o cinetoplasto contém uma única mitocôndria que se diferencia durante a parte do ciclo de vida em que é necessário um metabolismo oxidativo. É possível que uma associação especializada entre o homólogo (9+2) e uma mitocôndria tenha evoluído para garantir a distribuição da mitocôndria pelas células-filhas de forma análoga à distribuição dos genomas nucleares das filhas. A homologia do DNA do cinetoplasto pode ser determinada por experiências de hibridização com DNA mitocondrial e flagelar.

A homologia do centríolo e do corpo basal flagelar, sugerida pela primeira vez em 1898 (Wilson, 1925, p.697), é agora amplamente aceite, especialmente porque a sua estrutura (revelada pelo microscópio electrónico) tem vindo a ser esclarecida (Sleigh, 1962). As excelentes provas da «autonomia genética» destes organitos (9+2) auto-replicantes citoplasmáticos têm sido revistas (Jinks, 1964). Existem, na literatura, informações sobre as perdas irreversíveis de homólogos (9+2) (Lederberg, 1952; Jinks, 1964) (critério (4), secção 3.3). Alguns estudos têm sugerido a existência de DNA do homólogo (9+2) específico que presumivelmente codifica para proteínas características (Seaman, 1960), mas tal não foi definitivamente demonstrado (Hoffman, 1965) (critério (1), secção 3.3). Não se conhecem organismos intermediários entre aqueles que contêm o complexo (9+2) dos flagelos e os flagelos simples eubacterianos (critério (3), secção 3.3). Portanto, a origem dos homólogos (9+2) como endossimbiontes não é inconsistente com as provas; mas o argumento de que estes homólogos são

de origem exógena e surgiram no interior da célula (isto é, não se originaram como epissomas) deve ser fundamentado.

Por várias razões, as espiroquetas, ou organismos semelhantes às espiroquetas, têm sido sugeridas como prováveis candidatos a homólogos de vida livre do endossimbionte (9+2) móvel, que mais tarde se diferenciou em flagelo, centríolos e centrómeros cromossômicos. Conhecem-se espiroquetas associadas a protozoários; por exemplo, em *Dienympha* e *Pyronympha* (animais eucarióticos flagelados presentes em insectos), a família (Dienymphida) a que pertencem tem sido caracterizada com a seguinte descrição: «... flagelados alongados, os quatro ou oito flagelos anteriores aderentes ao corpo e dispostos em espiral, livres nas suas extremidades distais. Muitas vezes estão cercados com espiroquetas, as quais têm sido confundidas com flagelos adicionais; a família tem sido inserida erradamente na ordem *Hypermastigina*» (Copeland, 1956, p.166). O mesmo é verdadeiro para outra família de flagelados eucarióticos, a Devescovinida: «Espiróquetas que partilham o habitat destes organismos são vulgarmente encontradas ligadas às suas membranas celulares e foram confundidas com flagelos adicionais nas descrições originais de alguns dos géneros» (Copeland, 1956, p.167).⁹

As espiroquetas têm aproximadamente o mesmo tamanho dos flagelos, e são feitas de cordões de subunidades (Stanier et al., 1963, p.158) que variam em número, dependendo da espécie. São geralmente encontradas em ambientes microaerofílicos; são sempre móveis; a sua motilidade é sensível ao ATP; e, sendo flagelos, dividem-se longitudinalmente. Na verdade, seria mais interessante se a ATPase flagelar, outras proteínas características (Gibbons, 1963) e a subestrutura (9+2) pudessem ser identificadas com as proteínas e a fibra axial de algumas espiroquetas de vida livre (critério (6), secção 3.3).

Se o corpo basal flagelar se libertou do genoma do hospedeiro com o propósito de distribuir o DNA nuclear, é provável que a saída dos episomas tenha ocorrido em muitas linhas diferentes de microrganismos e que nem todos os exemplos existentes sejam homólogos. Não há nenhuma vantagem selectiva imediata para a fuga de uma parte do ácido nucleico do hospedeiro. Se for epissomal na origem, poderíamos esperar exemplos de organitos que lizavam o hospedeiro para a sua própria replicação contínua.

⁹ Nota adicionada na prova: Estudos recentes com *myxotrix* [sic] *paradoxa* indicam que espiroquetas simbióticas na superfície destas células são responsáveis pelos movimentos do hospedeiro! Além disso estes flagelados têm tipicamente pelo menos três tipos diferentes de procariotas simbióticas a eles associados. (Grimstone, A. V. & Cleveland, L. R. *Proc. R. Soc. Lon.* 159, 668, 1964.)

Se os centríolos homólogos (9+2) tivessem uma origem externa e tivessem sido selecionados, porque distribuem o DNA celular eficazmente, eles não devem estar necessariamente relacionados com os flagelos. Se escaparam do núcleo, estes homólogos (9+2) devem ser mais sensíveis aos tratamentos que afectam o núcleo do que em relação àqueles tratamentos que estão relacionados com a destruição dos flagelos. Na realidade, o oposto é verdade (Weinrich, 1954, p.135; Yow, 1961).

3.8. A REPRODUÇÃO DO CLOROPLASTO

Talvez por ser a menos antiga das simbioses, a origem exógena do plasto fotossintético é a mais fácil de defender (Ris & Plaut, 1962; Echlin, 1966). Foi encontrado DNA cloroplastidial em diversos eucariotas fotossintéticos. [Em *Euglena*, foi recentemente apresentada prova auto-radiográfica directa para DNA nuclear e plastidial. O DNA *in situ* tem sido correlacionado com a presença de uma banda principal marcada (nuclear) e uma banda satélite (cloroplasto) de DNA num gradiente de densidade de cloreto de cério (Sagan, Ben Shaul, Schiff e Epstein, 1965).] Esta banda de DNA satélite está totalmente ausente em células permanentemente «estioladas», aquelas que não possuem, de forma permanente, o potencial para a formação do cloroplasto (Leff, Mandel, Epstein & Schiff, 1963) (critério (4), secção 3.3). O desaparecimento da «banda satélite» de DNA tem sido correlacionado com o tratamento ultravioleta que «cura» definitivamente a *Euglena* dos seus cloroplastos (Edelman, Epstein & Schiff, 1964; Edelman, Schiff & Epstein, 1965).

Têm sido identificadas, também para os cloroplastos, outras características relativas a uma origem endossimbiótica: RNA específico do cloroplasto complementar do DNA cloroplastidial (Eisenstadt & Braverman, 1963); ribossomas (Lyttleton, 1962) e RNA ribossomal do cloroplasto; prova da síntese de RNA dependente de DNA; e a captação de aminoácidos radioactivos em cloroplastos isolados (Gibor & Granick, 1964).

Ao resumirem quer as observações clássicas sobre a replicação dos cloroplastos quer os estudos recentes sobre a bioquímica do organito, Gibor e Granick fornecem provas convincentes de que: os plastos (bem como as mitocôndrias) contêm DNA e RNA; são corpos auto-duplicantes que não se formam *de novo*; o DNA representa um sistema hereditário multigénico que não deriva do núcleo e é, em parte, responsável pelas propriedades bioquímicas do organito; e que a diferenciação do cloroplasto maduro a partir do

proplasto é um sistema adaptativo sensível à luz visível (critério (1), secção 3.3).

A Tabela 3 contém, de um modo resumido, alguns mecanismos que asseguram a distribuição de pelo menos uma cópia do plasto a cada célula-filha do hospedeiro durante todo o ciclo de vida das plantas (critério (2), secção 3.3).

São bem conhecidos exemplos de organismos que não possuem plastos, mas que são claramente homólogos das células que contêm plastos (por ex. *Astasia*, *Polytoma*, etc.). As próprias algas azuis podem ser consideradas procariontes de vida livre homólogos dos plastos (critério (6), secção 3.3). Apesar de serem procurados, nunca foram encontrados nem fósseis nem exemplares vivos de organismos intermédios entre as algas azuis sem plastos e os eucariotas contendo plastos (critério (3), secção 3.3).

A «hereditariedade citoplasmática» foi inicialmente descoberta nos casos de hereditariedade uniparental do cloroplasto. A literatura a este respeito é bem conhecida (Jinks, 1964; Granick, 1962) (critério (5), secção 3.3). A caracterização do fenómeno, conhecido geralmente como «hereditariedade citoplasmática», baseia-se na hereditariedade de genes não-cromossómicos (e, portanto, não-mendelianos). A explicação lógica dos sistemas genéticos não-mendelianos citoplasmáticos baseia-se na transmissão de genes de células outrora de vida livre, que, entretanto, se tornaram organitos, ou seja, uma endossimbiose hereditária (Lederberg, 1952).

Aparentemente, o tamanho parece ser também uma prova circunstancial de relevo da origem endossimbiótica destes organitos. Sabemos agora que a replicação ocorre estritamente ao nível molecular; o flagelo em si tem o tamanho (e a forma) de um respeitável procariota, assim como as mitocôndrias e os plastos. A auto-replicação de tais organitos envolve naturalmente a síntese de todos os componentes não-ácidos nucleicos que concorrem para a sua perpetuação. A probabilidade de corpos de tamanho tão grande (de um ponto de vista molecular) terem formado sistemas multigénicos no citoplasma é extremamente baixa. A explicação de que «... certas mutações poderiam ocorrer de forma independente em cada unidade de DNA organelar e estas mutações poderiam ser mantidas até que, quando ocorressem mudanças ambientais drásticas, houvesse uma selecção dos organitos mais adequados. Assim, um número múltiplo de organitos mutados por célula poderia proporcionar uma mudança evolutiva mais rápida» (Gibor & Granick, 1964) é manifestamente lamarckiana. Estas foram, no entanto, as razões dadas por Gibor & Granick para o grande número de resultados

experimentais notavelmente consistentes, implicando a continuidade genética das mitocôndrias e dos plastos.

4. Algumas notas preditivas

É provável que as classificações apresentadas na árvore filogenética (Fig. 1) contenham erros na medida em que a autora não conhece em primeira mão a maioria dos organismos. Também é verdade que os flagelos e os cloroplastos podem ser secundariamente perdidos. No entanto, se a teoria apresentada neste artigo estiver correcta, todos os eucariotas devem ser classificados completa, correcta e consistentemente de acordo com a sua posição na origem da mitose. O facto empírico de que o anexo flagelar tem provado ser um critério taxonómico fiável é consistente com este ponto de vista.

De um modo análogo à relação quantitativa entre DNA e ploidia, o DNA satélite especificamente correlacionado com os vários organitos pode ser encontrado nas células na proporção directa ao número de organitos presentes nessas mesmas células. A nenhuma célula eucariótica contendo corpos basais flagelares, cílios, centríolos, centrómeros ou qualquer outro dos homólogos, pode faltar DNA específico do homólogo (9+2). É provável que este DNA não tenha sido detectado porque tem muito pouca responsabilidade metabólica e precisa apenas de estar a alguns cistrões de distância para codificar as suas poucas proteínas específicas. Porém, a identificação de DNA específico do homólogo (9+2) e uma caracterização completa do seu RNA e das suas limitadas funções bioquímicas devem eventualmente ser possíveis. Isto é verdade também para o DNA mitocondrial e plastidial.

Se estes organitos se originaram, de facto, como microrganismos de vida livre, a nossa tecnologia avançada deverá permitir-nos fornecer todos os factores de crescimento necessários à replicação *in vivo* dos três – o *coup de grace* para a autonomia genética.

É provável que as vias bioquímicas inteiramente exclusivas dos eucariotas (p. ex., síntese de esteróides) tenham os seus componentes codificados em mais do que um genoma organelar. [Por exemplo, é possível que a via bioquímica do esqualeno na síntese de esteróides esteja sob controlo nuclear, e que os membros posteriores da cadeia biossintética – aqueles que reconhecidamente estão fortemente ligados, na célula, a elementos na forma de partículas – estejam sob o controlo do genoma mitocondrial (Block, 1965).] Os componentes das vias metabólicas no metabolismo das plantas – análogo à síntese de amido em *Pelaiina* (Lederberg, 1952) (secção 3.2), por exemplo

– podem eventualmente ser entendidos em termos de «complementação», por exemplo, sínteses tornadas possíveis pela presença, na célula, de pelo menos dois genomas – do hospedeiro e do plasto.

De acordo com a hipótese, os seguintes organismos devem ter evoluído: um homólogo do complexo flagelar de vida livre; um homólogo da mitocôndria de vida livre; e um procariota heterotrófico capaz de ingerir células. Células de vida livre co-descendentes com os organitos eucarióticos podem conter ainda cistrões homólogos aos dos cloroplastos, das mitocôndrias e dos homólogos (9+2). Por exemplo, podemos um dia encontrar diferentes tipos de algas azuis que são co-descendentes com os plastos típicos de crisofíceas e rodofíceas, que contêm DNA com cistrões homólogos aos dos plastos.

Se a teoria estiver correcta, todas as células eucarióticas devem ser vistas como sistemas multigenómicos. Isto implica que um dos objectivos da química celular consiste em compreender o caminho pelo qual todas as reacções bioquímicas são codificadas fora do ácido nucleico do núcleo e dos organitos subcelulares. Todos os eucariotas devem conter pelo menos três tipos específicos de DNA: nuclear, mitocondrial e homólogo (9+2). Um DNA adicional, que está associado com os cloroplastos, deve encontrar-se em todas as plantas eucarióticas. Os plastos de organismos que partilham características metabólicas fotossintéticas similares (por exemplo, dinoflagelados, algas castanhas e diatomáceas; algas vermelhas e azuis) devem ter ácidos nucleicos homólogos específicos dos plastos. Ao mesmo tempo, os organismos que demonstrem «homologias do hospedeiro» (por exemplo, dinoflagelados não-pigmentados e pigmentados, *Schizogoniaceae* e *Porphyra*) devem compartilhar DNA homólogo nuclear e não necessariamente plastidial. Esta situação é muito parecida com a presença de duas bandas distintas de DNA, de tamanho quase idêntico, observadas nos gradientes de densidade de CsCl em DNA isolado de *Paramecium bursaria* (Sagan, L., 1964, dados não publicados). Nesta experiência, a maior banda de DNA correspondia a um rácio de bases de G+C = 29%, muito característico dos ciliados (Schildkraut, Mandel, Levisohn, Smith Sonneborn & Marmur, 1962). A menor banda correspondia a 60% de G+C, característico de clorelas, e deve-se provavelmente à presença do endossimbionte zooclorelar fotossintético (Sueoka, 1961). A abundância relativa da banda de clorela em relação à nuclear talvez seja indicativa de que a simbiose é bastante recente. Consistentes com outros dados, é possível que, quando a nossa tecnologia for mais avançada, a relação quantitativa entre a quantidade de «banda principal» e de «banda de satélite» de DNA no gradiente de CsCl indique directamente

as quantidades relativas de responsabilidade metabólica relegada para o genoma nuclear (banda principal) e, conseqüentemente, a idade da simbiose em geral. Quando conhecermos as vias metabólicas precisas e a sua base genética, seremos capazes de calcular directamente o número de gerações que passaram desde que cada organismo evoluiu a partir de um ancestral comum – a partir do número de sítios mutacionais em que eles diferem.

Algumas pesquisas vão continuar a ser fúteis: por exemplo, tentar encontrar eumitose em todos os eucariotas (se for encontrada, ela será claramente análoga, em vez de homóloga, à eumitose em eucariotas superiores, conforme relatórios sobre a sexualidade em *Noctiluca*, um dinoflagelado); «elos perdidos» na origem do fitoflagelado ancestral, tais como organismos que contêm cloroplastos, mas sem mitocôndrias; organismos eumitóticos com flagelos bacterianos, ou fósseis eumitóticos com datação dos tempos anaeróbios.

A base citológica de grande parte da «hereditariedade citoplasmática» estará provavelmente relacionada com as mitocôndrias, os homólogos (9+2), os plastos, ou outros organitos citoplasmáticos geralmente muito menos distribuídos (por exemplo, *Kappa* em *Paramecium aurelia*). Por exemplo, a hereditariedade do gene sr-500 em *Chlamydomonas* com o tipo de acasalamento «mais» (mt+) sugere que deve ser procurada uma hereditariedade uniparental correlacionada do DNA específico do cloroplasto (Sager & Tsubo, 1961).

Tal como no passado, tentativas futuras de relacionar directamente as várias classes de algas umas com as outras serão inúteis. Por exemplo, o ancestral da alga relativamente recente e isolada *Bacilliaracea* (diatomácea), pode ser procurado, de forma mais eficaz, entre os metazoários primitivos do que nos crisófitos ou dinoflagelados. Provavelmente nunca existiu um organismo flagelado simples com pigmentos característicos de rodófitos. Provavelmente também nunca terá existido um ancestral flagelado para os verdadeiros fungos e amibas pré-mitóticas.

O alcance dos rácios de bases do DNA em plantas e animais é bastante limitada em comparação com a dos procariotas (Sueoka, 1961).

«... O início do Câmbrio (há $0,6 \times 10^9$ anos) é marcado, segundo os sedimentos marinhos espalhados por todo o mundo, pelo aparecimento de vida animal abundante. ... Este aparecimento súbito de diversas guarnições de animais tem sido o enigma mais intrigante da paleontologia» (Fischer, 1965).

A evolução da mitose num ancestral amiboflagelado heterotrófico, que tornou possível o aparecimento de padrões genéticos mendelianos e a organização biológica ao nível tecidual e orgânico, está presumivelmente na

base das seguintes observações: a pequena variação no rácio de bases do DNA em todas as plantas e animais e a profusão de novas formas de vida, marcando assim a alvorada do registo fóssil.

A autora tem o prazer de reconhecer o apoio, o incentivo e a crítica dos Doutores J. William Schopf e M. Ptashne e dos Professores J. D. Bernal, E. Barghoorn, C. Sagan, Y. Ben-Shaul, A. O. Klein, T. N. Margulis, D. Hawkins, P. Morrison, P. E. Cloud e, especialmente, do Professor R. A. Lewin. Está imensamente grata à Senhora Williams e ao Senhor George Cope pela assistência editorial e de produção.

REFERÊNCIAS

- Abelson, P. (1963), *J. Wash. Acad. Sci.* **53**, 105.
- Barghoorn, E.S. & Schopf, J.W.M. (1966), *Science*, N.Y. **150**, 758.
- Belar, K. (1915), *Arch. Protistenk.* **36**, 24.
- Bernal, J.D. (1957), The Problem of Stages in Biopoesis in «The Origin of Life on the Earth», Symposium of the International Union of Biochemistry, Moscow. New York: Macmillan.
- Block, K. (1965), *Science*, N.Y. **150**, 19.
- Brachet, J. (1957), *Biochemical Cytology*. New York: Academic Press.
- Buchner, P. (1930), *Tier und Pflanze in Symbiose*. Berlin: Borntraeger.
- Buchner, P. (1953), *Endosymbiose der Tier mit Pflanzlichen Microorganisms*. Basil & Stuttgart: Birkhauser.
- Calkins, G.N. (1909), *Protozoology*, p.31. New York & Philadelphia: Lea & Febiger.
- Cleveland, L.B. (1956), *J. Protozool.* **3**, 78.
- Cleveland, L.B. (1963), Function of Flagellate and Other Centrioles in Cell Reproduction in «The Cell in Mitosis» (L. Levine, ed.). New York: Academic Press.
- Cloud, P.E., JR. (1965), *Science*, N. Y.: **148**, 27.
- Copeland, H.F. (1956), *The Classification of the Lower Organisms*. Palo Alto, California: Pacific Books.
- Cronquist, A. (1960), *Bot. Rev.* **26**, 425.
- Darlington, C.D. (1958), *The Evolution of Genetic Systems*. New York: Basic Books, Inc.
- Dillon, L.S. (1962), *Evolution*, **16**, 102.
- Doflein, F. & Reichenow, E. (1929), *Lehrbuch der Protozoenkunde: eine Darstellung der Naturgeschichte der Protozoen mit besonderer Berücksichtigung der parasitischen und pathogenen Formen*. Jena: Fischer.
- Dougherty, E. & Allen, M.B. (1960), Is Pigmentation a Clue to Protistan

- Phylogeny? in «Comparative Biochemistry of Photoreaction Systems». New York: Academic Press.
- Dubuy, H., Mattern, C.F.T. & Riley, F. (1964), *J. Cell Biol.* **23**, 26A.
- Echlin, P. & Morris, I. (1965), *Biol. Rev.* **40**, 193.
- Edelman, M., Epstein, H.T. & Schiff, J.A. (1964), *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **52**, 1214.
- Edelman, M., Schiff, J. & Epstein, H.T. (1965), *J. Mol. Biol.* **11**, 769.
- Eisenstadt, J. & Braverman, G. (1963), *Biochem. Biophys. Acts*, **26**, 319.
- Fewson, C.A., Al-Hafidh, M. & Gibbs, M. (1962), *Pl. Physiol.* **37**, 402.
- Fischer, A.G. (1965), *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **53**, 1205.
- Fritsch, F.E. (1935), *The Structure and Reproduction of the Algae*, Vol. 1. London & New York: Cambridge University Press.
- Gabriel, M. (1960), *Am. Nat.* **94**, 257.
- Gibbons, I.R. (1963), *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **50**, 1002.
- Gibor, A. & Granick, S. (1964), *Science*, N.Y. **145**, 890.
- Goldschmidt, R. (1907), *Archiv Protistenk.* **8**, 84.
- Goldschmidt, R. & Popoff, M. (1907), *Archiv Protistenk.* **8**, 321.
- Granick, S. (1962), *The Chloroplasts: Inheritance, Structure and Function in «The Cell»*, Vol. II (J. Brachet & A. Mirsky, eds.). New York: Academic Press.
- Haldane, J.B.S. (1954), *The Origins of Life in «New Biology*, No. 16» (M. L. Johnson, M. Abercrombie & G.E. Fogg, eds.). London: Penguin Books.
- Hartmann, M. (1921), *Archiv Protistenk.* **43**, 223.
- Hoffman, E.J. (1965), *J. Cell Biol.* **25**, 217.
- Jinks, J.L. (1964), *Extrachromosomal Inheritance*. Englewood Cliffs, N.J.: Prentice-Hall.
- Karakashian, S.J. (1963), *Physiol. Zool.* **36**, 52.
- Lascelles, J. (1964), *Tetrapyrrole Biosynthesis and its Regulations*, p.17. New York: W. A. Benjamin.
- Lederberg, J. (1952), *Physiol. Rev.* **32**, 403.
- Leff, J., Mandel, M., Epstein, H.T. & Schiff, J.A. (1963), *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **13**, 126.
- Lyman, H., Epstein, H.T. & Schiff, J.A. (1961), *Biochim. Biophys. Acta*, **50**, 301.
- Lytleton, J.W. (1962), *Expl. Cell Res.* **26**, 312.
- Marsh, H.V., Galmiche, J.M. & Gibbs, M. (1964), *Rec. Chem. Prog.* **25**, 260.
- Merechowsky, M. (1910) & Minchin, E.A. (1915), in «*The Cell in Development and Heredity*», by E.B. Wilson (1925). New York: Macmillan.
- Minchin, E.A. (1912), *An Introduction to the Study of the Protozoa*, p.113. London: Edward Arnold.
- Picken, L. (1962), *The Organization of Cells and Other Organisms*, p.259.

- Oxford, England: Clarendon Press.
- Pirie, N.M. (1959), Chemical Diversity and the Origin of Life in «The Origin of Life on the Earth», International Union of Biochem. New York & London: Pergamon Press.
- Prescott, D.M. (1964), Cellular Sites of RNA Synthesis in «Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology» (J. N. Davidson & W. E. Cohn, eds.). New York: Academic Press.
- Renaud, F.H. & Swift, H. (1964), *J. Cell Biol.* **23**, 339.
- Ris, H. & Plaut, W. (1962), *J. Cell Biol.* **12**, 383.
- Rutten, M.G. (1962), The Geological Aspects of the Origin of Life on Earth. Amsterdam & New York: Elsevier Publishing Co.
- Sagan, C. (1961), *Radiat. Res.* **15**, 174.
- Sagan, C. (1965a), Ultraviolet Synthesis of Nucleoside Phosphates in «Origin of Pre-biological Systems» (S. Fox, ed.). New York: Academic Press.
- Sagan, C. (1965b), Origins of the Atmospheres of the Earth and Planets in Section I of «International Dictionary of Geophysics» (S. K. Runcorn, ed.-in-chief). London: Pergamon Press.
- Sagan, L., Ben-Shaul, Y., Schiff, J.A. & Epstein, H.T. (1965), *J. Pl. Physiol.* **40**, 1257.
- Sager, R. & Tsubo, Y. (1961), *Zeitschrift für Vererbungslehre*, **92**, 439.
- Schildkraut, C., Mandel, M., Levisohn, S., Smith-Sonneborn, J. & Marmur, J. (1962), *Nature*, Lond. **196**, 795.
- Seaman, G. R. (1960), *Exp. Cell Res.* **21**, 292.
- Siegel, R.W. (1960), *Exp. Cell Res.* **19**, 239.
- Siegel, R.W. & Karakashian, S. J. (1959), *Anatomical Record*, **134**, 639.
- Sleigh, M. (1962), Biology of Cilia and Flagella. Oxford: Pergamon Press.
- Smillie, R. (1963), *Can. J. Bot.* **41**, 123.
- Stanier, R., Douderoff, M. & Adelberg, E. (1963), The Microbial World, 2nd Ed. Englewood Cliffs, N.J.: Prentice-Hall Inc.
- Sueoka, N. (1961), *J. Mol. Biol.* **3**, 31.
- Trager, W. (1964), The Cytoplasm of Protozoa in «The Cell», Vol. VI (J. Brachet & A. Mirsky, eds.). New York: Academic Press.
- Urey, H.C. (1959), Primitive Planetary Atmospheres and the Origin of Life in «The Origin of Life on the Earth», International Union of Biochemistry. New York & London. Pergamon Press.
- Wallin, J.E. (1922), *Am. J. Anat.* **IV**, in Wilson (1925).
- Wallin, J.E. (1927), Symbiontism and the Origin of Species. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Weinrich, D.H. (1954), Sex in Protozoa: A Comparative Review in «Sex in

- Microorganisms» (D. H. Weinrich, chairman and ed.). Publication of the American Association for the Advancement of Science, Washington.
- Wenyon, C.M. (1926), *Protozoology: A Manual for Medical Men, Veterinarians and Zoologists*. London: Bailliere, Tindall & Cox.
- Wilson, E.B. (1925), *The Cell in Development and Heredity*. New York: Macmillan.
- Yow, F.W. (1961), *J. Protozool. Suppl.* **8**, 20.

II.

PERSPECTIVAS

Origem das células eucarióticas: 40 anos depois¹

JOHN M. ARCHIBALD²

Resumo: No ano de 1970 assistiu-se à publicação de *Origem das Células Eucarióticas*, da autoria de Lynn Margulis. Esta obra influente trouxe para o *mainstream*³ científico os excitantes e importantes problemas da evolução celular, desbravando simultaneamente novos campos e «re-descobrimdo» ideias de há décadas de biólogos russos e alemães. Neste artigo de revisão comemorativo passo em revista os 40 anos que decorreram desde a publicação desta obra marcante, com uma atenção particular sobre a «era molecular»: a forma como o sequenciamento de DNA e a genómica comparativa provaram, para além de todas as dúvidas, os princípios centrais da hipótese endossimbionte para a origem das mitocôndrias e dos plastos e, ao mesmo tempo, revelaram a complexidade genética e genómica dos eucariotas modernos, complexidade essa que era inimaginável décadas antes.

Palavras-chave: Lynn Margulis, Simbiose, Endossimbiose, Evolução celular, Mitocôndria, Plastos.

¹ Reimpresso e traduzido a partir de John M. Archibald (2011), *Origin of eukaryotic cells*, *Symbiosis* 54:69-86, com permissão especial da Springer. Tradução de Ricardo R. Santos e revisão de Ricardo Melo.

² Instituto Canadano para a Investigação Avançada, Programa em Biodiversidade Microbiana Integrada, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Sir Charles Tupper Medical Building, Dalhousie University, Halifax NS B3H 4R2, Canadá. E-mail: jmarchib@dal.ca

³ Optámos por manter no original uma vez que é difícil encontrar, num única palavra, um correspondente em português que contemple exactamente o mesmo significado. (N. do T.)

1. Introdução

Este livro é dedicado à reavaliação de uma das conjecturas mais revolucionárias alguma vez feitas sobre a origem de um tipo complicado de células que é a unidade estrutural dos animais e das plantas superiores. A Doutora Margulis reuniu, com um entusiasmo contagiante, uma vasta quantidade de material muito dispar, em grande parte proveniente dos mais recentes estudos bioquímicos, que lhe serviram de suporte.

G.E. Hutchinson, Prefácio à *Origem das Células Eucarióticas*

A origem das células eucarióticas é um puzzle que vindo a fascinar e a intrigar os biólogos há mais de um século. Como é que a complexidade das suas características subcelulares, tais como o citoesqueleto, o núcleo e o flagelo, e processos como a mitose e a meiose, evoluíram inicialmente? De onde vieram as mitocôndrias e os plastos (cloroplastos)? Quais foram as pressões selectivas que conduziram a evolução destes organitos? Em 1970, uma jovem bióloga chamada Lynn Margulis abordou estas questões, bem como outras relacionadas, num livro intitulado *Origem das Células Eucarióticas: Implicações dos Factos e da Investigação para uma Teoria da Origem e Evolução das Células Microbianas, Vegetais e Animais na Terra Pré-Câmbrica* (Margulis, 1970). Quarenta anos depois, o livro de Margulis é reconhecido como uma das mais influentes obras, contribuindo para a agora generalizada aceitação do facto que a endossimbiose tem sido – e continua a ser – uma força criativa na evolução celular.

A história da investigação da endossimbiose é, pois, uma história repleta de barreiras de linguagem e de hipóteses lânguidas. Um dos primeiros artigos científicos de Margulis, intitulado *On the Origin of Mitosing Cells*, publicado como Lynn Sagan (1967), foi rejeitado por «quinze ou mais» revistas antes de ter sido, enfim, publicado (Margulis, 1998). Este facto é frequentemente referido como testemunho da natureza herética das suas ideias, ainda que essas ideias não tenham sido uma novidade histórico. Tal como a própria Margulis referiu, nos anos 60 e 70 tanto ela como outros investigadores a trabalhar no campo da evolução celular não estavam cientes do trabalho dos seus «antecessores da Europa Oriental: os “simbiogeneticistas”» (Khakhina, 1979). Estes incluíam os botânicos russos Alexander Famintzyn (1841-1896), Boris Kozo-Polyansky (1890-1957) e Constantin Mereschowsky (1855-1921). A maioria (mas não todos) destes investigadores rejeitou a noção de que a «tradicional» evolução darwiniana era suficientemente poderosa para

originar alterações fundamentais na biologia da célula, como a evolução de algas e plantas contendo plastos. Em alternativa, avançaram com a ideia de simbiogénese – a associação de tipos de células evolutivamente distintas para criar um novo e único organismo. O momento em que surgiram as primeiras contribuições de Margulis foi crítico. O seu livro *Origem das Células Eucarióticas* colocou-se na linha da frente num momento em que a biologia molecular estava já num estado muito avançado e de tal modo que poderia ser usada para testar rigorosamente a sua hipótese. Nos anos 20, o biólogo americano Ivan Wallin (1883-1969) desenvolveu o conceito de «simbionticismo» como produtor de novas espécies e propôs explicitamente que as mitocôndrias tinham origem endossimbiótica (Sapp, 1990); as suas ideias foram profundamente rejeitadas por cientistas no Ocidente. O que Margulis sabia em 1970 e que Wallin e outros não sabiam era que as mitocôndrias e os plastos continham DNA (Nass & Nass, 1963; Ris, 1961), as sequências nucleotídicas do que acabaria por ser a chave na demonstração das suas origens xenogénicas (Gray e Doolittle, 1982). Também se baseou fortemente em dados de microscopia electrónica, dados esses que estavam inacessíveis aos seus antecessores.

Quais foram, então, as contribuições de Margulis para o campo da evolução celular? Porque é que, aos olhos de muitos, ela é considerada a grande defensora da teoria endossimbiótica? Do meu ponto de vista, foi o vigor com que ela transmitiu as suas ideias e a ênfase que colocou na síntese de diferentes linhas de provas científicas recolhidas de áreas distintas e frequentemente dispare – citologia, genética, microbiologia, ecologia, geologia, paleontologia – que constituiu um feito notável e único. Em suma, ela impulsionou o conceito de simbiogénese muito para além do que qualquer outro, antes ou depois dela, e continua a fazê-lo ainda hoje. Através do seu trabalho, biólogos de todas as classes tomaram conhecimento de conceitos fundamentais em biologia celular, ecologia microbiana e evolução, e o modo como estas áreas de estudo podem comunicar entre si.

No espírito da celebração de 40 anos de exploração e de descoberta científicas, este artigo oferece uma visão global dos avanços alcançados no campo da endossimbiose desde a publicação do livro de Margulis, *Origem das Células Eucarióticas*. Quarenta anos é muito tempo e é impossível fazer justiça até mesmo a uma pequena fracção do que aconteceu. O historiador da biologia canadiano Jan Sapp contribuiu com numerosos trabalhos dedicados à história inicial da evolução celular e da investigação sobre a simbiose (por exemplo, Sapp, 2009, 1994), e Margulis, e outros, fizeram um esforço no

sentido de traduzir para a língua inglesa os trabalhos pioneiros dos simbiogeneticistas russos bem como outros trabalhos relacionados. Estes incluem *Simbiogénese: Um Novo Princípio de Evolução* (1924), de Kozo-Polyansky, a recente tradução feita por Martin e Kowallik do artigo de Mereschkowsky de 1905 sobre os «cromatóforos» (plastos) das plantas (Mereschkowsky, 1905), e o livro *Conceitos de Simbiogénese: Um Estudo Histórico e Crítico da Investigação de Botânicos Russos* (1979), de Liya Nikolaevna Khakhina. Vou focar-me nas investigações feitas no campo da filogenética molecular e da genómica sobre a evolução das mitocôndrias e dos plastos – os exemplos de organitos de origem endossimbiótica referidos habitualmente nos manuais – e nos recentes avanços da nossa compreensão das menos estabelecidas endossimbioses entre procariotas e eucariotas.

2. Problemas da evolução celular

Biólogos e paleontólogos mostraram que as mutações pontuais e os rearranjos cromossómicos explicam adequadamente a diferenciação das plantas superiores desde o mais simples ancestral das plantas verdes... No entanto, para resolver um problema evolutivo central – a origem dos eucariotas a partir de ancestrais procarióticos – a explicação tradicional não é consistente com os factos. Este livro irá tentar mostrar que a origem endossimbiótica de alguns organitos eucarióticos específicos é não apenas consistente com muitos desses factos, mas fornece também uma alternativa com um forte potencial de investigação. (Margulis, 1970, pp.1-2)

Muitos biólogos consideram que a dicotomia procariota-eucariota é a mais profunda e a mais fundamental divisão do mundo vivo. Nos anos 70, usando técnicas engenhosas de «catalogação de RNA», Carl Woese, George Fox, Ralph Wolfe e seus colegas tinham começado a caracterizar os RNA ribossomáticos (rRNA) de certas bactérias extremófilas com distintos lípidos de membrana glicerol-éter, e a seu tempo, a existência de um «terceiro domínio da vida» – Archaeobacteria ou Archae – acabaria por vir a ser proposto (Woese et al., 1990; Woese & Fox, 1977). No entanto, outros investigadores, como Margulis, focaram-se menos na diversidade dos procariotas e na distinção entre eubacteria e archaeobacteria, e mais no que esta diversidade poderia revelar sobre a transição procariota-eucariota. Duas hipóteses concorrentes foram debatidas na literatura primária. O então chamado modelo de «filiação directa» e o modelo de simbiose, este último também referido como «teoria da endossimbiose em série». As «algas azuis», hoje conhecidas

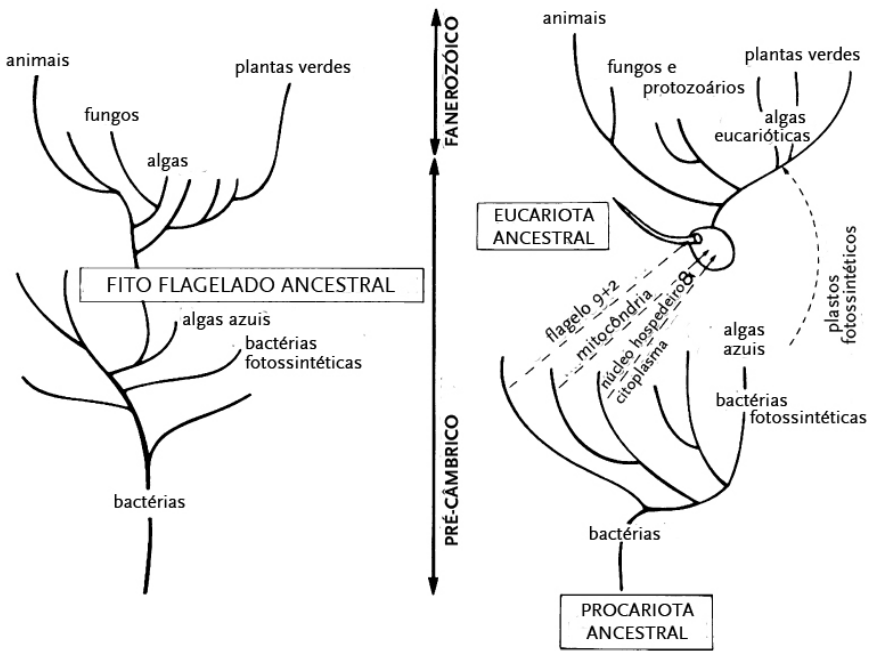


Fig.1 – Perspectivas clássica (*à esquerda*) e simbiótica (*à direita*) da transição procariota-eucariota. Figura reproduzida com permissão a partir de *Origem das Células Eucarióticas*, de Lynn Margulis (Figura 2-1 a, página 47).

como cianobactérias, destacavam-se de forma proeminente em ambas as hipóteses, mas de um modo muito distinto.

O modelo de filiação directa (isto é, autogénico ou não-endossimbiótico) da evolução dos eucariotas considerava que um parente específico das actuais algas azuis tinha dado origem, por evolução vertical, a um ancestral «fitoflagelado», a partir do qual todas as células portadoras de núcleo, em última análise, evoluíram (Fig.1). Uma característica crítica que unifica as várias formulações da hipótese de filiação directa é a existência de uma ligação evolutiva específica entre procariotas fotossintéticos e eucariotas fotossintéticos: o ancestral comum a todos os eucariotas continha um plasto (ou algo parecido) e, portanto, os grupos não-fotossintéticos, sem plastos, tais como os animais e os fungos, tinham perdido esse organito secundariamente e, por conseguinte, tinham-se tornado heterotróficos. Os proponentes iniciais da filiação directa incluíam Allan Allsopp (1969), Rudolf Raff e Henry

Mahler (1972), Tom Cavalier-Smith (1975) e Max Taylor, tendo este último desempenhado um papel de destaque na triagem das provas a favor e contra (Taylor, 1974, 1976).

Em contraste, o modelo simbiótico postulava que os organitos subcelulares eucarióticos – mitocôndrias, plastos e aparelho flagelar 9+2 – tinham tido uma origem xenogénica (Fig.1). De acordo com Margulis, «as plantas eucarióticas não evoluíram a fotossíntese libertadora de oxigénio “empacotando-a” mais tarde em plastos delimitados por uma membrana; elas adquiriram-na por simbiose» (Sagan 1967). A questão sobre qual «forma ancestral fotossintética», ou “uralga”, estabeleceu a ligação entre a cianobactéria e os eucariotas sem plastos era, para Margulis, uma «não-questão» (Margulis, 1970); mais tarde referiu-se à filiação directa como um «mito botânico» (Margulis, 1981). Em vez disso, os esforços deveriam estar antes focados na procura de respostas a questões como «Que heterotróficos são ancestrais aos protozoários?» e «Em que linhas de protozoários foram adquiridos protocloroplastos?». E, de facto, foram-no, mas não antes de terem sido obtidas provas conclusivas para a hipótese endossimbionte, no que viria a ser considerado um triunfo fundamental da revolução da biologia molecular.

3. A teoria simbiótica

Na minha opinião, chegou o momento de reavaliar seriamente e de explorar as consequências do conceito segundo o qual todas as células animais tiveram três, e todas as células vegetais quatro, ancestrais procarióticos independentes. (Margulis, 1970, p.46)

Klein e Cronquist (1967), entre outros, consideraram a hipótese endossimbiótica um «*bad penny*»⁴. «A posição conservadora assume que o movimento principal decorreu das fotobactérias para as algas azuis unicelulares e depois para as algas unicelulares eucarióticas... é, portanto, lógico considerar o desenvolvimento de organitos delimitados por uma membrana, a presença de um núcleo organizado com mitoses e meioses regularizadas, o aparelho de Golgi e as mitocôndrias a partir de sistemas de estrutura-função análogos, embora não tão bem organizados, contidos no interior das células procarióticas das algas azuis» (Klein, 1970). As algas vermelhas sem

⁴ Trata-se de uma expressão idiomática que não encontra na língua portuguesa uma tradução literal. De qualquer modo, a expressão *bad penny* é vulgarmente usada como «*a bad penny always turns up*», significando que uma pessoa não grata voltará sempre de novo. (N. do T.)

flagelo, uma das três principais linhagens contendo plastos reconhecida actualmente, destacam-se de forma proeminente em tais cenários de filiação directa: «... a nossa postulada célula protoeucariótica teve duas linhas de descendência, em que uma deu origem às algas vermelhas, e a outra, tendo desenvolvido corpos basais, centríolos, ou o seu homólogo 9+2, deu origem às algas verdes e a todos os outros seres vivos» (Klein, 1970). A hipótese endossimbionte foi considerada desnecessariamente radical e em violação do princípio da navalha de Occam⁵ (Klein & Cronquist, 1967; Klein, 1970).

Margulis, é claro, tinha uma ideia diferente. Com base no que já era conhecido sobre a ultraestrutura, a genética e a bioquímica das algas azuis, explicar a evolução da motilidade (o aparelho flagelar), do sexo (meiose) e da divisão celular do tipo eucariota (mitose) com base na filiação directa era, à sua maneira, igualmente não-parcimonioso. Margulis (Sagan, 1967), bem como Gokøyr (1967) e Raven (1970), apresentaram alternativas simbióticas. Investigadores de ambos os lados do debate ficaram intrigados com a descoberta, em 1963, de DNA na mitocôndria (Nass & Nass, 1963) e nos plastos (Ris, 1961), mas estas observações, em si mesmas, não favoreceram uma hipótese em detrimento de outra. Com as técnicas de catalogação de RNA de Woese e o eventual desenvolvimento da sequenciação de DNA (Maxam & Gilbert, 1977; Sanger et al., 1977), os dados moleculares poderiam ser rigorosamente aplicados na questão de saber se os plastos e/ou as mitocôndrias eram de origem autogénica ou endossimbiótica.

Os testes moleculares para uma origem endossimbiótica dos plastos foram enquadrados no contexto daquilo que os biólogos há muito tempo reconhecem como semelhanças notáveis entre organitos fotossintéticos de plantas e de algas, por um lado, e de cianobactérias por outro. Em 1905, Mereschkowsky considerou múltiplas linhas de prova científica que suportavam uma origem cianobacteriana para os «cromatóforos» (plastos) (Mereschkowsky, 1905). Particularmente digno de nota foi o facto de que, tal como as cianobactérias, estes organitos propagavam-se por divisão, conforme observado pelo botânico alemão Andreas Schimper (1856-1901) (Schimper, 1883). Mereschkowsky notou que os cromatóforos eram «altamente independentes do núcleo» e reconheceu claramente o significado das

⁵ A «navalha de Occam» (em inglês, Occam's razor) refere-se a um princípio lógico atribuído ao filósofo inglês do século XIV, William of Ockham. Segundo este princípio, a explicação de um fenómeno deve assumir o menor número possível de pressupostos, cortando (daí a razão de surgir a palavra «navalha») aqueles que em nada contribuem para a hipótese explicativa. O princípio é frequentemente designado em latim como *lex parsimoniae*, ou «lei da parcimónia». (N. do T.)

«Cyanophyceae» (cianobactérias), as quais descreveu como «organismos que podemos considerar como cromatóforos de vida livre». Martin e Kowallik atribuem a Mereschkowsky o crédito da «primeira versão da hipótese endossimbionte» (Mereschkowsky, 1905). Se, tal como Mereschkowsky e Margulis (Sagan, 1967; Margulis, 1970) e seus contemporâneos consideraram como hipótese, os plastos realmente evoluíram, por endossimbiose, a partir de uma cianobactéria de vida livre então o DNA plastidial deve ser mais semelhante, em sequência e estrutura, ao DNA cianobacteriano do que ao DNA nuclear. Se, por outro lado, o modelo de filiação directa estava correcto, os genomas plastidiais deveriam ser mais semelhantes aos genomas nucleares do que aos das Eubacteria ou aos das Archaeobacteria (Gray & Doolittle, 1982). Como será explicitado a seguir, as expectativas em relação a que tipo de assinaturas filogenéticas moleculares podíamos esperar encontrar nas mitocôndrias, à luz do modelo de endossimbiose, foram menos claras. Porém, de um modo geral, a lógica foi a mesma do que a usada para os plastos: na natureza, o DNA mitocondrial deve ser distintamente eubacteriano. Foram, assim, recolhidos dados moleculares, que foram depois avaliados em termos da sua qualidade de ajuste aos modelos autogénico ou xenogénico para a evolução organelar.

Em 1975, Linda Bonen e Ford Doolittle, da Universidade de Dalhousie, em Halifax, na Nova Escócia, Canadá, compararam o RNA ribossomático da subunidade pequena plastidial (SSU rRNA) da alga vermelha *Porphyridium* com o seu correspondente codificado no núcleo e a SSU rRNA da alga azul *Anacystis* (Bonen & Doolittle, 1975). Conforme referido por Sapp (2009), Bonen havia adquirido a experiência necessária na catalogação de RNA numa estadia prévia no laboratório de Woese, no qual tinha sido também caracterizada a SSU rRNA plastidial de outra alga, a *Euglena*. O grau de semelhança do RNA «catalogado» da SSU rRNA dos plastos de *Porphyridium* e de *Euglena* e das cianobactérias era notável e muito superior ao que existia entre o SSU rRNA plastidial e nuclear (Bonen & Doolittle, 1975; Zablen et al., 1975; Bonen & Doolittle, 1976). Bonen e Doolittle concluíram então que os dados de que dispunham eram «...mais consistentes com a hipótese de que os cloroplastos das algas vermelhas evoluíram a partir de procariotas endossimbióticos. Porém, infelizmente, esses mesmos dados não excluem a possibilidade de os genes de rRNA do núcleo e do cloroplasto [plasto] terem ambos evoluído dentro de um citoplasma comum, a partir de um único genoma originalmente “procariótico”» (Bonen & Doolittle, 1975). Pouco tempo depois, Bonen e Doolittle, juntamente com colegas de Dalhousie, nomeadamente Michael

Gray e Scott Cunningham, demonstraram uma origem bacteriana para a SSU rRNA da mitocôndria do gérmen de trigo (Bonen et al., 1977). Este resultado foi crítico. Considerados isoladamente, os dois conjuntos de dados eram consistentes com a hipótese de que as mitocôndrias ou os plastos tinham evoluído não-endossimbioticamente a partir de uma linhagem nucleocitoplasmática. No entanto, devido à característica distintiva das assinaturas do seu SSU rRNA, mitocôndrias e plastos poderiam não ser *ambos* de origem autogénica (Gray e Doolittle, 1982).

Construída a partir destes sucessos iniciais, a investigação na década de 80 foi rápida na produção de uma maior compreensão sobre a natureza dos organitos eucarióticos. Foi recolhido um grande volume de dados moleculares, a maior parte dos quais apoiando inequivocamente uma origem endossimbiótica para as mitocôndrias e os plastos. Para além dos catálogos de SSU rRNA, incluem-se dados de sequências de nucleótidos para uma variedade de genes (incluindo o SSU rRNA) e informações sobre a estrutura do genoma dos organitos (por exemplo, conservação de operões de proteínas ribossomais). Estes dados foram exaustiva e amplamente analisados (por exemplo, Gray, 1992; Gray & Doolittle, 1982). Embora a hipótese endossimbiótica tenha sido efetivamente comprovada para as mitocôndrias e para os plastos, subsistia ainda um grande cepticismo sobre a possibilidade de uma origem endossimbiótica para outros organitos. Mais especificamente, Margulis afirmou que os flagelos eucarióticos eram também de natureza xenogénica, neste caso o resultado de uma «simbiose de mobilidade» entre um hospedeiro arqueobacteriano e um simbiote de espiroqueta (Fig.1). Ao formular esta ideia, que também foi mencionada por Kozo-Polyansky (1924), Margulis inspirou-se em protozoários como *Mixotricha*, um simbiote do intestino de térmitas cujo movimento é auxiliado em grande medida pelo batimento coordenado de milhares de espiroquetas ligadas à superfície (Margulis, 1970, 1981). Em colaboração com um colega da Universidade de Massachusetts, Michael Dolan, e outros, as ideias iniciais de Margulis sobre a origem do flagelo conduziram à hipótese de que protistas contendo «cariomastigonte» – organismos cujos núcleos estão fisicamente ligados ao corpo basal flagelar – são fósseis vivos desta fase crucial da evolução eucariótica (Margulis et al., 2000; Margulis et al., 2005): «Interpretamos este sistema de organitos [o cariomastigonte]... como um legado da primeira integração genómica destas bactérias [as arqueobactérias e a espiroqueta]» (Margulis, 2004). (Note-se que Margulis começa por usar o termo «undulipódio», em vez de «flagelos», de forma a evitar potenciais comparações enganosas entre o flagelo eucariótico e o seu correspondente bacteriano.)

Entanto, não surgiram provas que apoiassem directamente a origem dos flagelos/undulipodia a partir da espiroqueta e é justamente neste ponto que Margulis e a grande maioria dos biólogos divergem⁶. Ela está «preparada para estar incorrecta», mas continua confiante de que eventualmente vai ser encontrado DNA associado ao aparelho de motilidade eucariótica, cuja análise acabará por apoiar a sua versão «extrema» da teoria endossimbiótica seriada (Margulis, 1998). Na posse de ferramentas da biologia molecular cada vez mais poderosas, a maioria dos investigadores concentraram o seu trabalho nas mitocôndrias e nos plastos, com uma crescente ênfase na diversidade de organitos. Questões importantes precisavam ainda de resposta, incluindo a questão de saber se as endossimbioses que deram origem às mitocôndrias e aos plastos foram acontecimentos únicos ou se ocorreram em mais do que uma ocasião. Como veremos na secção seguinte, o nascimento da filogenia molecular baseada na SSU rRNA deu origem a um novo e excitante programa de investigação, cujo objectivo último consistia em estabelecer uma «filogenia global» de todos os eucariotas vivos, bem como dos seus organitos.

4. Eucariotas inferiores

Grandes grupos de eucariotas inferiores têm sido contraditoriamente classificados em esquemas botânicos e zoológicos. Os critérios de classificação têm variado consideravelmente. Os organismos, eles mesmos, podem ser fotossintéticos, heterotróficos; podem ser unicelulares, pluricelulares ou polimórficos. Pode ou não ter sido observada reprodução sexual. (Margulis, 1970, p.246)

Uma das virtudes da *Origem das Células Eucarióticas*, que se prolongou no tempo, é a extensão com que revelou a enorme diversidade de formas e funções celulares dentro do reino dos eucariotas microbianos, uma diversidade que não teria sido ainda considerada pela maioria dos biólogos à época da sua publicação. Incluindo a presença e a aparente ausência de mitocôndrias. No seu capítulo intitulado *Eucariotas inferiores*, Margulis coloca as seguintes questões, tão pertinentes hoje como o eram há 40 anos: «Em que organismo heterotrófico contendo mitocôndrias evoluiu a mitose e a meiose, e em resposta a que tipo de pressões selectivas? Quais os organismos em que foram adquiridos plastos? Que linhas de protistas, fungos, animais e

⁶ No original, *part company*. Trata-se de uma expressão usada para referir a divergência entre duas partes. (N. do T.)

plantas evoluíram a partir dos primeiros eucariotas? Todos os protozoários e fungos têm antepassados heterotróficos, ou terá algum surgido pela perda de plastos em algas?» (Margulis, 1970). Com a emergência gradual da filogenética molecular e, eventualmente, da genômica comparativa, surge um novo pano de fundo mais bem preparado para lidar com estas questões fundamentais.

Nas décadas de 80 e 90, a hipótese Arquezoa de Tom Cavalier-Smith (1983a,b) foi o cenário dominante e contra o qual foram testadas hipóteses sobre a evolução eucariótica primitiva. Cavalier-Smith postulou que certas linhagens eucarióticas haviam divergido da linha eucariótica principal antes de ter ocorrido a endossimbiose que deu origem às mitocôndrias. Se assim fosse, o estudo de tais linhagens, que ele agrupou no subfilo Archezoa, poderia fornecer a chave para a compreensão da evolução das principais características eucarióticas. «Defendo que o eucariota mais primitivo foi um arquezoa fagotrófico, sem cloroplastos, sem mitocôndrias, sem microcorpos e sem pilhas de cisternas de parede lisa a formar um dictiossoma, mas possuindo um único cílio com um feixe de microtúbulos de raiz em torno do único núcleo... nos dias de hoje, o Mastigamoebae encaixa-se aproximadamente nesta descrição e podem ser considerados “fósseis vivos”» (Cavalier-Smith, 1987). Ao defender a existência de um ancestral comum fagotrófico, sem mitocôndrias e sem plastos, o ponto de vista de Cavalier-Smith contrasta com o de Margulis, embora tenha sido considerado semelhante por de Duve (1969), Stanier (1970), Whatley et al. (1979) e Doolittle (1980).

As primeiras filogenias moleculares baseadas na sequenciação de rRNA e proteínas, que incluíram sequências de protistas candidatos a «fóssil vivo», tais como as diplomonadidas (por exemplo, *Giardia*), parabasalia (por exemplo, *Trichomonas*), microsporídeos e *Entamoeba*, mostraram-se satisfatoriamente consistentes com a hipótese Arquezoa. Estes organismos, que se supõe serem a-mitochondriais, ramificaram-se na base da árvore eucariótica, distantes dos animais, plantas e fungos (por exemplo, Sogin et al., 1989; Leipe et al., 1993; Hashimoto et al., 1997). Pensava-se que a hipótese Arquezoa poderia por certo abrir uma janela para uma fase importante da evolução dos eucariotas. No entanto, à medida que se foram acumulando mais dados e as análises filogenéticas se tornaram cada vez mais finas, a hipótese Arquezoa tornou-se menos defensável. Gradualmente foi ficando claro que a natureza da «ramificação profunda» dos taxa de arquezoa nas filogenias moleculares resultou de um artefacto metodológico, conhecido como

«atracção de ramos longos»⁷, no qual os ramos ininterruptamente mais longos da árvore são artificialmente puxados um para o outro. Neste caso, as sequências divergentes dos arquezoa foram atraídas para as do grupo exterior de procariotas, resultando assim num padrão do tipo escada na base dos eucariotas que não reflectia a realidade (Philippe & Germot, 2000; Philippe et al., 2005). Para alguns membros de Arquezoa, foram identificadas posições alternativas «mais acima» na árvore eucariótica. Os microsporídeos, por exemplo, terão eventualmente compartilhado um ancestral comum recente com os fungos, claramente inseridos nos eucariotas com mitocôndrias (por exemplo, Edlind et al., 1996; Keeling & Doolittle, 1996; Li et al., 1996; Hirt et al., 1999; Keeling et al., 2000; Van de Peer et al., 2000). Para outras linhagens, tais como parabasalia e diplomonadida, não era aparente uma afiliação alternativa óbvia, mas a sua posição de ramificação profunda em filogenias de proteína e de rRNA foi, no entanto, tratada com grande desconfiança. Os leitores interessados podem consultar Sogin (1997), Roger (1999) e Embley e Martin (2006) para uma ampla variedade de perspectivas sobre esse importante período da investigação sobre a evolução da célula.

Apesar de todos os dados disponíveis em 2011, a nossa compreensão dos verdadeiros «eucariotas inferiores» é, de certa forma, um pouco melhor do que era há 20 anos. Mais de 100 genomas nucleares foram entretanto sequenciados e comparados, incluindo os de vários putativos arquezoa: os resultados oferecem um quadro em que o ancestral comum de todos os eucariotas conhecidos foi um organismo altamente complexo com citoesqueleto, fagocitose, um sistema endomembranar sofisticado, mitose, meiose e, conforme irá ser discutido na secção seguinte, uma mitocôndria (Koonin, 2010a; Dacks & Doolittle, 2001). Linhagens de arquezoa propostas como microsporídeos e diplomonadida são células relativamente «simples», com genomas pequenos (Katinka et al., 2001; Keeling & Slamovits, 2004; Morrison et al., 2007), mas que também são inegavelmente complexos e possuem um conjunto completo de proteínas que, sabe-se agora, sustentam as principais características da vida eucariótica. Os avanços proporcionados pela biologia molecular na classificação de protistas foram certamente significativos (por exemplo, Parfrey et al., 2006; Parfrey et al., 2010) e com o advento das abordagens «filogenómicas» multi-gene na reconstrução da árvore, a existência de apenas cinco ou seis «supergrupos» eucarióticos tem sido posta em relevo (Baldauf et al., 2000; Simpson & Roger, 2004; Burki et al.,

⁷ Em inglês, *long branch attraction*. (N. do T.)

2008; Hampl et al., 2009). Porém, ainda é um mistério a forma como estes supergrupos estão relacionados entre si, bem como a sequência de eventos que deu origem à complexidade celular que estava claramente presente no seu ancestral comum. A genómica comparativa permitiu a obtenção de conhecimentos fascinantes, mas tem ainda de fornecer respostas definitivas (Koonin, 2010a). Esperemos que os dados genómicos de uma amostragem muito mais ampla de protistas melhorem a situação.

5. A aerobiose e a mitocôndria

Embora as provas científicas a favor de uma autonomia mitocondrial sejam impressionantes, ...encarar o organito como um endossimbionte altamente evoluído cria novas dificuldades. Por exemplo, que tipo de microorganismo poderia ter engolido a protomitocôndria no início? Que tipo de bactéria aeróbica de vida livre se tornou na mitocôndria (Figura 7-1, 7-2)? Que alterações genéticas ocorreram, levando à integração permanente das mitocôndrias em várias células eucarióticas? (Margulis, 1970, pp.178 e 183)

O golpe final na hipótese Arquezoa de Cavalier-Smith veio não daquilo que foi revelado pela filogenia molecular, mas com a descoberta de «organitos relacionados com a mitocôndria» (MRO⁸) em linhagens anaeróbicas que se pensava serem primitivamente a-mitocondriais. Suspeitou-se da sua existência, pela primeira vez, quando genes nucleares para proteínas do choque de calor de tipo mitocondrial foram encontrados em vários taxa de arquezoa (por exemplo, Hirt et al., 1997; Roger et al., 1996; Roger et al., 1998; Clark & Roger, 1995), e investigações bioquímicas e citológicas detalhadas descobriram posteriormente os organitos «em falta» nos *Entamoeba* (Tovar et al., 1999), na diplomonadida *Giardia* (Tovar et al., 2003) e nos microsporídeos *Trachipleistophora* (Williams et al., 2002) e *Encephalitozoon* (Tsaousis et al., 2008; Goldberg et al., 2008). Estes vários tipos de mitocôndrias remanescentes são agora habitualmente referidos como «mitossomas», apesar do facto de os organismos que os abrigam não estarem especificamente relacionados (Hjort et al., 2010; Tovar, 2007).

No caso dos parabasalia, a «mitocôndria» esteve de facto sempre presente sob a forma de um organito rodeado por uma dupla membrana e libertador de hidrogénio: o hidrogenossoma (Lindmark & Müller, 1973; Müller, 1993). Em 1979, Whatley et al. (1979) propôs que, por causa da sua bioquímica anaeróbia incomum, os hidrogenossomas teriam evoluído a partir de

⁸ Em inglês, *Mitochondrion-Related Organelles* (MRO). (N. do T.)

um endossimbionte do tipo *Clostridium*, independente da bactéria aeróbia que geralmente se acredita ter dado origem à mitocôndria. No entanto, um conjunto muito rico de provas bioquímicas e de filogenética molecular sugere fortemente que, apesar das suas diferenças, os hidrogenossomas e as mitocôndrias partilham um ancestral comum (Embley et al., 2003; Embley et al., 2002). Esta hipótese saiu reforçada com a recente descoberta de um organito, no estramenópilo *Blastocystis*, que apresenta simultaneamente características de hidrogenossomas e mitocôndrias (Stechmann et al., 2008; Perez-Brocal & Clark, 2008), bem como a caracterização de um hidrogenossoma com um genoma no ciliado anaeróbio *Nyctotherus* (Boxma et al., 2005). O facto é que foram encontrados MRO em todos os taxa de arquezoa, nos quais têm sido activamente procurados (Embley & Martin, 2006; Barberà et al., 2007). As mitocôndrias parecem ter evoluído numa única ocasião, num ancestral comum compartilhado por todos os eucariotas conhecidos.

Estas observações respondem à questão de *quando* (em relação à diversificação eucariótica) a mitocôndria evoluiu, mas frustrantemente pouco dizem sobre *como* é que ela evoluiu. Com o reconhecimento de que os MRO persistem até mesmo nos eucariotas anaeróbios mais altamente derivados, os investigadores estudaram a sua bioquímica em relação à das mitocôndrias «clássicas», na tentativa de descobrir o porquê. Surpreendentemente, a única característica bioquímica que os une parece ser a síntese de agregados de ferro-enxofre (Fe-S) na constituição de metaloproteínas (Tachezy & Dolezal, 2007). Os hidrogenossomas sem genoma de parabasalia desempenham ainda um papel importante na produção de ATP (por fosforilação ao nível do substrato) para além da biossíntese de agregados de Fe-S, mas os mitossomas de diplomonadida e de microsporídeos, que também não possuem um genoma, não parecem mais ser capazes de sintetizar ATP. É actualmente incerto se os contributos bioquímicos dos mitossomas aos seus respectivos hospedeiros se estendem para além da produção de agregados de Fe-S, mas o facto de eles existirem é revelador da integração profunda entre o progenitor bacteriano da mitocôndria e o seu hospedeiro. Em contraste com o modelo arquezoa, segundo o qual a célula que tomou o progenitor bacteriano da mitocôndria estava no bom caminho para se tornar num eucariota autêntico, alguns investigadores acreditam que a evolução da mitocôndria foi concomitante com a evolução da célula eucariótica em si.

O exemplo mais proeminente daquilo que Koonin (2010a) refere como um «cenário de simbiogénese» é a hipótese do hidrogénio de Martin e Müller (1998). Ao contrário da maioria dos esquemas evolutivos, incluindo os de

Margulis (por exemplo, Margulis, 1970, 1981; Margulis et al., 2006), Martin e Müller rejeitaram a ideia de que o oxigénio e a aerobiose desempenharam um papel essencial na origem das mitocôndrias. Propuseram então que a célula eucariótica evoluiu antes num ambiente *anaeróbico*, como resultado de uma relação sintrófica entre uma arqueobactéria anaeróbica produtora de metano e uma α -proteobactéria aeróbica facultativa que libertava CO_2 e hidrogénio molecular (Martin e Muller, 1998). O metabolismo daquele (o «hospedeiro») estava dependente dos produtos residuais deste (o «simbionte») e, ao longo do tempo, a eubactéria veio a residir dentro do metanogénico. Os principais genes envolvidos na troca de metabolitos foram transferidos do endossimbionte para o hospedeiro, cimentando assim a relação entre eles.

Na hipótese do hidrogénio, a colocação de uma α -proteobactéria no papel de progenitor mitocondrial é inteiramente convencional, uma ideia que remonta à era pré-molecular (John e Whatley, 1975) e que é agora suportada por um vasto conjunto de dados filogenéticos moleculares e comparativos do genoma mitocondrial (por exemplo, Barbera et al., 2007; Gray, 1992; Gray et al., 1999). Onde a hipótese é menos convencional é na proposta de que este organismo tinha os meios genéticos necessários para realizar uma respiração aeróbica, como existe agora na mitocôndria clássica, *bem como* um metabolismo energético anaeróbico do tipo hidrogenossoma, este último incluindo genes para a piruvato:ferrodoxina oxidoredutase (PFO) e a Fe-Fe-hidrogenase, e as maturases associadas. Se isto fosse verdade, seria de esperar que as filogenias moleculares mostrassem as PFO e as Fe-Fe-hidrogenases dos vários eucariotas contendo MRO como sendo monofiléticas e especificamente associadas a homólogos α proteobacterianos. Actualmente, os dados parecem ser mais consistentes com um cenário em que pelo menos alguns dos genes relacionados com o metabolismo energético anaeróbico foram adquiridos múltiplas vezes de forma independente por transferência horizontal de genes (HGT⁹) pelos diferentes organismos contendo MRO, à medida que eles se adaptaram a ambientes anaeróbicos (por exemplo, Barbera et al., 2007; Hug et al., 2010). Naturalmente, a compreensão do papel que a HGT tem desempenhado na evolução de tais genes não refuta, em si e por si só, a hipótese do hidrogénio, e Martin continua a defender a ideia de que o metabolismo energético anaeróbico foi ancestral relativamente aos actuais eucariotas. Ao fazê-lo, salienta a importância de tal perspectiva: «Se

⁹ Em inglês, *Horizontal Gene Transfer*. (N. do T.)

todos nós tivéssemos aprendido, na faculdade, a bioquímica da mitocôndria usando o exemplo dos invertebrados marinhos, então teríamos encarado as mitocôndrias como organitos que produzem ATP em condições aeróbicas e anaeróbicas. Mas aprendemos a bioquímica mitocondrial tomando como exemplo as mitocôndrias de fígado de rato. Os ratos não sobrevivem sem oxigénio, os invertebrados marinhos sobrevivem» (Martin, 2008).

Quarenta anos depois, estamos mais perto de obtermos uma boa compreensão de como a célula eucariótica e as suas mitocôndrias evoluíram? Por certo que ideias não faltam. Num artigo recente da *Nature*, intitulado «A energética da complexidade do genoma» (Lane e Martin, 2010), Lane e Martin introduziram uma nova perspectiva sobre a questão do porquê de, decorridos 4 mil milhões de anos de evolução, o fosso entre complexidade celular procariótica e eucariótica ter sido atravessado apenas uma vez: «O tamanho do genoma procariótico é restringido pela bioenergética. A endossimbiose que deu origem à mitocôndria reestruturou a distribuição de DNA em relação às membranas bioenergéticas, permitindo uma notável expansão de 200 mil vezes do número de genes expressos. Este salto enorme na capacidade genómica esteve estritamente dependente do poder mitocondrial, um pré-requisito para a complexidade eucariótica: a inovação central no caminho para uma vida multicelular» (Lane & Martin, 2010). Segundo Lane e Martin, a mitocôndria não evoluiu apenas no contexto de um hospedeiro procariótico: sem a energia que a mitocôndria foi capaz de fornecer, o hospedeiro nunca poderia ter-se tornado num eucariota.

Por sua vez, Margulis rejeita a noção de que as mitocôndrias, os hidrogenossomas e os mitossomas compartilhem uma origem comum e acredita que o núcleo e o citoesqueleto evoluíram *antes* da mitocôndria (Margulis et al., 2006). Um tema comum que surge no seu trabalho é a vontade implícita de enquadrar as hipóteses no contexto da biologia celular, com preferência para as características biológicas e os processos que se observam em organismos actuais, algo que é também partilhado por Cavalier-Smith (por exemplo, Cavalier-Smith, 2007, 2010). Para quem tenha interesse em explorar mais detalhadamente os prós e contras dos vários esquemas de evolução eucariótica e mitocondrial têm à sua disposição vários artigos para consulta (por exemplo, Martin et al., 2001; Cavalier-Smith, 2007; Curtis e Archibald, 2010; Koonin, 2010a; Poole & Penny, 2007; Dagan e Martin 2007), em particular uma recente publicação de O'Malley (2010) que apresenta uma descrição clara não apenas da ciência subjacente a este «debate inacabado», mas também dos seus fundamentos filosóficos. Um dos poucos

pontos em que todos os investigadores no campo da evolução mitocondrial concordariam é, sem dúvida, na necessidade de dados mais concretos. Um outro ponto seria que tais dados não irão surgir em breve. A este respeito, o campo da evolução plastidial apresenta um contraste interessante. Os dados são, em geral, muito mais fáceis de se obter, embora o desafio da interpretação desses mesmos dados não seja, como veremos, menos difícil.

6. Plantas eucarióticas

Assumindo que os plastos, na forma de procariotas fotossintéticos totalmente desenvolvidos, foram adquiridos simbioticamente por heterotróficos do tipo protozoários, eles próprios num processo de desenvolvimento de mitose e meiose, pode obter-se um grande número de características plastidiais experimentalmente verificáveis. A aquisição simbiótica de protocloroplastos é provavelmente mais recente do que a aquisição de protomitocôndrias ou de protoflagelos e, portanto, mais facilmente reconhecida. (Margulis, 1970, p.278)

Os dados que apoiam uma origem endossimbiótica para os plastos foram sempre muito mais fortes do que para as mitocôndrias. Com o auxílio da genómica comparativa, podemos afirmar com alguma confiança que, no momento da incorporação da cianobactéria, o hospedeiro heterotrófico do «tipo protozoário» de Margulis já tinha uma mitocôndria e estava já na posse de mitose e meiose, além de um conjunto de outras características específicas dos eucariotas (Koonin, 2010a,b). A origem mais recente dos plastos fornece, assim, aos investigadores uma base muito mais robusta para investigar a natureza das interações hospedeiro-endossimbionte do que no caso das mitocôndrias. Ainda desde o início, os investigadores esforçaram-se para dar sentido à notável diversidade de plastos ao longo da árvore eucariótica. «Uma especulação quase inevitável que surge pela combinação da SET¹⁰ [Teoria da Endossimbiose Seriada] com observações sobre a heterogeneidade do conteúdo dos organitos, especialmente a diversidade de estrutura e de pigmentos acessórios encontrados nos cloroplastos de algas, é a sugestão de que alguma ou grande parte desta heterogeneidade se deve à incorporação de stocks semelhantes, mas divergentes do ponto de vista evolutivo, para formar organitos semelhantes» (Taylor, 1974). Ao considerar a possibilidade de múltiplas origens independentes de plastos, Taylor (1974), assim como Raven (1970), trouxe à tona uma questão que a área tem demorado vários anos

¹⁰ Em inglês, *Serial Endosymbiosis Theory*. (N. do T.)

a resolver até à satisfação geral dos seus praticantes. Mesmo hoje não há um entendimento unânime neste ponto. Faz-se também agora uma distinção entre os chamados plastos «primários», «secundários» e até «terciários»: os plastos primários são aqueles que se acredita terem evoluído directamente a partir de um endossimbionte cianobacteriano, enquanto que os dois últimos tipos de organitos se pensa terem-se movido lateralmente pela incorporação de um eucariota num outro eucariota (Archibald, 2009; Bhattacharya et al., 2003; Delwiche, 1999).

Actualmente, são reconhecidas três linhas principais de eucariotas contendo plastos primários: algas verdes, algas vermelhas e glaucófitos (ou glaucocistófitos) (Reyes-Prieto et al., 2007). Em vários momentos, e por diferentes razões, cada um destes grupos tem tido destaque no estudo da endossimbiose e da evolução eucariótica. As algas verdes unicelulares são a linhagem a partir da qual as plantas terrestres evoluíram, mais especificamente a sub-linhagem dos estreptófitos dentro da linha verde (Delwiche et al., 2004; Lewis & McCourt, 2004). Estes plastos são caracterizados pela presença de clorofilas *a* e *b*. As algas vermelhas são um grupo diversificado que inclui formas unicelulares e multicelulares com propensão para habitar ambientes extremos (Yoon et al., 2010). Devido à ausência de flagelos, pensava-se inicialmente que as algas vermelhas representavam uma linhagem eucariota primitiva (Taylor, 1976), embora esta ideia não seja mais sustentável. Finalmente, os glaucófitos são um grupo exclusivamente unicelular, cujos plastos são, de modo intrigante, semelhantes a cianobactérias (Bhattacharya e Schmidt, 1997). Mais notável é o facto de que o plasto do glaucófito possui uma camada de peptidoglicano entre as membranas interna e externa, uma característica «primitiva» de tipo-bacteriano que não se observa nos plastos de quaisquer outras algas. De facto, Whatley et al. (1979) considera as «cianelas»¹¹ de algas anómalas, como [o glaucófito] *Cyanophora paradoxa*, formas transitórias entre as algas azuis de vida livre e os plastos. Os plastos das algas vermelhas e dos glaucófitos possuem clorofila *a* como pigmento fotossintético principal e, ao contrário dos plastos das algas verdes (e das plantas terrestres), têm ficobilissomas – antenas proteináceas captadoras de luz – semelhantes aos observados em muitas cianobactérias (Kim e Archibald, 2009).

Na década de 90 começaram a acumular-se dados de sequenciamento molecular de algas vermelhas, verdes e de glaucófitos, e com eles a oportunidade de abordar a questão da monofilia vs. polifilia dos plastos primários.

¹¹ Nome pelo qual são conhecidos os cloroplastos dos glaucófitos. (N. do T.)

Análises filogenéticas iniciais de rDNA plastidial e de genes de proteínas mostraram que as sequências dos três grupos formavam um grupo monofilético, com exceção das cianobactérias (Helmchen et al., 1995; Delwiche et al., 1995; Turner, 1997; Turner et al., 1999; Nelissen et al., 1995), como seria previsível caso os plastos dos três grupos tivessem evoluído numa única ocasião no ancestral comum. Análises filogenéticas do genoma completo mostram um retrato semelhante (por exemplo, Rodriguez-Ezpeleta et al., 2005), assim como as próprias estruturas dos genomas plastidiais. Em contraste com os genomas das cianobactérias conhecidas, que variam, em tamanho, de ~1,5 a ~7 mega pares de base (Mbp¹²), todos os genomas plastidiais das algas vermelhas, verdes e dos glaucófitos têm, no máximo, ~220 mil pares de base (Kbp¹³) em tamanho e têm, no máximo, ~250 genes de proteínas (Reith & Munholland, 1995; Löffelhardt et al., 1997; Glockner et al., 2000; Belanger et al., 2006; Kim & Archibald, 2009). Os plastos das algas vermelhas, verdes e/ou dos glaucófitos estão também ligados pela presença/ausência de um número de funcionalidades adicionais, incluindo agregados de genes conservados e proteínas do complexo captador de luz «hélice-volta-hélice» (este último é encontrado em algas vermelhas e verdes, mas não em glaucófitos ou em cianobactérias) (Stoebe & Kowallik, 1999; Durnford et al., 1999; Wolfe et al., 1995). Também foi encontrada uma subunidade específica da maquinaria de importação de proteínas plastidiais, a Tic110, nas três principais linhagens contendo plastos primários, mas não em cianobactérias, consistente com a possibilidade de que ele representa uma «invenção» pós-endossimbiótica (McFadden & van Dooren, 2004).

Significa isto então que os plastos evoluíram apenas uma única vez no ancestral comum das algas vermelhas, verdes e dos glaucófitos? Não necessariamente. Quando se trata de analisar a força dos dados habitualmente usados para apoiar uma única origem dos plastos, o diabo está nos detalhes¹⁴ (Larkum et al., 2007; Stiller, 2007; Kim & Archibald, 2009; Kim & Graham, 2008) e, de facto, tem vindo a ser considerada a possibilidade de uma evolução convergente da estrutura do genoma plastidial e da capacidade de codificação (Stiller et al., 2003). A grande maioria dos investigadores rejeitam a evolução convergente, por considerá-la uma explicação

¹² Em inglês, *Mega-base-pairs* (Mbp). (N. do T.)

¹³ Em inglês, *Kilo-base pairs* (Kbp). (N. do T.)

¹⁴ Em inglês, *the devil is in the details*. Trata-se de um provérbio que encontra correspondência na língua portuguesa embora a sua formulação mais vulgar seja «Deus está em toda a parte, mas o diabo está nos detalhes».

extremamente improvável, tendo em conta os dados de que se dispõe (ver Palmer [2003] para uma revisão detalhada), mas ela não deve ser rejeitada liminarmente. De qualquer forma, mesmo que os plastos *tenham* evoluído apenas uma única vez, isto não significa necessariamente que tal tivesse que ocorrer num ancestral comum das algas vermelhas, verdes e dos glaucófitos. Um teste importante consiste em determinar se a filogenia de ambos os componentes do hospedeiro e do endossimbionte das algas vermelhas, verdes e dos glaucófitos é congruente entre si. Isto revelou-se surpreendentemente difícil, mesmo na era do sequenciamento genómico completo e de conjuntos de dados contendo mais de 100 proteínas codificadas pelo núcleo.

Alguns autores estão confiantes de que as três linhagens contendo plastos primários são, de facto, parentes próximos uns dos outros, com excepção de todos os outros eucariotas (Moreira et al., 2000; Rodriguez-Ezpeleta et al., 2005; Burki et al., 2009; Burki et al., 2008; Patrono et al., 2007; Reyes-Prieto et al., 2007), sendo que a conclusão implícita ou explícita é a de que os plastos provavelmente evoluíram uma vez no seu ancestral comum. Com base nas análises de subconjuntos de dados, tais como as proteínas de evolução lenta, outros investigadores não encontram dados que apoiem a monofilia das algas vermelhas, verdes e dos glaucófitos, e têm chegado a conclusões diferentes (por exemplo, Stiller e Hall, 1997; Nozaki, 2005; Nozaki et al., 2007; Nozaki et al., 2009; Kim e Graham, 2008). Estas incluem a possibilidade de que os plastos primários evoluíram há muito mais tempo do que geralmente se pensa (por exemplo, Nozaki, 2005; Nozaki et al., 2007; Nozaki et al., 2009), ou que os plastos primários se moveram lateralmente pelo menos entre alguns grupos contendo plastos primários (Stiller, 2007; Stiller & Hall, 1997). Ambos os cenários poderiam explicar, em princípio, por que razão os genomas plastidiais suportam uma monofilia plastidial primária, mas os genomas nucleares não, mas diferem na medida em que a perda do plasto secundário deva ser invocada.

À medida que os conjuntos de dados moleculares continuarem a crescer, a questão da monofilia-polifilia dos plastos primários vai continuar a ser testada e re-testada. A escassez de dados de sequenciação disponíveis para as algas vermelhas e os glaucófitos tem sido um problema. Até muito recentemente o único genoma de uma alga vermelha completamente sequenciado era o do «extremófilo» *Cyanidioschyzon merolae*, um organismo com um reduzido genoma e um reduzido número de genes/proteínas que aparentam ser de rápida evolução (Matsuzaki et al., 2004). Felizmente,

foram publicados recentemente dados genómicos de duas linhagens de algas vermelhas adicionais. Através de uma abordagem filogenómica «gene-por-gene», Chan et al. obtiveram provas da «partilha exclusiva de genes» entre algas vermelhas e algas verdes, levando assim os autores a concluir que estes organismos podem, de facto, ser monofiléticos (Chan et al., 2011). Não está ainda disponível para comparação uma sequência completa do genoma nuclear dos glaucófitos, mas será sem dúvida um contributo útil para o conjunto de dados filogenómicos.

A ideia de que a endossimbiose entre dois eucariotas pode explicar a incongruência entre os plastos e os seus hospedeiros acompanha-nos há já vários anos (Tomas & Cox, 1973; Lee, 1977; Taylor, 1974; Gibbs, 1978). Ao rever um manuscrito, em 1977, sobre a mitose em *Euglena*, uma alga com plastos contendo clorofila *a + b*, Gibbs «...percebeu subitamente que a *Euglena* não estava de todo relacionada com as algas verdes. Ela só as comia ao jantar. Provavelmente muitas vezes, uma vez que muitos euglenóides são fagotróficos, mas pelo menos uma vez uma alga verde deve ter escapado à digestão e estabeleceu-se como um endossimbionte permanente, como a alga verde [ciliada] *Paramecium bursaria* hoje... Eu sabia que [a endossimbiose secundária] tinha de ser verdade. Ela explicava demasiadas coisas para não ser verdade» (Gibbs, 2006).

Entre outras coisas, o que a endossimbiose secundária explicou foi por que razão tantas algas possuem membranas adicionais em torno dos seus plastos, num total de três membranas, no caso da *Euglena*, e de quatro membranas, em heterocontes como *Ochromonas* (Gould et al., 2008). Estas membranas «extra», que surgem sobre as duas membranas que rodeiam os plastos primários, são uma consequência natural do processo pelo qual os organitos foram obtidos, ou seja, por fagocitose eucariótica. *Euglena* é agora conhecida por ser um dos dois grupos de algas que adquiriram a fotossíntese secundariamente por incorporação endossimbiótica de uma alga verde, sendo o outro grupo os cloracniófitos. Juntamente com os criptófitos, que são algas com plastos derivados de algas vermelhas, os cloracniófitos são de particular interesse uma vez que contêm o que tem sido referido como a prova incontestável¹⁵ da endossimbiose secundária, isto é, o nucleomorfo. Identificado pela primeira vez na década de 70 (Greenwood, 1974; Greenwood et al., 1977) e 80 (Hibberd & Norris, 1984), os nucleomorfos foram intensamente estudados nos anos seguintes por Gibbs, Hansmann,

¹⁵ Em inglês, *the smoking gun*. (N. do T.)

Maier, McFadden e colegas (Gillott & Gibbs, 1980; Ludwig & Gibbs, 1985; Hansmann & Eschbach, 1991; Hansmann et al., 1985; Gilson & McFadden, 1995; Maier et al., 1991; Rensing et al., 1994). Os nucleomorfos são agora conhecidos por serem remanescentes de núcleos de algas, com uma capacidade de codificação muito reduzida (Archibald 2007; Moore & Archibald, 2009). A análise dos genes que ali permanecem demonstra que, para além de qualquer dúvida, o nucleomorfo dos criptófitos (e os plastos) tem origem nas algas vermelhas (Douglas & Penny, 1999; Douglas et al., 2001; Lane et al., 2007; Tanifuji et al., 2011) enquanto o nucleomorfo dos clorarachniófitos deriva de um endossimbionte das algas verdes (Gilson et al., 2006; Rogers et al., 2007).

Dado que os criptófitos e os clorarachniófitos são as únicas duas linhagens de algas conhecidas contendo um nucleomorfo, pode haver a tentação de se considerar a endossimbiose secundária como uma curiosa exceção em vez de uma regra na evolução dos plastos. A verdade é que muitos grupos de algas têm plastos secundários derivados de algas vermelhas, incluindo os haptófitos, muitos heterocontes e alguns dinoflagelados, grupos altamente diversificados e ecologicamente significativos (Archibald, 2009; Bhattacharya et al., 2003; Keeling, 2010; Reyes-Prieto et al., 2007). Mesmo o parasita da malária, o *Plasmodium*, tem um plasto remanescente com origem provável nas algas vermelhas (Roos et al., 1999; Waller & McFadden, 2005). Na ausência de um nucleomorfo, a endossimbiose secundária é invocada em casos onde o plasto possui membranas adicionais, onde as vias de importação de proteínas plastidiais diferem daquelas encontradas em plastos primários e onde as filogenias dos plastos e do hospedeiro são incongruentes. A endossimbiose terciária também pode ocorrer. Neste caso, um organismo contendo um plasto secundário é ingerido por outro eucariota, que pode ou não ser fotossintético. Os exemplos mais conhecidos são os dinoflagelados, onde os plastos terciários de origem heterocontes, haptófita e criptófita têm sido descritos (ver (Hackett et al., 2004) e as referências aí contidas para uma revisão mais esclarecedora). Dada esta complexidade, do tipo boneca russa, não é surpreendente que haja uma divergência de opiniões quanto ao tempo e modo das endossimbioses secundária e terciária.

As hipóteses para a evolução dos plastos derivados de algas vermelhas são de dois tipos gerais. Alguns investigadores invocam, sem problema de maior, tantos eventos independentes de endossimbiose secundária e terciária quantos os necessários para dar conta da distribuição «pontuada» de plastos secundários e terciários na árvore eucariótica. Outros trabalham sob

a hipótese de que as endossimbioses secundária e terciária são, do ponto de vista genético e celular, muito complicadas, e optam por cenários em que tais eventos são pouco invocados. Um exemplo deste último tipo é a hipótese cromalveolado de Cavalier-Smith (1999), que postula que todos os plastos secundários derivados de algas vermelhas conhecidos são produto de um evento endossimbiótico único e antigo ocorrido num ancestral comum partilhado pelos «cromistas» (criptófitos, heterocontes e haptófitos) e pelos alveolados (ciliados, dinoflagelados e apicomplexa). A hipótese é controversa, pois exige que os plastos tenham sido perdidos em numerosas ocasiões nos taxa «cromalveolados», incluindo todos os ciliados conhecidos e muitos dinoflagelados, heterocontes e apicomplexa. As provas a favor e contra a hipótese cromalveolado são variadas e complexas. Vários artigos de revisão recentes abordam este problema (Sanchez Puerta & Delwiche, 2008; Keeling, 2009; Archibald, 2009; Boudry, 2005; Reyes-Prieto et al., 2007). Basta dizer que as questões fundamentais na área da evolução dos plastos secundários e terciários são semelhantes às dos plastos primários. Em que medida as filogenias do hospedeiro são congruentes com as filogenias do plasto? Pode-se perder os plastos? Se assim for, quão comum é este fenómeno? De que forma os vários tipos de dados – filogenéticos, genómicos, bioquímicos, ultraestruturais – devem ser ponderados uns em relação aos outros? Não há respostas fáceis, mas também não há falta de dados para analisar.

7. Simbiose

De parasitismos ocasionais a íntimos parasitismos obrigatórios, as inter-relações entre organismos têm sido objecto de muitos estudos; ainda há poucos que tenham à sua disposição detalhes genéticos, fisiológicos e bioquímicos. No entanto, se a tese apresentada neste livro estiver correcta, é a ciência da citologia bioquímica que gera, em última análise, as informações mais detalhadas sobre os componentes essenciais das relações simbióticas – em particular, a simbiose intracelular hereditária. (Margulis, 1970, p.145)

Em *Origem das Células Eucarióticas*, Margulis dedicou mais de 30 páginas ao tópico da simbiose. O seu objectivo não era tanto fazer um balanço exaustivo de sistemas mais bem estudados, como é o caso dos líquenes (simbiose entre algas e fungos) e das partículas «kappa» (endossimbiontes bacterianos) de ciliados, mas sim enfatizar a importância de considerá-los como janelas para o passado, modelos de como os organitos eucarióticos poderiam ter evoluído por endossimbiose. No caso do ciliado *Paramecium bursaria* e da alga que

com ele vive em endossimbiose (Karakashian et al., 1968), Margulis afirmou que «...a diferença entre estas paramécias verdes e o típico sistema hereditário citoplasmático do cloroplasto em flagelados fotossintéticos é meramente quantitativa» (Margulis, 1970). O nosso conhecimento sobre a base genética da transição de endossimbionte para organito é tremendamente superior ao que era em 1970. Nesta secção sumário estes avanços, no contexto de vários exemplos de «endossimbiose em acção» vigorosamente explorados, incluindo os «cromatóforos» fotossintéticos recentemente evoluídos da ameba *Paulinella*, os «endossimbionte» fixadores de azoto da diatomácea *Rhopalodia*, e o fenómeno de cleptoplastia em lesmas-do-mar. Em cada caso, a biologia molecular e a genómica comparativa provaram ser ferramentas poderosas.

Primeiro, é importante considerar a forma como é definido um organito. Para efeitos desta revisão, devo limitar a discussão a entidades delimitadas por membrana de origem endossimbiótica. Há, literalmente, «centenas de exemplos de simbioses documentadas» (Margulis, 1970), desde temporárias a permanentes e em toda parte, mas em que momento um endossimbionte realmente se torna num organito? A partir do estudo de mitocôndrias, plastos e nucleomorfos sabemos que a transferência de genes do endossimbionte para o hospedeiro, ou a transferência endossimbiótica de genes (EGT¹⁶), desempenha um papel importante na evolução de um organito, reduzindo assim a capacidade de codificação do seu genoma e, em alguns casos, eliminando-o integralmente (Kleine et al., 2009; Moore & Archibald, 2009; Timmis et al., 2004). No entanto, Cavalier-Smith e Lee (1985), e mais recentemente Theissen e Martin (2006), chamaram a atenção para o facto de que a EGT é apenas parte da história. «Tal transferência de genes tem um valor nulo para a célula e não permitirá a perda dos genes correspondentes do genoma do simbionte, a menos que também aí se verifique a evolução de um novo e específico sistema de translocação de proteínas para o transporte de proteínas codificadas por tais genes transferidos (e produzidas pelos ribossomas citoplasmáticos) de volta para o local de função no organito» (Cavalier-Smith e Lee, 1985). A existência de um complexo de importação de proteínas competente pode ser considerada a característica que define um organito (Cavalier-Smith e Lee, 1985; Cavalier-Smith, 2007; Theissen e Martin, 2006).

A questão endossimbionte vs. organito assumiu especial relevo num debate recente sobre o que chamar aos «cromatóforos» azuis que residem no

¹⁶ Em inglês, *Endosymbiotic Gene Transfer*. (N. do T.)

citoplasma da ameba *Paulinella chromatophora*. Relacionada com os cloracariófitos e os foraminíferos, *P. chromatophora* foi descoberta em 1894 pelo alemão Robert Lauterborn (1869-1952), que ficou claramente impressionado com o que viu (Lauterborn 1895; Melkonian & Mollenhauer 2005). Cada célula de *P. chromatophora* tem originalmente um ou dois cromatóforos, obrigatórios, dividindo-se sincronicamente com o hospedeiro e cujas semelhanças com cianobactérias de vida livre são surpreendentes (Hoogenraad, 1927; Johnson et al., 1988; Kies, 1974). O que foram eles? Investigações moleculares sobre *P. chromatophora* e seus cromatóforos azuis forneceram respostas satisfatórias para muitas das perguntas iniciais.

Mais fundamentalmente, tornou-se claro que os cromatóforos de *P. chromatophora* não são plastos, pelo menos não no seu sentido estrito. Análises filogenéticas iniciais da SSU rRNA mostraram estarem especificamente relacionados com uma sub-linhagem particular de cianobactérias, o grupo *Synechococcus/Prochlorococcus*, distinto dos plastos canônicos (Marin et al., 2005; Yoon et al., 2006). O genoma dos cromatóforos foi completamente sequenciado por Nowack et al. em 2008. Com ~1 Mbp e um número estimado de 867 genes de proteínas, é significativamente maior do que qualquer genoma plastidial conhecido, mas também muito reduzido em comparação com *Synechococcus* (Nowack et al., 2008). Características proeminentes do genoma incluem a existência de um grande conjunto de genes dedicados à fotossíntese e uma escassez de genes para os transportadores de membrana e certas vias biossintéticas. Tais genes estão muitas vezes ausentes em endossimbiontes bacterianos obrigatórios (Moran, 2002).

Um passo importante para a compreensão do significado evolutivo de *P. chromatophora* foi a demonstração de EGT do cromatóforo para o núcleo do hospedeiro. Nakayama e Ishida (2009) mostraram que o genoma nuclear de *P. chromatophora* possui *psaE*, um gene cianobacteriano, o qual codifica uma importante subunidade do fotossistema I. Análises posteriores revelaram a existência de um péptido de sinal N-terminal na proteína *psaE* semelhante à usada por células eucarióticas na inserção de proteínas no retículo endoplasmático por co-tradução (Maluf & Bodyl, 2010). Tendo vasculhado, com sucesso, o genoma do cromatóforo, em busca de componentes proteicos translocados previamente não reconhecidos, Bodyl e Maluf construíram um fascinante caso para a existência de um autêntico aparelho de importação de proteínas de cromatóforos, com ambas as características eucarióticas e cianobacterianas (Bodyl et al., 2010; Maluf & Bodyl, 2010). O sequenciamento transcriptômico dos produtos de genes nucleares a partir de duas

espécies diferentes de *Paulinella* revelaram que *psaE* não é de forma alguma um caso isolado, havendo talvez 100 genes derivados de cromatóforos a residirem no genoma nuclear (Nowack et al., 2011; Reyes-Prieto et al., 2010). É claro que a importação de proteínas necessita de ser ainda mais explorada, mas é possível que os cromatóforos de *Paulinella* venham a ser considerados organitos *bona fide*. Compreender em que extensão os detalhes do seu percurso evolutivo espelham aqueles inferidos para a evolução dos plastos primários é, sem dúvida, uma importante área de investigação futura.

A(s) razão(ões) por que existe uma determinada relação hospedeiro-simbionte é muitas vezes difícil de discernir. Um exemplo, inicialmente descrito por Drum e Pankratz (1965) e Geitler (1977), é o dos endossimbiontes cianobacterianos da diatomácea de água doce *Rhopalodia*. Ao contrário de *Pachromatophora*, que era, sem dúvida, um heterotrofo na altura em que capturou os seus cromatóforos, as diatomáceas contêm plastos secundários derivados de algas vermelhas (Reyes-Prieto et al., 2007) e eram já, portanto, fotossintéticas. Por conseguinte, não é imediatamente óbvio o porquê da *Rhopalodia* «precisar» de um endossimbionte fotossintético. Verifica-se que os «corpos esféricos» de *R. gibba*, que residem dentro de vacúolos citoplasmáticos, deixaram de ser fotossintéticos. Em vez disso, fixam azoto, uma competência herdada de *Cyanothea*, a partir do qual sabe-se hoje terem evoluído (Precht et al., 2004) e que representa um benefício considerável para a diatomácea hospedeira. A questão endossimbionte vs. organito não foi ainda esclarecida, mas é interessante que o sequenciamento parcial do genoma do corpo esférico da *R. gibba* tenha revelado restos de genes para a fotossíntese, além de um conjunto completo de enzimas fixadoras de azoto (Kneipe et al., 2008). Embora claramente obrigatória, a relação hospedeiro-endossimbionte em *Rhopalodia* parece ter evoluído muito recentemente. Nowack e Melkonian (2010) fornecem uma visão abrangente destes e de outros exemplos igualmente interessantes de associações endossimbióticas nos protistas.

Finalmente, embora esta revisão se tenha concentrado sobre a génese de organitos em microorganismos, importa referir que a investigação de simbioses envolvendo animais como hospedeiros continua em ritmo acelerado. Um exemplo fascinante é o caso dos simbioses nutricionais de insectos, conhecidos pelos seus reduzidos genomas e a sua capacidade de «suplementar» a dieta, limitada em nutrientes, dos seus hospedeiros com alimentação vital (Moran et al., 2008). Dois genomas de simbioses recentemente sequenciados situaram-se bem abaixo do limite inferior que era considerado

necessário para sustentar vida celular. Com ~160Kbp e ~144Kbp, respectivamente, os genomas de *Carsonella ruddii* (um simbiote γ -proteobacteriano dos piolhos de planta; Nakabachi et al., 2006) e *Hodgkinia cicadicola* (um simbiote α -proteobacteriano da cigarra cantora; McCutcheon et al., 2009) são menores e menos ricos em genes do que muitos genomas mitocondriais e plastidiais. Apesar das especulações iniciais (Nakabachi et al., 2006; Andersson, 2006), a transferência de genes do simbiote para o hospedeiro não parece ser um factor significativo na explicação de como estes organismos persistem (Nikoh et al., 2010). «Parece razoável que a resposta esteja numa complexa associação de metabolitos, proteínas e/ou importação de RNA com pequenos incrementos e inesperadas co-adaptações com perda de genes. Não vai ser fácil desembaraçar esta rede...» (McCutcheon, 2010).

A transferência de genes também parece ser uma explicação insuficiente para a persistência, a longo prazo, da «cleptoplastia» em lesmas-do-mar fotossintéticas. Determinados moluscos sacoglossanos, como *Elysia chlorotica*, roubam plastos de algas que predam. Os juvenis de *E. chlorotica* alimentam-se de algas heterocontes, pertencentes ao género *Vaucheria*, sequestram os seus plastos – e apenas os plastos – no interior do seu aparelho digestivo, vivendo fotoautotroficamente o resto das suas vidas (até cerca de 10 meses) (Rumpho et al., 2011). Como é que isto é possível? O plasto da espécie *V. litorea* tem um genoma «normal» de ~115Kbp em tamanho (Rumpho et al., 2008) e só se pode assumir que, como em todas as outras algas, depende dos produtos de centenas de proteínas codificadas pelo núcleo necessárias à manutenção da função plastidial (McFadden, 1999).

Gerou-se, pois, um grande entusiasmo em torno da possibilidade de que a transferência de genes do núcleo da alga para o núcleo da lesma proporcionava pelo menos algumas das proteínas «em falta». Dados iniciais foram consistentes com essa possibilidade (Pierce et al., 2007; Rumpho et al., 2008), mas um sequenciamento mais recente do transcriptoma e do genoma de *E. chlorotica* e de outros sacoglossanos não detectou no núcleo da lesma genes relacionados com a fotossíntese e derivados da alga ([Rumpho et al., 2011; Wägele et al., 2011], mas ver também [Schwartz et al., 2010]). «Concluimos que estas proteínas plastidiais essenciais não são de todo fornecidas pela lesma. Pelo contrário, as lesmas mantêm a longa vida dos seus plastos sem o auxílio de genes nucleares da alga...» (Wägele et al., 2011). Juntamente com os simbioss de insectos ultra-reduzidos, discutidos anteriormente, este exemplo serve para realçar o poder da genómica comparativa e a necessidade de combiná-la com experimentação

ao nível bioquímico e celular, caso se pretenda que sejam feitos avanços fundamentais.

8. Epílogo: evolução celular [na idade da Genómica e da Metagenómica]

Embora o Fanerozóico tenha inaugurado a Idade do Organismo, esta só foi possível porque ocorreu antes a Idade Pré-Câmbrica da Célula, que durou um longo período de tempo, a maior fracção da história da vida no nosso planeta. (1970, Margulis, p.299)

O capítulo final de Margulis centrou-se no problema da especiação em eucariotas multicelulares. Como a citação acima referida esclarece, que é a frase final de *Origem das Células Eucarióticas*, a autora procurou realçar a importância da teoria simbiótica como um enquadramento que torna possível a compreensão de *todos* os aspectos da evolução celular mais avançada, desde a poliploidia em plantas até ao desenvolvimento de tecidos em animais. Tal como em 1970, o facto da maior parte da biodiversidade na Terra ser microbiana é algo que cai frequentemente em ouvidos moucos. No entanto, alimentado por um fluxo interminável de desenvolvimentos tecnológicos, a investigação sobre a evolução celular está a avançar por novos e excitantes caminhos na intersecção da genómica, biologia celular, biologia molecular, bioquímica e microbiologia. Pode argumentar-se que a área da genómica comparativa foi uma consequência previsível e inevitável dos avanços da sequenciação de DNA. Porém, uma avenida de investigação que teria sido difícil de prever é a genómica ambiental ou «metagenómica», a análise independente de cultura¹⁷ de comunidades microbianas e seus genomas (Simon & Daniel, 2011; Tringe & Rubin, 2005). Esta abordagem tomou inicialmente a forma de «PCR ambiental», segundo a qual uma «comunidade» de DNA era interrogada em toda a sua totalidade com o objectivo de fazer a pergunta «quem está aí?» (Stahl et al., 1985). Progrediu rapidamente para o «sequenciamento *shotgun*» de ambientes (Venter et al., 2004; Tyson et al., 2004). A extensão da diversidade genética de procariotas e eucariotas, revelada pela metagenómica, tem sido de tirar o fôlego. Combinada com a «próxima geração» de sequenciamento de DNA, citometria de fluxo e técnicas de amplificação do genoma de uma única célula, é impossível prever de que modo as análises moleculares independentes de cultura do mundo natural

¹⁷ Também conhecidos como «métodos *in situ*». (N. do T.)

irão ter impacto nas actuais perspectivas sobre a evolução das células eucarióticas e seus organitos. Como sempre, o desafio consiste na sintetização de toda a informação obtida de diferentes linhas de investigação numa única imagem coerente. Uma mensagem fundamental inerente a todas as obras de Margulis consiste em lembrar-nos de onde viemos e como chegámos até aqui. «O oxigénio que respiramos entra no cérebro através da nossa corrente sanguínea e é metabolizado incessantemente pelas mitocôndrias, que sabemos serem antigas bactérias respiratórias. Estejam ou não larvas de espiroquetas no âmago do nosso ser, continuamos a ser seres simbióticos num planeta simbiótico» (Margulis, 1998).

Agradecimentos: Agradeço muito sinceramente a Michael Gray e a Ford Doolittle, em cujos laboratórios foram obtidos alguns dos primeiros dados moleculares que apoiam a hipótese endossimbiótica para a origem dos plastos e das mitocôndrias, pela discussão e pelo apoio. Agradeço a Andrew Roger, Cleverson Kim e aos dois revisores anónimos por terem feito comentários úteis sobre uma versão anterior deste manuscrito, e a Geoff McFadden e Robert W. Lee pela discussão sobre a literatura acerca da simbiose. Erros factuais relativos à extensa literatura sobre a história da investigação em simbiose e a evolução de plastos e mitocôndrias devem ser atribuídos exclusivamente ao autor. A investigação no laboratório de Archibald é suportada por subvenções do Conselho de Investigação em Engenharia e Ciências Naturais do Canadá, dos Institutos Canadianos de Investigação em Saúde (CIHR) e do Centro de Genómica Comparativa e Bioinformática Evolutiva da Universidade de Dalhousie. Agradeço também o apoio financeiro do Instituto Canadiano para a Investigação Avançada (CIFAR), Programa em Biodiversidade Microbiana Integrada, bem como o apoio salarial sob a forma de Prémio Novo Investigador dos CIHR.

Referências

- Allsopp A (1969), Phylogenetic relationships of the procaryotes and the origin of the eucaryotic cell. *New Phytol* 68:591-612.
- Andersson SG (2006), Genetics. The bacterial world gets smaller. *Science* 314:259-260.
- Archibald JM (2007), Nucleomorph genomes: structure, function, origin and evolution. *Bioessays* 29:392-402.
- Archibald JM (2009), The puzzle of plastid evolution. *Curr Biol* 19: R81-R88.
- Baldauf SL, Roger AJ, Wenk-Siefert I, Doolittle WF (2000), A kingdom-level phylogeny of eukaryotes based on combined protein data. *Science* 290:972-977.
- Barberà MJ, Ruiz-Trillo I, Leigh J, Hug LA, Roger AJ (2007), The diversity of mitochondrion-related organelles amongst eukaryotic microbes. In: Martin WF, Müller M (eds), *Origin of mitochondria and hydrogenosomes*. Springer,

- Berlin, pp.239-275.
- Belanger AS, Brouard JS, Charlebois P, Otis C, Lemieux C, Turmel M (2006), Distinctive architecture of the chloroplast genome in the chlorophycean green alga *Stigeoclonium helveticum*. *Mol Gen and Genom* 276:464-477.
- Bhattacharya D, Schmidt HA (1997), Division glaucocystophyta. In: Bhattacharya D (ed), *Origin of algae and their plastids*. Springer, Wein, pp.139-148.
- Bhattacharya D, Yoon HS, Hackett JD (2003), Photosynthetic eukaryotes unite: endosymbiosis connects the dots. *Bioessays* 26:50-60.
- Bodl A (2005), Do plastid-related characters support the chromalveolate hypothesis? *J Phycol* 41:712-719.
- Bodl A, Mackiewicz P, Stiller JW (2010), Comparative genomic studies suggest that the cyanobacterial endosymbionts of the amoeba *Paulinella chromatophora* possess an import apparatus for nuclear-encoded proteins. *Plant Biol (Stuttg)*, 12:639-649.
- Bonen L, Doolittle WF (1975), On the prokaryotic nature of red algal chloroplasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 72:2310-2314.
- Bonen L, Doolittle WF (1976), Partial sequences of 16S rRNA and the phylogeny of blue-green algae and chloroplasts. *Nature* 261:669-673.
- Bonen L, Cunningham RS, Gray MW, Doolittle WF (1977), Wheat embryo mitochondrial 18S ribosomal RNA: evidence for its prokaryotic nature. *Nucleic Acids Res* 4:663-671.
- Boxma B, de Graaf RM, van der Staay GW, van Alen TA, Ricard G, Gabaldon T, van Hoek AH, Moon-van der Staay SY, Koopman WJ, van Hellemond JJ, Tielens AG, Friedrich T, Veenhuis M, Huynen MA, Hackstein JH (2005), An anaerobic mitochondrion that produces hydrogen. *Nature* 434:74-79.
- Burki F, Shalchian-Tabrizi K, Pawlowski J (2008), Phylogenomics reveals a new 'megagroup' including most photosynthetic eukaryotes. *Biol Lett* 4:366-369. doi:10.1098/rsbl.2008.0224.
- Burki F, Inagaki Y, Brate J, Archibald JM, Keeling PJ, Cavalier-Smith T, Saka-guchi M, Hashimoto T, Horak A, Kuma K, Klaveness D, Jakobsen KS, Pawlowski J, Shalchian-Tabrizi K (2009), Large-scale phylogenomic analyses reveal that two enigmatic protist lineages, Telonemia and Centroheliozoa, are related to photosynthetic chromalveolates. *Genome Biol Evol* 1:231-238.
- Cavalier-Smith T (1975), The origin of nuclei and of eukaryotic cells. *Nature* 256:463-467.
- Cavalier-Smith T (1983a), A 6-kingdom classification and a unified phylogeny. In: Schwemmler W, Schenk JEA (eds), *Endocytobiology*. de Gruyter, Berlin,

- pp.1027-1034.
- Cavalier-Smith T (1983b), Endosymbiotic origin of the mitochondrial envelope. In: Schwemmler W, Schenk HEA (eds), *Endocytobiology II*. de Gruyter, Berlin, pp.265-279.
- Cavalier-Smith T (1987), Origin of eukaryote and archaeobacterial cells. *Ann NY Acad Sci* 504:17-54.
- Cavalier-Smith T (1999), Principles of protein and lipid targeting in secondary symbiogenesis: euglenoid, dinoflagellate, and sporozoan plastid origins and the eukaryote family tree. *J Eukaryot Microbiol* 46:347-366.
- Cavalier-Smith T (2007), The chimaeric origin of mitochondria: photosynthetic cell enslavement, gene-transfer pressure, and compartmentation efficiency. In: Martin WF, Müller M (eds), *Origin of mitochondria and hydrogenosomes*. Springer, Berlin, pp.161-199.
- Cavalier-Smith T (2010), Origin of the cell nucleus, mitosis and sex: roles of intracellular coevolution. *Biol Direct* 5:7.
- Cavalier-Smith T, Lee JJ (1985), Protozoa as hosts for endosymbioses and the conversion of symbionts into organelles. *J Protozool* 32:376-379.
- Chan CX, Yang EC, Banerjee T, Yoon HS, Martone PT, Estevez JM, Bhattacharya D (2011), Red and green algal monophyly and extensive gene sharing found in a rich repertoire of red algal genes. *Curr Biol* 21:328-333.
- Clark CG, Roger AJ (1995), Direct evidence for secondary loss of mitochondria in *Entamoeba histolytica*. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:6518-6521.
- Curtis BA, Archibald JM (2010), Problems and progress in understanding the origins of mitochondria and plastids. In: Seckbach J, Grube M (eds), *Symbioses and stress*. Springer, Germany, pp.41-62.
- Dacks JB, Doolittle WF (2001), Reconstructing/deconstructing the earliest eukaryotes: how comparative genomics can help. *Cell* 107:419-425.
- Dagan T, Martin W (2007), Testing hypotheses without considering predictions. *Bioessays* 29:500-503.
- de Duve C (1969), Evolution of the peroxisome. *Ann NY Acad Sci USA* 168:369-381.
- Delwiche CF (1999), Tracing the thread of plastid diversity through the tapestry of life. *Am Nat* 154(Supplement):S164-S177.
- Delwiche CF, Kuhse M, Palmer JD (1995), Phylogenetic analysis of *tufA* sequences indicates a cyanobacterial origin of all plastids. *Mol Phylogenet Evol* 4:110-128.
- Delwiche C, Andersen RA, Bhattacharya D, Mishler BD (2004), Algal evolution and the early radiation of green plants. In: Cracraft J, Donoghue MJ (eds),

- Assembling the tree of life. Oxford University Press, New York, pp.121-137.
- Doolittle WF (1980), Revolutionary concepts in evolutionary biology. *Trends Biochem Sci* 5:146-149.
- Douglas SE, Penny SL (1999), The plastid genome of the cryptophyte alga, *Guillardia theta*: complete sequence and conserved syntenic groups confirm its common ancestry with red algae. *J Mol Evol* 48:236-244.
- Douglas SE, Zauner S, Fraunholz M, Beaton M, Penny S, Deng L, Wu X, Reith M, Cavalier-Smith T, Maier U-G (2001), The highly reduced genome of an enslaved algal nucleus. *Nature* 410:1091-1096.
- Drum RW, Pankratz S (1965), Fine structure of an unusual cytoplasmic inclusion in the diatom genus *Rhopalodia*. *Protoplasma* 60:141-149.
- Durnford DG, Deane JA, Tan S, McFadden GI, Gantt E, Green BR (1999), A phylogenetic assessment of the eukaryotic light-harvesting antenna proteins, with implications for plastid evolution. *J Mol Evol* 48:59-68.
- Edlind TD, Li J, Visvesvara GS, Vodkin MH, McLaughlin GL, Katiyar SK (1996), Phylogenetic analysis of beta-tubulin sequences from amitochondrial protozoa. *Mol Phylogenet Evol* 5:359-367.
- Embley TM, Martin W (2006), Eukaryotic evolution, changes and challenges. *Nature* 440:623-630.
- Embley TM, van der Giezen M, Horner DS, Dyal PL, Foster PG (2002), Mitochondria and hydrogenosomes are two forms of the same fundamental organelle. *Royal Soc London Series B* 358:191-203.
- Embley TM, van der Giezen M, Horner DS, Dyal PL, Bell S, Foster PG (2003), Hydrogenosomes, mitochondria and early eukaryotic evolution. *IUBMB Life* 55:387-395.
- Geitler L (1977), Life history of the Epithemiaceae *Epithemia*, *Rhopalodia* and *Denticula* (Diatomophyceae) and their presumable symbiotic spheroid bodies. *Plant Syst Evol* 128:259-275.
- Gibbs SP (1978), The chloroplasts of *Euglena* may have evolved from symbiotic green algae. *Can J Bot* 56:2883-2889.
- Gibbs SP (2006), Looking at life: from binoculars to the electron microscope. *Annu Rev Plant Biol* 57:1-17.
- Gillott MA, Gibbs SP (1980), The cryptomonad nucleomorph: its ultrastructure and evolutionary significance. *J Phycol* 16:558-568.
- Gilson P, McFadden GI (1995), The chlorarachniophyte: a cell with two different nuclei and two different telomeres. *Chromosoma* 103:635-641.
- Gilson PR, Su V, Slamovits CH, Reith ME, Keeling PJ, McFadden GI (2006), Complete nucleotide sequence of the chlorarachniophyte nucleomorph:

- nature's smallest nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:9566-9571.
- Glockner G, Rosenthal A, Valentin K (2000), The structure and gene repertoire of an ancient red algal plastid genome. *J Mol Evol* 51:382-390.
- Gokösy J (1967), Evolution of eucaryotic cells. *Nature* 214:1161.
- Goldberg AV, Molik S, Tsaousis AD, Neumann K, Kuhnke G, Delbac F, Vivares CP, Hirt RP, Lill R, Embley TM (2008), Localization and functionality of microsporidian iron-sulphur cluster assembly proteins. *Nature* 452:624-629.
- Gould SB, Waller RE, McFadden GI (2008), Plastid evolution. *Annu Rev Plant Biol* 59:491-517.
- Gray MW (1992), The endosymbiont hypothesis revisited. *Int Rev Cytol* 141:233-357.
- Gray MW, Doolittle WF (1982), Has the endosymbiont hypothesis been proven? *Microbiol Rev* 46:1-42.
- Gray MW, Burger G, Lang BF (1999), Mitochondrial evolution. *Science* 283:1476-1481.
- Greenwood AD (1974), The Cryptophyta in relation to phylogeny and photosynthesis. *Proc 8th Int Congr Electron Microsc* 2:566-567.
- Greenwood AD, Griffiths HB, Santore UJ (1977), Chloroplasts and cell compartments in *Cryptophyceae*. *Brit Phycol J* 12:119.
- Hackett JD, Anderson DM, Erdner DL, Bhattacharya D (2004), Dinoflagellates: a remarkable evolutionary experiment. *Am J Bot* 91:1523-1534.
- Hampel V, Hug L, Leigh JW, Dacks JB, Lang BF, Simpson AG, Roger AJ (2009), Phylogenomic analyses support the monophyly of Excavata and resolve relationships among eukaryotic «supergroups». *Proc Natl Acad Sci USA* 106:3859-3864.
- Hansmann P, Eschbach S (1991), Isolation and preliminary characterization of the nucleus and the nucleomorph of a cryptomonad, *Pyrenomonas salina*. *Europ J Cell Biol* 52:373-378.
- Hansmann P, Falk H, Sitte P (1985), DNA in the nucleomorph of *Cryptomonas* demonstrated by DAPI fluorescence. *Zeitschrift für Naturforschung* 40c:933-935.
- Hashimoto T, Nakamura Y, Kamaishi T, Hasegawa M (1997), Early evolution of eukaryotes inferred from the amino acid sequences of elongation factors 1a and 2. *Arch Protistenkd* 148:287-295.
- Helmchen TA, Bhattacharya D, Melkonian M (1995), Analyses of ribosomal RNA sequences from glaucocystophyte cyanelles provide new insights into the evolutionary relationships of plastids. *J Mol Evol* 41:203-210.
- Hibberd DJ, Norris RE (1984), Cytology and ultrastructure of *Chlorarachnion reptans* (Chlorarachniophyta divisio nova, Chlorarachniophyceae classis

- nova). *J Phycol* 20:310-330.
- Hirt RP, Healy B, Vossbrinck CR, Canning EU, Embley TM (1997), A mitochondrial Hsp70 orthologue in *Vairimorpha necatrix*: molecular evidence that microsporidia once contained mitochondria. *Curr Biol* 7:995-998.
- Hirt RP, Logsdon JM Jr, Healy B, Dorey MW, Doolittle WF, Embley TM (1999), Microsporidia are related to Fungi: evidence from the largest subunit of RNA polymerase II and other proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:580-585.
- Hjort K, Goldberg AV, Tsaousis AD, Hirt RP, Embley TM (2010), Diversity and reductive evolution of mitochondria among microbial eukaryotes. *Phil Trans R Soc B* 365:713-727.
- Hoogenraad HR (1927), Zur Kenntnis der Fortpflanzung von *Paulinella chromatophora* Lauterb. *Zool Anz* 72:140-150.
- Hug LA, Stechmann A, Roger AJ (2010), Phylogenetic distributions and histories of proteins involved in anaerobic pyruvate metabolism in eukaryotes. *Mol Biol Evol* 27:311-324.
- John P, Whatley FR (1975), *Paracoccus denitrificans* and the evolutionary origin of the mitochondrion. *Nature* 254:495-498.
- Johnson PW, Hargraves PE, Sieburth JM (1988), Ultrastructure and ecology of *Calycomonas ovalis* Wulff, 1919, (Chrysophyceae) and its redescription as a testate rhizopod, *Paulinella ovalis* n. comb. (Filosea: Euglyphina). *J Protozool* 35:618-626.
- Karakashian SJ, Karakashian M, Rudzinska M (1968), Electron microscopic observations on the symbiosis of *Paramecium bursaria* and its intracellular algae. *J Protozool* 15:113-128.
- Katinka MD, Duprat S, Cornillot E, Metenier G, Thomarat F, Prensier G, Barbe V, Peyretailade E, Brottier P, Wincker P, Delbac F, El Alaoui H, Peyret P, Saurin W, Gouy M, Weissenbach J, Vivares CP (2001), Genome sequence and gene compaction of the eukaryote parasite *Encephalitozoon cuniculi*. *Nature* 414:450-453.
- Keeling PJ (2009), Chromalveolates and the evolution of plastids by secondary endosymbiosis. *J Eukaryot Microbiol* 56:1-8.
- Keeling PJ (2010), The endosymbiotic origin, diversification and fate of plastids. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365:729-748.
- Keeling PJ, Doolittle WF (1996), Alpha-tubulin from early-diverging eukaryotic lineages and the evolution of the tubulin family. *Mol Biol Evol* 13:1297-1305.
- Keeling PJ, Slamovits CH (2004), Simplicity and complexity of microsporidian genomes. *Eukaryot Cell* 3:1363-1369.
- Keeling PJ, Luker MA, Palmer JD (2000), Evidence from beta-tubulin phylogeny

- that microsporidia evolved from within the fungi. *Mol Biol Evol* 17:23-31.
- Khakhina L (1979), Concepts of symbiogenesis: a historical and critical study of the research of Russian Botanists (trans: Merkel S, Coalson R). Yale University Press.
- Kies L (1974), Electron microscopical investigations on *Paulinella chromatophora* Lauterborn, a thecamoeba containing blue-green endosymbionts (Cyanelles) (author's transl). *Protoplasma* 80:69-89.
- Kim E, Archibald JM (2009), Diversity and evolution of plastids and their genomes. In: Aronsson H, Sandelius AS (eds), The chloroplast-interactions with the environment. Plant cell monographs. Springer, Berlin, pp.1-39.
- Kim E, Graham LE (2008), EE2 analysis challenges the monophyly of Archaeplastida and Chromalveolata. *PLoS One* 3:e2621.
- Klein RM (1970), Relationships between blue-green and red algae. *Ann NY Acad Sci* 175:623-632.
- Klein R, Cronquist A (1967), A consideration of the evolutionary and taxonomic significance of some biochemical, micromorphological and physiological characters in the Thallophytes. *Quart Rev Biol* 42:105-296.
- Kleine T, Maier UG, Leister D (2009), DNA transfer from organelles to the nucleus: the idiosyncratic genetics of endosymbiosis. *Annu Rev Plant Biol* 60:115-138.
- Kneip C, Voss C, Lockhart PJ, Maier UG (2008), The cyanobacterial endosymbiont of the unicellular algae *Rhopalodia gibba* shows reductive genome evolution. *BMC Evol Biol* 8:30.
- Koonin EV (2010a), The origin and early evolution of eukaryotes in the light of phylogenomics. *Genome Biol* 11:209.
- Koonin EV (2010b), Preview. The incredible expanding ancestor of eukaryotes. *Cell* 140:606-608.
- Kozo-Polyansky B (1924), Symbiogenesis: a new principle of evolution (trans: Fet V). Harvard University Press, Cambridge Massachusetts.
- Lane N, Martin W (2010), The energetics of genome complexity. *Nature* 467:929-934.
- Lane CE, van den Heuvel K, Kozera C, Curtis BA, Parsons B, Bowman S, Archibald JM (2007), Nucleomorph genome of *Hemiselmis andersenii* reveals complete intron loss and compaction as a driver of protein structure and function. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:19908-19913.
- Larkum AW, Lockhart PJ, Howe CJ (2007), Shopping for plastids. *Trends Plant Sci* 12:189-195.
- Lauterborn R (1895), Protozoenstudien II. *Paulinella chromatophora* nov. gen.,

- nov. spec., ein beschalter Rhizopode des Süßwassers mit blaugrünen chromatophorenartigen Einschlüssen. *Z Wiss Zool* 59:537-544.
- Lee RE (1977), Evolution of algal flagellates with chloroplast endoplasmic reticulum from the ciliates. *South Afr J Sci* 73:179-182.
- Leipe DD, Gunderson JH, Nerad TA, Sogin ML (1993), Small subunit ribosomal RNA+ of *Hexamita inflata* and the quest for the first branch in the eukaryotic tree. *Mol Biochem Parasitol* 59:41-48.
- Lewis LA, McCourt RM (2004), Green algae and the origin of land plants. *Am J Bot* 91:1535-1556.
- Li J, Katiyar SK, Hamelin A, Visvesvara GS (1996), Tubulin genes from AIDS-associated microsporidia and implications for phylogeny and benzimidazole sensitivity. *Mol Biochem Parasitol* 78:289-295.
- Lindmark DG, Müller M (1973), Hydrogenosome, a cytoplasmic organelle of the anaerobic flagellate *Tritrichomonas foetus*, and its role in pyruvate metabolism. *J Biol Chem* 248:7724-7728.
- Löffelhardt W, Bohnert HJ, Bryant DA (1997), The complete sequence of the *Cyanophora paradoxa* cyanelle genome. In: Bhattacharya D (ed), Origins of Algae and their Plastids. Springer, Wein, pp.142-162.
- Ludwig M, Gibbs SP (1985), DNA is present in the nucleomorph of cryptomonads: further evidence that the chloroplast evolved from a eukaryotic endosymbiont. *Protoplasma* 127:9-20.
- Mackiewicz P, Bodyl A (2010), A hypothesis for import of the nuclear-encoded Psae protein of *Paulinella chromatophora* (Cercozoa, Rhizaria) into its cyanobacterial endosymbionts/plastids via the endomembrane system. *J Phycol* 46:847-859.
- Maier UG, Hofmann CJ, Eschbach S, Wolters J, Igloi GL (1991), Demonstration of nucleomorph-encoded eukaryotic small subunit ribosomal RNA in cryptomonads. *Mol Gen Genet* 230:155-160.
- Margulis L (1970), Origin of eukaryotic cells. Yale University Press, New Haven.
- Margulis L (1981), Symbiosis in cell evolution. W. H. Freeman and Company, San Francisco.
- Margulis L (1998), Symbiotic planet. Basic Books, New York.
- Margulis L (2004), Serial endosymbiotic theory (SET) and composite individuality: transition from bacterial to eukaryotic genomes. *Microbiol Today* 31:172-174.
- Margulis L, Dolan MF, Guerrero R (2000), The chimeric eukaryote: origin of the nucleus from the karyomastigont in amitochondriate protists. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:6954-6959.

- Margulis L, Dolan MF, Whiteside JH (2005), «Imprefections and oddities» in the origin of the nucleus. *Paleobiology* 31:175-191.
- Margulis L, Chapman M, Guerrero R, Hall J (2006), The last eukaryotic common ancestor (LECA): acquisition of cytoskeletal motility from aerotolerant spirochetes in the Proterozoic Eon. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:13080-13085.
- Marin B, Nowack ECM, Melkonian M (2005), A plastid in the making: evidence for a second primary endosymbiosis. *Protist* 156:425-432.
- Martin W (2008), Anaerobic eukaryotes in pursuit of phylogenetic normality: the evolution of hydrogenosomes and mitosomes. In: Tachezy J (ed), *Hydrogenosomes and mitosomes: mitochondria of anaerobic eukaryotes*, vol 9. Microbiol Monogr Springer-Verlag, Berlin, pp.1-20.
- Martin W, Muller M (1998), The hydrogen hypothesis for the first eukaryote. *Nature* 392:37-41.
- Martin W, Hoffmeister M, Rotte C, Henze K (2001), An overview of endosymbiotic models for the origins of eukaryotes, their ATP-producing organelles (mitochondria and hydrogenosomes), and their heterotrophic lifestyle. *Biol Chem* 382:1521-1539.
- Matsuzaki M, Misumi O, Shin IT, Maruyama S, Takahara M, Miyagishima SY, Mori T, Nishida K, Yagisawa F, Nishida K, Yoshida Y, Nishimura Y, Nakao S, Kobayashi T, Momoyama Y, Higashiyama T, Minoda A, Sano M, Nomoto H, Oishi K, Hayashi H, Ohta F, Nishizaka S, Haga S, Miura S, Morishita T, Kabeya Y, Terasawa K, Suzuki Y, Ishii Y, Asakawa S, Takano H, Ohta N, Kuroiwa H, Tanaka K, Shimizu N, Sugano S, Sato N, Nozaki H, Ogasawara N, Kohara Y, Kuroiwa T (2004), Genome sequence of the ultrasmall unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D. *Nature* 428:653-657.
- Maxam AM, Gilbert W (1977), A new method for sequencing DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 74:560-564.
- McCutcheon JP (2010), The bacterial essence of tiny symbiont genomes. *Curr Opin Microbiol* 13:73-78.
- McCutcheon JP, McDonald BR, Moran NA (2009), Origin of an alternative genetic code in the extremely small and GC-rich genome of a bacterial symbiont. *PLoS Genet* 5:e1000565.
- McFadden GI (1999), Plastids and protein targeting. *J Eukaryot Microbiol* 46:339-346.
- McFadden GI, van Dooren GG (2004), Evolution: red algal genome affirms a common origin of all plastids. *Curr Biol* 14:R514-R516.
- Melkonian M, Mollenhauer D (2005), Robert Lauterborn (1869-1952) and his *Paulinella chromatophora*. *Protist* 156:253-262.

- Mereschkowsky C (1905), Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. *Biol Centralbl* 25:593-604. English translation in Martin W, Kowallik, KV (1999), Annotated English translation of Mereschkowsky's paper Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. *Eur J Phycol* 34:287-295.
- Moore CE, Archibald JM (2009), Nucleomorph genomes. *Annu Rev Genet* 43:251-264.
- Moran NA (2002), Microbial minimalism: genome reduction in bacterial pathogens. *Cell* 108:583-586.
- Moran NA, McCutcheon JP, Nakabachi A (2008), Genomics and evolution of heritable bacterial symbionts. *Annu Rev Genet* 42:165-190.
- Moreira D, Le Guyader H, Phillippe H (2000), The origin of red algae and the evolution of chloroplasts. *Nature* 405:69-72.
- Morrison HG, McArthur AG, Gillin FD, Aley SB, Adam RD, Olsen GJ, Best AA, Cande WZ, Chen F, Cipriano MJ, Davids BJ, Dawson SC, Elmen-dorf HG, Hehl AB, Holder ME, Huse SM, Kim UU, Lasek-Nesselquist E, Manning G, Nigam A, Nixon JE, Palm D, Passamaneck NE, Prabhu A, Reich CI, Reiner DS, Samuelson J, Svard SG, Sogin ML (2007), Genomic minimalism in the early diverging intestinal parasite *Giardia lamblia*. *Science* 317:1921-1926.
- Müller M (1993), The hydrogenosome. *J Gen Microbiol* 139(Pt 12):2879-2889.
- Nakabachi A, Yamashita A, Toh H, Ishikawa H, Dunbar HE, Moran NA, Hattori M (2006), The 160-kilobase genome of the bacterial endosymbiont *Carsonella*. *Science* 314:267.
- Nakayama T, Ishida K (2009), Another acquisition of a primary photosynthetic organelle is underway in *Paulinella chromatophora*. *Curr Biol* 19:R284-R285.
- Nass MMK, Nass S (1963), Intramitochondrial fibers with DNA characteristics. I. Fixation and electron staining reactions. *J Cell Biol* 19:593-611.
- Nelissen B, Van de Peer Y, Wilmotte A, De Wachter R (1995), An early origin of plastids within the cyanobacterial divergence is suggested by evolutionary trees based on complete 16S rRNA sequences. *Mol Biol Evol* 12:1166-1173.
- Nikoh N, McCutcheon JP, Kudo T, Miyagishima SY, Moran NA, Nakabachi A (2010), Bacterial genes in the aphid genome: absence of functional gene transfer from *Buchnera* to its host. *PLoS Genet* 6:e1000827.
- Nowack EC, Melkonian M (2010), Endosymbiotic associations within protists. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365:699-712.
- Nowack ECM, Melkonian M, Glöckner G (2008), Chromatophore genome

- sequence of *Paulinella* sheds light on acquisition of photosynthesis by eukaryotes. *Curr Biol* 18:410-418.
- Nowack EC, Vogel H, Groth M, Grossman AR, Melkonian M, Glockner G (2011), Endosymbiotic gene transfer and transcriptional regulation of transferred genes in *Paulinella chromatophora*. *Mol Biol Evol* 28:407-422.
- Nozaki H (2005), A new scenario of plastid evolution: plastid primary endosymbiosis before the divergence of the «Plantae» emended. *J Plant Res* 118:247-255.
- Nozaki H, Iseki M, Hasegawa M, Misawa K, Nakada T, Sasaki N, Watanabe M (2007), Phylogeny of primary photosynthetic eukaryotes as deduced from slowly evolving nuclear genes. *Mol Biol Evol* 24:1592-1595.
- Nozaki H, Maruyama S, Matsuzaki M, Nakada T, Kato S, Misawa K (2009), Phylogenetic positions of Glaucophyta, green plants (Archaeplastida) and Haptophyta (Chromalveolata) as deduced from slowly evolving nuclear genes. *Mol Phylogenet Evol* 53:872-880.
- O'Malley MA (2010), The first eukaryote cell: an unfinished history of contestation. *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci* 41:212-224.
- Palmer JD (2003), The symbiotic birth and spread of plastids: how many times and whodunnit? *J Phycol* 39:4-11.
- Parfrey LW, Barbero E, Lasser E, Dunthorn M, Bhattacharya D, Patterson DJ, Katz LA (2006), Evaluating support for the current classification of eukaryotic diversity. *PLoS Genet* 2:e220.
- Parfrey LW, Grant J, Tekle YI, Lasek-Nesselquist E, Morrison HG, Sogin ML, Patterson DJ, Katz LA (2010), Broadly sampled multigene analyses yield a well-resolved eukaryotic tree of life. *Syst Biol* 59:518-533.
- Patron NJ, Inagaki Y, Keeling PJ (2007), Multiple gene phylogenies support the monophyly of cryptomonad and haptophyte host lineages. *Curr Biol* 17:887-891.
- Perez-Brocal V, Clark AG (2008), Analysis of two genomes from the mitochondrion-like organelle of the intestinal parasite *Blastocystis*: complete sequences, gene content and genome organization. *Mol Biol Evol* 25:2475-2482.
- Philippe H, Germot A (2000), Phylogeny of eukaryotes based on ribosomal RNA: long-branch attraction and models of sequence evolution. *Mol Biol Evol* 17:830-834.
- Philippe H, Zhou Y, Brinkmann H, Rodrigue N, Delsuc F (2005), Heterotachy and long-branch attraction in phylogenetics. *BMC Evol Biol* 5:50.
- Pierce SK, Curtis NE, Hanten JJ, Boerner SL, Schwartz JL (2007), Transfer, integration and expression of functional nuclear genes between multicellular

- species. *Symbiosis* 43:57-64.
- Poole AM, Penny D (2007), Evaluating hypotheses for the origin of eukaryotes. *Bioessays* 29:74-84.
- Prechtel J, Kneip C, Lockhart P, Wenderoth K, Maier UG (2004), Intracellular spheroid bodies of *Rhopalodia gibba* have nitrogen-fixing apparatus of cyanobacterial origin. *Mol Biol Evol* 21:1477-1481.
- Raff RA, Mahler HR (1972), The non symbiotic origin of mitochondria. *Science* 177:575-582.
- Raven PH (1970), A multiple origin for plastids and mitochondria. *Science* 169:641-646.
- Reith M, Munholland J (1995), Complete nucleotide sequence of the *Porphyra purpurea* chloroplast genome. *Plant Mol Biol Rep* 13:333-335.
- Rensing SA, Goddemeier M, Hofmann CJ, Maier UG (1994), The presence of a nucleomorph hsp70 gene is a common feature of Cryptophyta and Chlorarachniophyta. *Curr Genet* 26:451-455.
- Reyes-Prieto A, Weber AP, Bhattacharya D (2007), The origin and establishment of the plastid in algae and plants. *Annu Rev Genet* 41:147-168.
- Reyes-Prieto A, Yoon HS, Moustafa A, Yang EC, Andersen RA, Boo SM, Nakayama T, Ishida K, Bhattacharya D (2010), Differential gene retention in plastids of common recent origin. *Mol Biol Evol* 27:1530-1537.
- Ris H (1961), Ultrastructure and molecular organization of genetic systems. *Can J Genet Cytol* 3:95-120.
- Rodriguez-Ezpeleta N, Brinkmann H, Burey SC, Roure B, Burger G, Löffelhardt W, Bohnert HJ, Philippe H, Lang BF (2005), Monophyly of primary photosynthetic eukaryotes: green plants, red algae, and glaucophytes. *Curr Biol* 15:1325-1330.
- Roger AJ (1999), Reconstructing early events in eukaryotic evolution. *Am Nat* 154:S146-S163.
- Roger AJ, Clark CG, Doolittle WF (1996), A possible mitochondrial gene in the early-branching amitochondriate protist *Trichomonas vaginalis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:14618-14622.
- Roger AJ, Svard SG, Tovar J, Clark CG, Smith MW, Gillin FD, Sogin ML (1998), A mitochondrial-like chaperonin 60 gene in *Giardia lamblia*: evidence that diplomonads once harbored an endosymbiont related to the progenitor of mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:229-234.
- Rogers MB, Gilson PR, Su V, McFadden GI, Keeling PJ (2007), The complete chloroplast genome of the chlorarachniophyte *Bigelowiella natans*: evidence for independent origins of chlorarachniophyte and euglenid secondary

- endosymbionts. *Mol Biol Evol* 24:54-62.
- Roos DS, Crawford MJ, Donald RGK, Kissinger JC, Klimczak LJ, Striepen B (1999), Origin, targeting, and function of the apicomplexan plastid. *Curr Opin Microbiol* 2:426-432.
- Rumpho ME, Worful JM, Lee J, Kannan K, Tyler MS, Bhattacharya D, Moustafa A, Manhart JR (2008), Horizontal gene transfer of the algal nuclear gene *psbO* to the photosynthetic sea slug *Elysia chlorotica*. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:17867-17871.
- Rumpho ME, Pelletreau KN, Moustafa A, Bhattacharya D (2011), The making of a photosynthetic animal. *J Exp Biol* 214:303-311.
- Sagan L (1967), On the origin of mitosing cells. *J Theoret Biol* 14:225-274.
- Sanchez-Puerta MV, Delwiche CF (2008), A hypothesis for plastid evolution in chromalveolates. *J Phycol* 44:1097-1107.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR (1977), DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 74:5463-5467.
- Sapp J (1990), Symbiosis in evolution: an origin story. *Endocytobiosis Cell Res* 7:5-36.
- Sapp J (1994), Evolution by association: a history of symbiosis. Oxford University Press, New York.
- Sapp J (2009), The New foundations of evolution. Oxford University Press, New York.
- Schimper AFW (1883), Ueber die Entwicklung der Chlorophyllkörner und Farbkörper. *Bot Zeit* 41:105-114, 121-131, 137-46, 153-162.
- Schwartz JA, Curtis NE, Pierce SK (2010), Using algal transcriptome sequences to identify transferred genes in the sea slug, *Elysia chlorotica*. *Evol Biol* 37:29-37.
- Simon C, Daniel R (2011), Metagenomic analyses: past and future trends. *Appl Environ Microbiol* 77:1153-1161.
- Simpson AGB, Roger AJ (2004), The real «kingdoms» of eukaryotes. *Curr Biol* 14:R693-R696.
- Sogin ML (1997), History assignment: when was the mitochondrion founded? *Curr Opin Genet Dev* 7:792-799.
- Sogin ML, Gunderson JH, Elwood HJ, Alonso RA, Peattie DA (1989), Phylogenetic meaning of the kingdom concept: an unusual ribosomal RNA from *Giardia lamblia*. *Science* 243:75-77.
- Stahl DA, Lane DJ, Olsen GJ, Pace NR (1985), Characterization of a Yellowstone hot spring microbial community by 5S rRNA sequences. *Appl Environ Microbiol* 49:1379-1384.

- Stanier RY (1970), Some aspects of the biology of cells and their possible evolutionary significance. In: Charles HP, Knight BD (eds), *Organization and control in prokaryotic and eukaryotic cells: 20th symposium of the Society for General Microbiology*. Cambridge University Press, London, pp.1-38.
- Stechmann A, Hamblin K, Perez-Brocal V, Gaston D, Richmond GS, van der Giezen M, Clark CG, Roger AJ (2008), Organelles in *Blastocystis* that blur the distinction between mitochondria and hydrogenosomes. *Curr Biol* 18:580-585.
- Stiller JW (2007), Plastid endosymbiosis, genome evolution and the origin of green plants. *Trends Plant Sci* 12:391-396.
- Stiller JW, Hall BD (1997), The origin of red algae: implications for plastid evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:4520-4525.
- Stiller JW, Reel DC, Johnson JC (2003), A single origin of plastids revisited: convergent evolution in organellar genome content. *J Phycol* 39:95-105.
- Stoebe B, Kowallik KV (1999), Gene-cluster analysis in chloroplast genomics. *Trends Genet* 15:344-347.
- Tachezy J, Dolezal P (2007), Iron-Sulfure proteins and iron-sulfur cluster assembly in organisms with hydrogenosomes and mitosomes. In: Martin WF, Müller M (eds), *Origin of mitochondria and hydrogenosomes*. Springer, Berlin, pp.105-133.
- Tanifuji G, Onodera NT, Wheeler TJ, Dlutek M, Donaher N, Archibald JM (2011), Complete nucleomorph genome sequence of the non-photosynthetic alga *Cryptomonas paramecium* reveals a core nucleomorph gene set. *Genome Biol Evol* 3:44-54.
- Taylor FJR (1974), Implications and extensions of the serial endosymbiosis theory of the origin of eukaryotes. *Taxon* 23:229-258.
- Taylor FJR (1976), Autogenous theories for the origin of eukaryotes. *Taxon* 23:377-390.
- Theissen U, Martin W (2006), The difference between organelles and endosymbionts. *Curr Biol* 16:R1016-R1017, author reply R1017-1018.
- Timmis JN, Ayliffe MA, Huang CY, Martin W (2004), Endosymbiotic gene transfer: organelle genomes forge eukaryotic chromosomes. *Nat Rev Genet* 5:123-135.
- Tomas R, Cox E (1973), Observations on the symbiosis of *Peridinium balticum* and its intracellular alga. I. Ultrastructure. *J Phycol* 9:304-323.
- Tovar J (2007), Mitosomes of parasitic protozoa: biology and evolutionary significance. In: Martin WF, Muller M (eds), *Origin of mitochondria and hydrogenosomes*. Springer, Berlin, pp.277-300.

- Tovar J, Fischer A, Clark CG (1999), The mitosome, a novel organelle related to mitochondria in the amitochondrial parasite *Entamoeba histolytica*. *Mol Microbiol* 32:1013-1021.
- Tovar J, Leon-Avila G, Sanchez LB, Sutak R, Tachezy J, van der Giezen M, Hernandez M, Muller M, Lucocq JM (2003), Mitochondrial remnant organelles of *Giardia* function in iron-sulphur protein maturation. *Nature* 426:172-176.
- Tringe SG, Rubin EM (2005), Metagenomics: DNA sequencing of environmental samples. *Nat Rev Genet* 6:805-814.
- Tsaousis AD, Kunji ERS, Goldberg AV, Lucocq JM, Hirt RP, Embley TM (2008), A novel route for ATP acquisition by the remnant mitochondria of *Encephalitozoon cuniculi*. *Nature* 453:553-557.
- Turner S (1997), Molecular systematics of oxygenic photosynthetic bacteria. *Pl Syst Evol* [Suppl] 11:13-52.
- Turner S, Pryer KM, Miao VP, Palmer JD (1999), Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis. *J Eukaryot Microbiol* 46:327-338.
- Tyson GW, Chapman J, Hugenholtz P, Allen EE, Ram RJ, Richardson PM, Solovyev VV, Rubin EM, Rokhsar DS, Banfield JF (2004), Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment. *Nature* 428:37-43.
- Van de Peer Y, Ben Ali A, Meyer A (2000), Microsporidia: accumulating molecular evidence that a group of amitochondriate and suspectedly primitive eukaryotes are just curious fungi. *Gene* 246:1-8.
- Venter JC, Remington K, Heidelberg JF, Halpern AL, Rusch D, Eisen JA, Wu D, Paulsen I, Nelson KE, Nelson W, Fouts DE, Levy S, Knap AH, Lomas MW, Nealson K, White O, Peterson J, Hoffman J, Parsons R, Baden-Tillson H, Pfannkoch C, Rogers YH, Smith HO (2004), Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science* 304:66-74.
- Wägele H, Deusch O, Handeler K, Martin R, Schmitt V, Christa G, Pinzger B, Gould SB, Dagan T, Klussmann-Kolb A, Martin W (2011), Transcriptomic evidence that longevity of acquired plastids in the photosynthetic slugs *Elysia timida* and *Plakobranthus ocellatus* does not entail lateral transfer of algal nuclear genes. *Mol Biol Evol* 28:699-706.
- Waller RF, McFadden GI (2005), The apicoplast: a review of the derived plastid of apicomplexan parasites. *Curr Issues Mol Biol* 7:57-79.
- Whatley JM, John P, Whatley FR (1979), From extracellular to intracellular: the establishment of mitochondria and chloroplasts. *Proc R Soc Lond B* 204:165-187.

- Williams BA, Hirt RP, Lucocq JM, Embley TM (2002), A mitochondrial remnant in the microsporidian *Trachipleistophora hominis*. *Nature* 418:865-869.
- Woese CR, Fox GE (1977), Phylogenetic structure of the prokaryotic domain. The primary kingdoms. *Proc Natl Acad Sci USA* 74:5088-5090.
- Woese CR, Kandler O, Wheelis ML (1990), Towards a natural system of organisms, proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:4576-4579.
- Wolfe GR, Cunningham FX, Durnford DG, Green BR, Gantt E (1995), Evidence for a common origin of chloroplasts with light-harvesting complexes of different pigmentation. *Nature* 367:566-568.
- Yoon HS, Reyes-Prieto A, Melkonian M, Bhattacharya D (2006), Minimal plastid genome evolution in the *Paulinella* endosymbiont. *Curr Biol* 16:R670-R672.
- Yoon HS, Zuccarello G, Bhattacharya D (2010), Evolutionary history and taxonomy of red algae. In: Seckback J, Chapman DJ (eds), Red algae in the genomic age, vol 13. Cellular origin, life in extreme habitats and astrobiology. Springer, New York, pp.25-42.
- Zablen LB, Kissil MS, Woese CR, Buetow DE (1975), Phylogenetic origin of the chloroplast and prokaryotic nature of its ribosomal RNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 72:2418-2422.

Uma teoria relacional da emergência: o caso exemplar da endo-simbiose

GIL C. SANTOS¹ & Ricardo R. Santos^{2,3}

1. Introdução

Como uma teoria que se propõe dizer algo concreto sobre a relação ontológica e epistemológica entre os diferentes níveis de organização da realidade e os seus diferentes processos de formação e mudança, a teoria da emergência confronta-se com três problemas fundamentais. Em primeiro lugar, impõe-se como necessário uma caracterização positiva da noção de emergência, evitando desta forma, quer as suas tradicionais definições negativas (como aquilo que não é explicável, não é redutível, não é previsível, etc.), quer as suas caracterizações tipicamente holísticas, sempre mais sugestivas e descritivas do que verdadeiramente explicativas. Em segundo lugar, se a teoria da emergência se pretende apresentar como relevante para a ciência e a filosofia da ciência, ela deve possuir um significado e um alcance

¹ Centro de Filosofia das Ciências, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal, e Departamento de História e Filosofia das Ciências, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal. Trabalho realizado enquanto bolseiro de pós-doutoramento do Centro de Filosofia das Ciências da Universidade de Lisboa (‘UID/FIL/00678/2013), e no quadro das actividades do Projecto FCT “Emergence in the Natural Sciences: Towards a New Paradigm” (referência: PTDC/FER-HFC/30665/2017).

² Instituto de Saúde Ambiental, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa. Av. Prof. Egas Moniz, Edifício Egas Moniz, 1649-028 Lisboa, Portugal. ricardoreis@medicina.ulisboa.pt

³ Centro de Bioética, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa. Av. Prof. Egas Moniz, 1649-028 Lisboa, Portugal. ricardoreis@medicina.ulisboa.pt

epistemológicos verdadeiramente positivos e consequentes, designadamente, para uma reavaliação das diferentes formas de explicação implementáveis na prática científica. Por fim, a teoria da emergência deve conseguir identificar e analisar exemplos concretos de emergência nos domínios das diversas ciências. Neste texto pretendemos dar uma resposta directa a estes três desafios. Na primeira parte, propomos uma caracterização positiva e epistemologicamente consequente da teoria da emergência. A seguir apresentamos e analisamos o processo de endossimbiose e, em particular, a origem e a evolução das células eucarióticas fotossintéticas, como um exemplo concreto de emergência ontológica.

2. Uma teoria relacional da emergência

A teoria da emergência nasceu na segunda metade do século XIX pela mão de um grupo heterogéneo de filósofos britânicos – dos quais se destacam George H. Lewes (1875), Samuel Alexander (1920), Lloyd Morgan (1923) e C. D. Broad (1925) –, cujo objectivo principal consistiu na defesa de uma posição alternativa, quer ao monismo micro-reducionista do Mecanicismo clássico, quer ao pluralismo substancialista dos diversos Vitalismos, enquanto formas dominantes de conceber as relações entre os diferentes níveis de organização da realidade. Dentre estes níveis, a *matéria inorgânica*, a *vida*, e a *mente* foram naturalmente tidos como os mais exemplificativos ou paradigmáticos.

Independentemente das inegáveis insuficiências e dos impasses suscitados pelas abordagens destes primeiros autores (Beckerman et al., 1992; Santos, G. 2015b, pp.433-439), a *problemática* subjacente à teoria da emergência não desapareceu. Bem pelo contrário. Através da contínua oposição entre as clássicas respostas mecanicistas e vitalistas, ela ressurgiu com mais força a partir dos anos 30 e 40 do século XX, inicialmente mobilizada pelo nascimento do ‘organicismo’ no pensamento biológico (com um impacto decisivo na embriologia experimental e na biologia do desenvolvimento) e da ‘teoria geral dos sistemas’ (Gilbert & Sarkar, 2000), bem como pela criação da cibernética e das novas teorias da informação, da auto-organização e da complexidade – ou seja, pela criação daquilo que Henri Atlan viria a caracterizar, com inteira pertinência, como um «*novo mecanicismo*» (Atlan, 1979, p.21).

Ora, a interacção destes factores viria, não apenas a colocar a anti-ga problemática da emergência no centro do debate filosófico-científico

contemporâneo, mas também a reclamar novos tipos de abordagens e de respostas.

Eis, pois, a problemática fundamental. Que relações de dependência e de autonomia relativa existem entre os fenómenos físicos, químicos, biológicos, psicológicos ou sociais, dado que todos esses domínios pertencem a uma mesma realidade material, mas ao mesmo tempo instanciam propriedades, processos e tipos de relação tão distintos? Há uma redução possível de todos esses níveis de organização em termos de uma realidade física última? Pode uma qualquer disciplina científica, em termos das suas teorias, propriedades e leis ser completamente redutível – se não na prática, pelo menos por princípio – em termos das teorias, propriedades e leis de disciplinas científicas mais básicas? Estes problemas são de natureza essencialmente ontológicos, ou relevam apenas (ou sobretudo) dos nossos limites epistemológicos ou conceptuais?⁴

Estas questões, como dissemos, não desapareceram. Assim como C. D. Broad se questionava, em 1925, sobre se as diferenças entre os domínios físico, químico, biológico e mental seriam, ou não, últimas e entre si irreduzíveis (Broad, 1925, pp.53,43)⁵, também Jaegwon Kim podia perguntar-se, em 1998:

Como se relacionam as propriedades características de um certo nível de organização com as propriedades dos seus níveis de organização adjacentes – em particular, com os níveis inferiores? Como se relacionam as propriedades biológicas (‘vitais’) com as propriedades físico-químicas? Como se relacionam a consciência e a intencionalidade com as propriedades biológicas/físicas? Como se relacionam os fenómenos sociais, característicos de grupos sociais, com os fenómenos que envolvem os seus membros individuais? (Kim, 1998, p.16)⁶.

As relações entre estes diferentes níveis de organização da realidade, bem como entre os domínios materiais e conceptuais das disciplinas científicas

⁴ Para uma apresentação sintética da actual problemática da emergência, *vide* Stephen (1999); Garson (2006); e Humphreys (2006).

⁵ «Are the differences between merely physical, chemical, and vital behavior ultimate and irreducible or not?» (Broad, 1925: 53), or: «Are the apparently different kinds of material objects irreducibly different?» (*Idem*, p.43).

⁶ «How are the characteristic properties of a given level related to the properties at the adjacent levels – in particular, to those at the lower levels? How are biological (“vital”) properties related to physicochemical properties? How are consciousness and intentionality related to biological/physical properties? How are social phenomena, phenomena characteristic of social groups, related to phenomena involving individual members?» (Kim, 1998, p.16).

que os estudam, não esgotam, todavia, o horizonte desta problemática. Muito embora uma particular atenção tenha sido inicialmente atribuída às relações entre a Física, a Química, a Biologia e a Psicologia, a breve trecho perceber-se-ia que as mesmas questões podiam ser colocadas a respeito de fenómenos e processos ocorrentes no *interior* de cada um desses níveis. Daí o debate contemporâneo sobre a problemática da emergência no seio da própria Física (na transição do domínio quântico para a macrofísica, por exemplo), na Biologia (do desenvolvimento e da evolução), e nas próprias Ciências Sociais e Humanas (e.g., Dumouchel & Dupuy, 1983; Archer, 1995; Feltz et al., 1999; Sawyer, 2005; Bedau & Humphreys, 2008; Corradini & O'Connor, 2010; Humphreys, 2016).

Seja como for, se a noção de emergência adquiriu uma importância incontornável na filosofia e na epistemologia das ciências, isso só se explica pelo facto de a teoria a si associada ter sido, desde o início, definida por oposição a certas noções de *redução* e de *explicação*, enquanto tipos de relações entre *partes* e *todos*, como entidades pertencentes a diferentes níveis de organização e a diferentes estádios de formação da realidade. Mas que noções de redução e de explicação pode uma teoria de emergência rejeitar sem, do mesmo passo, cair na mera reivindicação de limites epistemológicos historicamente variáveis ou, mesmo, intransponíveis? Ou seja, em que medida e em que termos poderá a noção de emergência ontológica constituir ou fundar uma teoria *epistemologicamente positiva e consequente*?

Como é bom de ver, a resposta a esta questão dependerá da possibilidade de se propor uma definição simultaneamente naturalista e não trivial de emergência, assim como uma caracterização precisa das noções de redução e de explicação a que essa noção de emergência se opõe – mostrando, ao mesmo tempo, que noções *alternativas* de explicação e de redução podem ser defendidas.

Ora, a noção consensualmente aceite de emergência veicula a ideia de que (i) apesar de todos os fenómenos emergentes serem constituídos por, e gerados a partir de, um certo conjunto de entidades e processos prévios ou subjacentes, (ii) qualquer fenómeno emergente é irreduzível ou autónomo relativamente a esse mesmo conjunto de entidades e processos⁷.

⁷ Por exemplo: «(1) Emergent phenomena are somehow constituted by, and generated from, underlying processes; (2) Emergent phenomena are somehow autonomous from underlying processes» (Bedau, 1997, p.376); «Emergence is, broadly speaking, the view that there are features of the world – objects, properties, laws, perhaps other things – that are manifested as a result of the existence of other, usually more basic, entities but that cannot be completely reduced to those

Como atribuir um sentido concreto e coerente a esta noção abstracta e aparentemente inconsistente de emergência?

A nossa proposta é definir a noção ontológica de emergência como uma *dupla relação* de *dependência* e *independência* de um sistema face às entidades que são, ou serão no futuro, suas partes, em função das suas respectivas propriedades e capacidades causais associadas.

Esta dupla relação de dependência e independência pode ganhar um conteúdo preciso se formulada nos seguintes termos: uma propriedade de um sistema é dependente e independente das propriedades das entidades que são, ou serão, suas partes se, e somente se, as propriedades das partes constituírem *condições necessárias*, mas *não suficientes*, para a formação e persistência da propriedade desse sistema. Em suma, há emergência quando as entidades que são, ou serão, partes de um sistema se constituem como *causas* apenas *parciais* das propriedades e das capacidades causais do seu sistema.

Por fim, pese embora esta noção de emergência faça apelo a uma dupla relação entre atributos contrários (dependência/independência), ela não constitui uma contradição, na medida em que ela põe em confronto as mesmas entidades (i.e., os sistemas e as suas partes),

i) ora em diferentes *momentos temporais* – como é caso da emergência concebida como processo diacrónico;

ii) ora ao mesmo tempo, mas sob diferentes *aspectos* ou *dimensões* – como sucede quando a emergência é pensada em termos sincrónicos.

Assim concebida, esta noção geral de emergência encontra-se habilitada para dar conta de dois tipos de emergência frequentemente invocados na literatura científica: emergência diacrónica e emergência sincrónica.

Mais ainda: esta noção de emergência reconhece como condição ontológica necessária para a produção de todos os sistemas emergentes a existência de certos tipos de entidades que, em níveis inferiores de organização, precedem (como futuras partes) e subjazem (como partes actuais) tais sistemas. Consequentemente, a explicação de um qualquer sistema emergente tem de fazer necessariamente referência às propriedades e às relações entre tais entidades prévias e subjacentes. O contraste com as perspectivas tipicamente holísticas é, assim, evidente.

A questão decisiva é saber se a natureza *intrínseca* de cada uma dessas entidades prévias ou subjacentes é, *em si e por si mesma*, *suficiente* para produzir, determinar e explicar todas as propriedades que os seus sistemas instanciam

ou instanciarão; ou se estes sistemas apenas são produzidos, determinados e explicáveis por propriedades e capacidades causais que essas entidades somente manifestam *em virtude*, e *através*, das *relações estruturais* que definem e regulam esses mesmos sistemas.

Como veremos, a resposta a esta questão permitirá distinguir a noção relacional de emergência e a doutrina micro-reducionista.

Em suma, a noção de emergência aqui proposta distingue-se, quer do tradicional *micro-reducionismo*, como forma de redução ‘unidireccional’ e ‘hegemónica’ de todos os sistemas às suas partes, como entidades ontologicamente independentes e auto-suficientes⁸; quer do diametralmente oposto *macro-reducionismo*, como forma holística de redução ‘unidireccional’ e ‘hegemónica’ de todas as entidades individuais, enquanto partes, aos seus todos, como realidades auto-fundadas. A noção de emergência é aqui equacionada como um terceiro tipo de resposta – *relacional* – face às metafísicas atomista e holista.

Ora, dado que o micro-reducionismo se apresenta como a perspectiva dominante, senão mesmo ‘paradigmática’ (no sentido kuhniano do termo), na metafísica da ciência contemporânea, será por oposição a essa doutrina que uma qualquer teoria da emergência terá de começar por definir a sua identidade teórica diferenciadora. Como veremos, cada um dos tipos de emergência que a seguir distinguiremos – ontológico e epistemológico, diacrónico e sincrónico – implica o fracasso de um tipo particular de micro-reducionismo: micro-determinismo diacrónico (como uma forma de pré-determinismo ou pré-formacionismo), micro-determinismo sincrónico, micro-previsibilidade e micro-explicação.

2.1 Micro-reducionismo

Se a noção de emergência se define por uma dupla relação de dependência e independência entre propriedades de sistemas e propriedades das suas partes, é obrigatório precisar que propriedades das partes devemos nós ter como termo de referência para avaliar tais relações. Como lucidamente observou Carl Hempel, «a ocorrência de uma característica pode ser emergente relativamente a uma classe de atributos, e não emergente relativamente a outra classe» (Hempel 1965, p.260).

⁸ A natureza ‘unidireccional’ e ‘hegemónica’ do micro-determinismo ontológico é bem analisada por Hüttemann (2004, pp.62-63,78-82).

A nosso ver, só poderemos avaliar a natureza emergente, ou não emergente, de uma propriedade de um sistema face às propriedades das suas partes, se por propriedades das partes entendermos as propriedades que as partes instanciam ou manifestam *independentemente* das relações que elas desenvolvem na estrutura desse mesmo sistema.

A razão parece-nos evidente. Quão *micro*-determinada poderá ser uma propriedade de um sistema, quando as propriedades das partes relevantes para a sua produção apenas são manifestadas em virtude, ou como efeito, das relações estruturais desse sistema? Quão *micro*-explicativa poderá ser a explicação de uma propriedade de um sistema, quando as propriedades das partes a que uma tal explicação precisa de recorrer apenas são explicáveis pelas relações estruturais que definem esse mesmo sistema?

Em tal tipo de casos não se justifica a relação *unidireccional* e *hegemónica* de determinação que define a doutrina do micro-determinismo, nem se justifica a relação *unilateral* de explicação que a noção de micro-explicação implica. Com efeito, a noção de micro-explicação supõe que qualquer propriedade de um sistema é redutível (se não prática, pelo menos por princípio) a certas relações ou leis de composição associáveis às propriedades intrínsecas das suas partes individuais e às suas micro-leis. Esta é, justamente, a definição clássica de micro-reducionismo sob a forma de uma teoria da explicação (Garson 2006, p.230; Hüttemann, 2004. pp.34-35; Hüttemann & Love, 2016, p.416).

O postulado metafísico da independência e auto-suficiência das partes, tidas como entidades atómicas qualitativamente imutáveis, funda, assim, a legitimidade epistemológica de um estudo das partes como sistemas isolados e integralmente determináveis em função de um conjunto de propriedades absolutamente intrínsecas⁹. Assim se compreende que Oppenheim e Putnam tenham associado o «micro-reducionismo» à «tendência democriteana» de «tentar explicar, tanto quanto possível, fenómenos aparentemente diversos em função de partes qualitativamente idênticas e das suas relações espaço-temporais», bem como à «possibilidade de todas as ciências serem, um dia, reduzidas à microfísica» (Oppenheim & Putnam, 1958, pp.16 e 21).

Esta mundividência é bem exemplificada nas hodiernas metafísicas de

⁹ Como Kim afirma, «it is useful to think of mereological supervenience and microdeterminism as constituting the metaphysical basis of the method of micro-reduction and micro-explanation. By this I mean that the metaphysical doctrine rationalizes our micro-reductive proclivities by legitimizing micro-reduction as a paradigm of scientific understanding and helping to explain why the micro-reductive method works as well it does» (Kim 1993, p.102).

filósofos como W. Quine¹⁰, David Lewis ou Jaegwon Kim. Seja em função de uma simples «distribuição» ou de um «vasto mosaico» de qualidades locais atômicas e suas «relações espaço-temporais puramente externas» (Lewis, 1986, pp.ix-x; 1994, p.473; Lewis, 1994, p.473), ou em função de conjuntos de propriedades em diferentes modos de agregação, como distintas somas mereológicas, toda a realidade natural deverá poder ser explicada e reduzida à luz de tais entidades elementares, auto-suficientes e qualitativamente imutáveis, à imagem e semelhança da «doutrina atomista democriteana» (Kim, 1993, p.102; Kim, 1998, p.18).

Por isso é que só se pode estabelecer uma micro-explicação por referência a cenários *contrafactuais*: ela refere-se ao modo «como os componentes se comportariam se estivessem isolados», e não ao modo «como as partes que integram um todo se comportam enquanto estão nesse todo» (Hüttemann, 2004, pp.35,62). Daí o paradigmático tipo de estudo, em Física, de sistemas isolados, ou do uso disseminado dos conhecidos princípios de sobreposição linear (de forças, de velocidades, ou de ondas).

Esta associação do micro-reducionismo com os princípios de sobreposição linear ou com os modelos de composição aditiva foi, aliás, claramente reconhecida por alguns emergentistas britânicos dos finais do século XIX. A resposta destes emergentistas consistiu, por isso, na invocação de uma certa classe de relações ditas *não-aditivas*. Recuperando uma distinção originalmente elaborada por John Stuart Mill entre dois diferentes tipos de relação entre causas e efeitos, os emergentistas viriam a acolher uma distinção fundamental entre propriedades ‘resultantes’ e ‘emergentes’ (G. H. Lewes, 1875, pp.412-413).

O significado desta distinção foi por Mill definido num contexto preciso – a saber: nos casos «em que diversos agentes, ou causas, concorrem como condições na produção de um mesmo efeito» (Mill, 1974 [1843], p.370). Neste tipo de casos podem ocorrer «dois diferentes modos de acção conjunta das causas»: o efeito conjunto de diversas causas tanto pode ser *idêntico* à soma dos seus efeitos separados, como *diferente* dessa soma. No segundo

¹⁰ «(...) the business of physics (...) is the discovery of the ultimate constituents of the world and their regularities. Other sciences that are likewise concerned to discover regularities in the world are for the most part not derivable from physics, but only because their objects are excessively complex aggregates of physical constituents. Their regularities have to be discovered afresh rather than just being computed from the behavior of the ultimate physical constituents. They are not reducible to physics in polynomial time, as the computer people would say. But the behavior of these gross objects is nevertheless the *sum* of the behavior of the ultimate physical constituents, however incalculable. This is the sense in which physics is basic» (Quine, 2008 [1986], p.166).

caso, verificar-se-á o fracasso do ‘princípio da composição das causas’, por analogia com o clássico princípio da ‘composição das forças’ (Mill, 1974 [1843], p.371).

Assim se compreende que uma propriedade emergente de um sistema pudesse vir a ser interpretada como o produto de um conjunto de interacções não-lineares entre as partes desse sistema¹¹. O factor distintivo de uma interacção ontologicamente linear é a não determinação recíproca dos termos em relação. Por isso é que o efeito conjunto de diferentes causas pode ser concebido como a soma das acções independentes dessas causas, ou, ainda, como a soma dos efeitos que essas causas teriam se actuassem separadamente umas das outras (Nicolis & Prigogine, 1989, p.59)¹².

Uma das mais esclarecidas caracterizações dos pressupostos metafísicos atomistas do mecanicismo clássico foi, sem dúvida, formulada por David Bohm, no seu clássico trabalho *Causality and Chance in Modern Physics*:

a característica mais distintiva do mecanicismo (...) [é] reduzir tudo quanto existe no universo, de uma forma perfeita e integral, a mudanças puramente quantitativas num número mínimo de entidades básicas (...) que, em si mesmas, nunca mudam *qualitativamente*. [Com efeito], neste quadro de pensamento, ao nível mais básico da realidade, as únicas mudanças encaradas como possíveis são mudanças quantitativas nos parâmetros ou nas funções (...), ao passo que mudanças qualitativas fundamentais nos modos de ser das entidades mais básicas não são consideradas como possíveis. A essência da posição mecanicista radica, assim, na assunção de qualidades básicas *fixas*, o que significa que as próprias leis poderão ser reduzidas, em última instância, a relações puramente quantitativas¹³.

¹¹ Como escreveu Lloyd Morgan, «[t]he essential feature of a mechanical – or, if it be preferred, a mechanistic – interpretation is that it is in terms of resultant effects only, calculable by algebraic summation. It ignores the something more that must be accepted as emergent» (Morgan 1923, p.8). Cf. também Lewes (1875, pp.413-414); Silberstein & McGeever 1999; Bechtel & Richardson 2010.

¹² «In a linear system the ultimate effect of the combined action of two different causes is merely the superposition of the effects of each cause taken individually. Mathematically, the signature of a nonlinear system is the breakdown of the superposition principle which states that the sum of two solutions of the equation(s) describing the system is again a solution. The physical consequence is that in a nonlinear system adding a small cause to one that is already present can induce dramatic effects that have no common measure with the amplitude of the cause. That is in a nonlinear system the behavior of the whole is different than the sum of the behavior of its parts» (Nicolis & Prigogine, 1989, p.59).

¹³ «the most essential and characteristic feature of mechanism (...) [is] to reduce everything in the whole universe completely and perfectly to purely quantitative changes in a few basic kinds of entities (...), which themselves never change qualitatively». [Indeed,] «[a]t bottom, the only changes that are regarded as possible within this scheme are quantitative changes in the parameters or functions (...), while fundamental qualitative changes in the modes of being of the basic

Eis-nos, pois, diante do desafio fundamental suscitado pelo confronto entre a teoria da emergência ontológica e a doutrina micro-reducionista atomista. Devemos nós assumir que todos os níveis de organização da realidade são redutíveis, *nível por nível*, até às leis e às propriedades do domínio físico tido como último? Ou devemos, pelo contrário, reconhecer que certos níveis de organização, muito embora necessariamente dependentes dos níveis de organização subjacentes, podem adquirir um grau relativo de autonomia ontológica (qualitativa e causal) e epistemológica?

Com efeito, qualquer que seja a resposta, importa não perder de vista que rejeitar o micro-reducionismo não equivale, por si só, a negar a *unidade fundamental da realidade*. Como bem observou o biofísico Henri Atlan, «o único fisicalismo possível – relativamente trivial, muito embora não destituído de significado – reconhece que uma organização de um nível superior não pode ser uma organização qualquer, tendo em conta os constrangimentos impostos pelas leis físicas que regem localmente, e por espécimes, a matéria» constitutiva de qualquer estrutura a um nível superior de organização (Atlan, 1993, p.50). Nesta óptica, os níveis historicamente anteriores e hierarquicamente inferiores de organização definem, fundamentalmente, o *domínio dos possíveis* dos níveis historicamente posteriores e hierarquicamente superiores de organização.

2.2 Uma ontologia relacional dinâmica

Se, como vimos, o micro-reducionismo apenas se impõe como inevitável, na medida em que se aceite a doutrina essencialista da metafísica atomista, a única alternativa para se equacionar, em termos naturalistas, a ocorrência de fenómenos objectivamente emergentes será recusar, justamente, o pressuposto metafísico de que todas as entidades naturais são dotadas de um conjunto imutável de propriedades e de capacidades causais intrinsecamente fixadas e pré-determinadas (Silberstein & McGeever, 1999; Humphreys, 2016). Numa tal perspectiva, é claro que qualquer sistema pode ser derivado como um mero subproduto de uma qualquer combinatória operada a partir de um mesmo conjunto de propriedades e leis associadas às suas partes elementares.

entities and in the forms in which the basic laws are to be expressed are not regarded as possible. Thus, the essence of the mechanistic position lies in its assumption of fixed basic qualities, which means that the laws themselves will finally reduce to purely quantitative relationships» (Bohm, 1984 [1957], pp.47,131).

A alternativa naturalista a esta metafísica pode ser, a nosso ver, representada por uma *ontologia relacional dinâmica*, de acordo com a qual a identidade qualitativa e causal de qualquer entidade, bem como as suas condições de existência e de persistência, apenas são concebíveis e explicáveis como realidades *construídas* e *transformáveis* pelas suas relações endógenas e exógenas, incluindo as desenvolvidas no contexto de estruturas relacionais em níveis superiores de organização (Santos, G., 2015b).

A construção relacional de cada entidade individual, incidirá, nesta óptica, quer ao nível da sua identidade *actual* – i.e., no conjunto das propriedades e das capacidades causais que nela se encontram efectivamente actualizadas –, quer ao nível da sua identidade *potencial* – i.e., no conjunto das propriedades e das capacidades causais que nela são susceptíveis de virem a ser actualizadas. Desta forma evitar-se-ão duas formas de essencialismo e pré-determinismo: de actualidades e de potencialidades. Nem a biografia actual de cada entidade se encontra pré-determinada, pela simples razão de que cada actualização estará sempre dependente das relações que essa entidade venha a estabelecer no curso da sua evolução, nem nenhuma entidade estará limitada, *ab initio*, a um número fixo de potencialidades, já que cada actualização poderá servir de base à aquisição de novas potencialidades.

Por esta razão, julgamos que este relacionismo dinâmico vai ao encontro da perspectiva geral subjacente ao ‘*interaccionismo construtivista*’ proposto por Susan Oyama (2000), no contexto da sua abordagem do desenvolvimento e da evolução biológicos e cognitivos, à luz da chamada ‘teoria dos sistemas em desenvolvimento’ (Santos, G., 2015, pp.439-442; Santos, G., 2016).

Por outro lado, estamos em crer que esta mesma perspectiva ontológica poderá ser formulada nos termos *disposicionalistas* com que Borghini e Williams (2008) reelaboraram o *actualismo modal* – designadamente, ao poder explicar-se, no quadro desta teoria, a *possibilidade* das entidades ganharem novas potencialidades no curso de um devir ‘ramificado’¹⁴.

¹⁴ Neste novo actualismo modal é introduzida uma diferença fundamental entre disposições de ‘primeiro grau’ e disposições de ‘grau superior’, sendo estas últimas definidas como «dispositions for the having of further dispositions» (Borghini & Williams, 2008: 30, n.21). Assim, «[w]e give the name *first-degree dispositions* to those dispositions that an entity (or a collectivity of entities) is able to manifest simply if the right environmental conditions present themselves (that is: without the entity, in turn, having to change). We give the name *second-degree dispositions* to those dispositions that an entity is able to manifest if and only if a first-degree disposition manifests itself; we give the name *n + 1 degree dispositions* to those dispositions which an entity is able to manifest if and only if an *n* degree disposition manifests itself» (Borghini, 2016, p.170). Nesta medida, «if manifested,

Como quer que seja, a mais importante consequência que a adoção desta ontologia relacional dinâmica acarreta para o contemporâneo debate sobre o micro-reducionismo é a necessidade de redefinirmos a própria natureza da chamada ‘microestrutura’ ou do ‘micro-nível’ de organização de um dado sistema.

A microestrutura de um sistema refere o conjunto das propriedades e das relações locais (diádicas ou poliádicas) das partes constituintes de um sistema. Assim sendo, a questão que o uso da noção-prefixo ‘micro’ suscita é saber como concebemos as próprias partes de um sistema. A microestrutura de um sistema designa um domínio de partes com propriedades pré-fixadas, independentes e anteriores às suas relações num qualquer sistema?; ou designa um domínio de entidades susceptíveis de serem modificadas por tais relações sistémicas (Santos, G. 2015a)? Sem se explicitar a forma como se concebem as entidades constitutivas da microestrutura de um sistema, afirmações de micro-reducionismo são vagas e, sobretudo, equívocas. Com efeito, quão *micro*-determinada ou *micro*-explicável pode ser uma propriedade de um sistema, quando as propriedades das partes relevantes para a produção dessa propriedade sistémica são, elas mesmas, *determinadas* pelas relações estruturais desse sistema?

Neste tipo de casos já não tem qualquer sentido falar-se em micro-redução, porque o nível tido como base da redução é, ele mesmo, parcialmente determinado pelo nível superior de organização relacional do sistema que se pretendia reduzir. Nestes casos não é já sustentável a noção de uma micro-determinação (unidireccional e hegemónica) das propriedades de um sistema pelas propriedades das suas partes concebidas *in abstracto*, i.e., como sistemas independentes, isolados e auto-suficientes. Pelo contrário, as partes têm de ser concebidas *in situ*, i.e., como entidades parcialmente determinadas pela sua integração concreta na estrutura relacional e dinâmica dos seus sistemas. Em tais casos há que reconhecer-se, por conseguinte, uma relação

each disposition brings into being the existence of other dispositions. In other words: with the passage of time, the entities of the world manifest some of their dispositions, from which more and more dispositions arise» (Borghini, 2016: 170). Daí a noção de um devir ramificado: «[e] very dispositional property then is a central point from which various dispositions radiate. At the end of each of those disposition ‘branches’ is some state of affairs that is the manifestation of the disposition. Some of these manifestations will be voids or empty space (as might happen when two objects collide and annihilate each other), but most will be some object or objects in such and such an arrangement, each in possession of various dispositional properties. The dispositional properties will in turn support a series of branching dispositions, each for some manifestation, and so on» (Borghini & Williams, 2008, pp.31-32).

de *co-determinação parcial e recíproca* entre as partes e a estrutura relacional dos seus sistemas.

Dito isto, importa ressaltar que, como é óbvio, nem todas as relações transformam qualitativamente os seus relata, pese embora muitas mudanças quantitativas possam desencadear mudanças qualitativas, através dos conhecidos ‘efeitos de limiar’ (*threshold effects*). Por outro lado, nem todas as propriedades sistémicas são, por essa razão apenas, propriedades emergentes, muito embora seja possível distinguir diferentes tipos e graus de emergência. Procuremos desenvolver alguns elementos necessários para uma melhor ponderação destas distinções.

2.3 Sistemas, estruturas e propriedades

Se a noção de emergência se define como um tipo de relação entre um todo e as suas partes, é importante começarmos por caracterizar as noções de sistema e de estrutura que aqui iremos adoptar.

Por *sistema* entendemos um grupo de entidades, de tal forma relacionadas que elas podem ser concebidas como partes próprias de um mesmo todo comum. Nesta óptica, qualquer sistema (ao contrário de um simples agregado, conjunto, colecção ou soma mereológica arbitrária) é analisável em duas dimensões distintas:

i) dimensão *composicional*, a saber: o conjunto das suas partes, incluindo possíveis subestruturas, com as suas respectivas propriedades e relações locais (diádicas e poliádicas); e

ii) dimensão *estrutural*, a saber: a forma como as partes e as suas diferentes relações locais (espaciais, temporais, causais, etc.) estão globalmente relacionadas¹⁵.

¹⁵ De acordo com Pierre Delattre (1971, pp.15-16), a noção de ‘*sistema*’ compreende a natureza e o número dos seus elementos, bem como a natureza e a grandeza das funções de interacção. A noção de ‘*estrutura*’ refere apenas a natureza e as situações relativas das funções de interacção face aos elementos do sistema. Stewart Shapiro propõe as seguintes caracterizações: «I define a *system* to be a collection of objects with certain relations. An extended family is a system of people with blood and marital relationships, a chess configuration is a system of pieces under spatial and ‘possible move’ relationships, a symphony is a system of tones under temporal and harmonic relationships, and a baseball defense is a collection of people with on-field spatial and ‘defensive-role’ relations. A *structure* is the abstract form of a system, highlighting the interrelationships among the objects, and ignoring any features of them that do not affect how they relate to other objects in the system» (Shapiro, 1997, pp.73-74). Para uma caracterização sistemática da noção de ‘estrutura’ e para uma análise das suas aplicações nas diversas ciências (formais, naturais, e sociais e humanas), *vide* Piaget 1970a.

Uma estrutura diz, assim, respeito à organização global que, abstraída do conjunto das partes, funda a *existência* e a *identidade* de um sistema como um todo unificado e, por essa via, como uma entidade individual por direito próprio.

Em função da existência ou inexistência de uma estrutura determinada e da própria natureza que uma estrutura pode deter, é possível distinguir entre três tipos de compostos: *agregados* (ou sistemas agregativos), *sistemas de componentes*, e *sistemas integrados* (seguindo a terminologia de Bechtel & Richardson, 2010).

1. Um agregado é um composto cuja existência e identidade não dependem de uma qualquer estrutura ou forma de organização particular das suas partes. Neste sentido, uma propriedade agregativa é uma propriedade que um sistema possui como um produto meramente quantitativo ou estatístico das propriedades das suas partes (Levins, 2017 [1970], pp.75-76). As propriedades associadas às leis físicas de conservação, como massa, energia, carga eléctrica, ou momentum, são exemplos paradigmáticos deste tipo de propriedades, se bem que possamos incluir também outras quantidades, desde que definíveis, exclusivamente, em termos das primeiras (Auyang, 1999, pp.175-176; Wimsatt, 2017, pp.175,286,303-304). Ora, como as propriedades agregativas não são produtos de uma qualquer organização específica das propriedades das suas partes, nem representam, por isso, uma qualquer diferença qualitativa relativamente a essas propriedades de base, pode dizer-se que todos os agregados ‘herdam’ as suas propriedades das suas partes, ou que as suas capacidades causais são apenas ‘conjuntos’ ou ‘subconjuntos’ das capacidades causais das suas partes (Kim, 1998, pp.54-55,110-111,116; Wilson, 2015), ou, ainda, que as suas propriedades são literalmente ‘realizadas’ pelas propriedades individuais das suas partes (Gillett, 2016, pp.67,89). Em suma: só nestes casos é que se justifica um genuíno micro-determinismo ontológico¹⁶.

Mesmo quando não devidamente ponderada quanto ao seu significado e alcance ontológicos, esta distinção entre agregados e sistemas organizados é

¹⁶ Como já Richard Levins alertava, «the evolved systems, the composed systems, and the aggregate systems, are obviously sufficiently different so that we must proceed with great caution in attempting to transfer ideas from one to another» (Levins, 2017 [1970], p.76). Aplica-se, neste contexto, a pertinente observação de Wimsatt: «a major confusion in discussions of reductionism arise from a conflation of what Levins distinguishes as ‘aggregate’ and ‘engineered’ [= ‘composed’] systems» (Wimsatt 2006, p.669).

pacificamente reconhecida. A distinção que agora merecerá a nossa atenção é aquela que se introduz no próprio universo dos sistemas organizados.

As análises de E. Nagel, N. Rescher e P. Oppenheim, H. Simon, R. Levins, P. Simons, W. Wimsatt, W. Bechtel e R. Richardson servir-nos-ão de referência. Não obstante as diferentes interpretações destes filósofos (na razão directa dos seus pressupostos e das suas intenções teóricas), é possível delas extrair uma distinção suficientemente clara entre dois tipos de sistemas, tomados como pólos extremos num natural *continuum* de casos intermédios.

2. Em primeiro lugar, temos os ‘sistemas de componentes’, ou seja, sistemas cujas estruturas compreendem relações essencialmente *combinatórias*. Estes são sistemas nos quais as relações mantêm essencialmente inalteradas as naturezas qualitativas e causais das suas partes. Assim se explica a relação de independência das partes relativamente às estruturas relacionais que definem estes sistemas ditos ‘quase-decomponíveis’ (Simon), ou simples ‘sistemas compostos’ (Levins 2017 [1970]).

Como é bom de ver, um tal fenómeno só é explicável pelo facto das «relações endógenas das partes componentes [serem], geralmente, mais fortes do que as relações entre as próprias partes» (Simon 1962, p.477). Ou seja, nestes sistemas, o «comportamento das partes é intrinsecamente determinado» (Bechtel & Richardson 2010, p.26). Isto significa que a interacção das partes não afecta de forma relevante as próprias partes, nem as modificações por elas sofridas têm um papel relevante na produção e explicação das propriedades dos seus sistemas.

Por outro lado, dado que as partes interagem de forma sequencial e linear, é possível conceber as partes como sistemas isolados, e determinar separadamente as contribuições causais de cada uma delas para o comportamento global dos seus sistemas (Simon, 1962, p.474; Levins, 2017 [1970], p.76; Bechtel & Richardson, 2010, pp.199,202).

Uma propriedade estrutural de um ‘sistema de componentes’ é, assim, definível como uma propriedade que o sistema detém como um produto de certas relações estruturais entre propriedades *intrínsecas* ou *independentes* das suas partes.

Considere-se o exemplo de um circuito eléctrico. As propriedades deste sistema são determinadas pela forma específica como as suas partes (fios condutores, condensadores, transístores, interruptores, etc.) estão relacionadas. Elas não são concebíveis como produtos meramente quantitativos ou estatísticos das propriedades dos seus componentes. Porém, as propriedades

e as contribuições causais das partes podem ser especificadas de forma *independente*, já que nenhuma parte afecta «o tipo de resposta» das restantes partes, mas tão-somente «a forma como cada sinal é processado e atravessa cada uma delas» (Levins, 2017 [1970], p.76).

3. Por fim, temos os ‘sistemas integrados’, ou seja, sistemas cujas estruturas compreendem relações fundamentalmente *construtivas* – sejam estas concebidas de um ponto de vista diacrónico (como relações de *transformação*), ou de um ponto de vista sincrónico (como relações de *interdependência*). Estes compostos são sistemas nos quais as relações literalmente constroem as identidades estruturais ou qualitativas, e causais, ou funcionais, das suas partes¹⁷.

Pelo facto de manifestarem uma relação de interdependência estrutural e/ou funcional entre as suas partes, estes sistemas foram chamados ‘todos orgânicos’ ou ‘funcionais’ (Nagel, 1952), ‘sistemas de dependência’ ou ‘sistemas complexos’ (Rescher & Oppenheim, 1955), ‘sistemas evolutivos’ (Levins, 2017 [1970]), e ‘todos/sistemas integrados’ (Simons, 1987, pp.324-360; Mahner & Bunge, 1997; Bechtel & Richardson, 2010).

Mesmo Ernest Nagel – não obstante a sua intransigente defesa de um reducionismo de teorias, e, conseqüentemente, de uma possível análise ‘aditiva’ de todos os tipos de sistemas – não hesitou em reconhecer que «não há qualquer dúvida que existem muitos sistemas [físicos, químicos, biológicos e psicológicos], cujas partes constituintes se encontram ‘internamente’ relacionadas, no sentido em que esses constituintes se encontram em relações de interdependência causal recíproca» (Nagel, 1952, p.27).

A nosso ver, é no facto de certas entidades se desenvolverem (agirem e interagirem) no contexto de *estruturas específicas de relações construtivas* que podemos encontrar a causa e a explicação dessa interdependência mútua, ou ‘relação interna’, entre tais entidades *qua* partes de um sistema – seja ao nível das suas *identidades* (actuais e potenciais), seja ao nível das suas próprias *existências*, como é o caso das entidades que só nascem, persistem e evoluem

¹⁷ Mahner e Bunge (1997, p.26) referem-se a este tipo de relações como ‘*bonding relations*’. Lewontin (1982, 1983, 2000); Rose (1997, pp.172,153); Oyama (2000a, 2000b) e, de uma forma geral, a ‘teoria dos sistemas em desenvolvimento’ (Oyama, Griffiths, Gray ed. 2001), adoptaram as noções de ‘*construction*’ e de ‘*constructive interactions*’ – termos cujo uso sistemático remonta aos trabalhos de Piaget (e.g., 1970b) – para caracterizar a natureza das relações ‘partes/todos’ e ‘causas/efeitos’ nos processos biológicos subjacentes ao desenvolvimento e à evolução. Daí, a sua oposição, quer ao pré-formationismo genético, quer à concepção da evolução centrada numa perspectiva fundamentalmente adaptacionista.

enquanto partes de certos ‘sistemas evolutivos’, i.e., de sistemas nos quais «os subsistemas componentes evoluíram conjuntamente» (Levins, 2017 [1970], p.76).

Com efeito, se cada entidade se encontra continuamente envolvida, directa e indirectamente, em diferentes tipos de relações no seio de um mesmo sistema, e se as relações não actuam de forma independente umas das outras, nem modificam separadamente cada um dos seus relata, segue-se que a identidade individual de qualquer entidade será relacionalmente construída pela própria *estrutura* (organização) específica dos diferentes tipos de relações intra-sistémicas (relações espaciais, relações temporais, relações causais, etc.). Daí o sentido em reconhecer-se a existência de uma *causalidade estrutural* a par de uma causalidade de natureza *composicional*, associável à natureza específica das partes (como causas materiais) e às suas interacções mecânicas e locais (como causas eficientes). Na verdade, nestes sistemas – ditos orgânicos, de dependência, ou integrados –, as relações não vêm *uma a uma* afectar, à vez, cada uma das suas partes. As partes, tal como as suas relações, formam-se, actuam e desenvolvem-se conjuntamente numa rede estruturada de interdependências sistémicas¹⁸.

Dada a organização *cíclica* (não-sequencial) deste tipo de sistemas e a natureza *não-linear* das interacções causais das suas partes – com as exemplificadas nos conhecidos processos de retroacção –, nenhuma parte pode ser explicada de forma independente, como entidade idealmente separada ou isolada. Por outro lado, as propriedades e os comportamentos do sistema só são explicáveis como produtos dessa estrutura de interacções modificadoras entre as suas partes. Com efeito, «as não-linearidades que afectam as operações componentes [das partes] devem afectar, por seu turno, o comportamento do sistema», tomado como um todo (Bechtel & Richardson, 2010, p.xlvi). Em cada sistema integrado, as relações constroem e determinam, literalmente, a natureza qualitativa, causal, ou funcional das suas partes. Por isso é que os sistemas integrados são apenas ‘*minimamente* decomponíveis’ (Bechtel & Richardson, 2010, p.27): às suas partes não é possível atribuir funções «independentes» ou «isoláveis» (*Idem*, p.31).

¹⁸ Só este tipo de causalidade estrutural poderá, a nosso ver, fundamentar ontologicamente uma noção de emergência em função da ocorrência de propriedades *relacionais* ao nível das partes de um sistema, como Silberstein e McGeever, por exemplo, propuseram: «Ontologically emergent features are features of systems or wholes that possess causal capacities not reducible to any of the intrinsic causal capacities of the parts nor to any of the (reducible) relations between the parts» (Silberstein & McGeever, 1999, p.186).

Uma propriedade estrutural de um ‘sistema integrado’ é, assim, definível como uma propriedade que um sistema detém como um produto estrutural (organizacional) de certas relações construtivas entre propriedades ou capacidades causais que as suas partes só adquiriram ou manifestam em virtude, e através, da estrutura relacional que define e regula esse mesmo sistema.

Como exemplo de um tal tipo de propriedades sistémicas é possível dar inúmeras características fenotípicas de células eucarióticas, porquanto produzidas por certas estruturas de interações recursivas entre propriedades e capacidades causais que as suas moléculas e macromoléculas só manifestam em virtude, e através, das próprias relações estruturais que definem e regulam o sistema a que chamamos célula (Atlan & Koppel, 1990; Strohmman, 1997; Atlan, 1999; Lewontin, 2000; Cohen & Atlan, 2006). A mesma situação pode ser observada nos processos de endossimbiose e na formação das células eucarióticas fotossintéticas que, mais adiante, iremos analisar.

3. Emergências diacrónica e sincrónica

Com base nesta distinção entre diferentes tipos de sistemas e suas propriedades características é possível, a nosso ver, propor uma *concepção relacional unificada* das noções diacrónica e sincrónica de emergência, à luz de uma dupla relação de dependência (sob a forma de condições necessárias) e de independência (sob a forma de condições não suficientes) entre certas propriedades de sistemas e as propriedades das entidades que são, ou serão, suas partes.

3.1 Emergência diacrónica

A noção de emergência diacrónica aplica-se à ocorrência de uma nova propriedade estrutural (P) – de um sistema já previamente existente, ou de um novo sistema (S) –, a partir de um processo de relações transformativas entre as entidades (E) que já eram, ou viriam a ser depois, partes próprias de S .

Assim, a instanciação de P por S em t^* é diacronicamente emergente relativamente às propriedades das entidades E em t , se, e somente se,

i) a instanciação de P por S em t^* depende (a) de algumas propriedades instanciadas em t pelas entidades E ; bem como (b) das relações causais e/ou nomológicas que entre tais propriedades se estabeleceram entre t e t^* ;

ii) mas as condições (a-b) não são condições necessárias e suficientes para a instanciação de P ; por outras palavras, as condições (a-b) configuram-se

como *causas* apenas *parciais* da instanciação de P por S em t^* .

A emergência diacrónica de P não é, todavia, misteriosa. Ela explica-se pelo facto das entidades E terem sido sujeitas a certas *transformações* ao nível das suas identidades qualitativas e causais, por via de processos relacionais ocorridos entre t e t^* . Por isso é que as condições necessárias e suficientes para a instanciação de P por S em t^* só se encontram reunidas no *termo final* desse mesmo processo.

A emergência diacrónica demonstra, assim, a ausência de um *micro-determinismo diacrónico* (como uma forma de pré-determinismo ou pré-formacionismo), no sentido em que nada em t determinava t^* . Consequentemente, ela desautorizará, em termos epistemológicos, uma qualquer *micro-previsibilidade* da instanciação de P por S , a partir, unicamente, dos dados disponíveis em t – i.e., do conjunto das propriedades que as entidades E manifestavam em t , e das leis a essas propriedades associadas.

3.2 Emergência sincrónica

A noção de emergência sincrónica não se refere, evidentemente, a um processo, mas a um *estatuto* de autonomia relativa que um dado sistema, em função de algumas propriedades e capacidades causais si associadas, detém relativamente às propriedades e às capacidades causais das suas partes contemporâneas.

Todavia, as noções de emergência diacrónica e sincrónica não se excluem mutuamente. Um sistema ou uma propriedade sistémica diacronicamente emergentes podem, uma vez formados, preservar um estatuto relativamente autónomo, em cada momento da sua evolução, face às suas partes individuais.

A noção de emergência sincrónica compreende três características fundamentais: uma *autonomia estrutural e causal* de um sistema face às suas partes, e uma *relação de co-determinação parcial e recíproca* entre as partes e a estrutura relacional de um mesmo sistema. As autonomias estrutural e causal são já exemplificáveis pelas propriedades estruturais dos chamados ‘sistema de componentes’. A noção mais forte de emergência sincrónica envolve, para além dessas duas espécies de autonomia, a mencionada relação de co-determinação. Esta noção forte de emergência é exemplificada, exclusivamente, pelos ‘sistemas integrados’.

A autonomia estrutural e causal de uma propriedade sistémica justifica-se pelo simples facto dessa propriedade ser uma propriedade de uma *estruturação relacional* específica de um conjunto de propriedades e capacidades

causais das partes de um sistema, e não do mero conjunto ou colecção dessas partes. Por isso é que um qualquer sistema organizado detém uma identidade própria, podendo assim apresentar propriedades, leis, e condições de existência e de persistência distintas das possuídas pelas suas partes (Simons, 1987, pp.214-215,324-360; Lowe, 1998, pp.183-185,198-199).

Esta autonomia estrutural e causal dá um conteúdo preciso a uma das noções mais paradigmáticas de emergência, porquanto associada à antiga máxima de que certos todos são mais que a mera soma das suas partes. Segundo Aristóteles, qualquer composto (*syntheton*) pode ser uma colecção (*pan*) de diversas partes, ou um todo un(ificad)o dessas partes (*holon*). Ora, quando as coisas são compostas por diversas partes, mas não de modo agregativo, essas coisas são todos cuja identidade é «*algo mais* que as suas partes» (*Metafisica*, VIII, 6 1045a 8-12). Este ‘algo mais’ para além das partes, ou este ‘algo diferente’ (*heteron ti*) de uma mera justaposição de partes (*Metafisica*, VII, 17, 1041b 11-33), é justamente a *forma* (*eidos*) ou organização estrutural que relaciona as partes, constituindo, do mesmo passo, a *unidade* e a *identidade* distintivas do todo que elas compõem.

Qualquer perspectiva que se apresente hoje como hilemórfica, estruturalista ou morfogenética reconhece esta diferença fundamental (classicamente sintetizada pelo princípio ‘composição não é identidade’) entre as entidades que se constituem como *partes* de um sistema, e a *estrutura relacional* desse sistema como uma totalidade organizada (e.g., Piaget, 1970a; Delattre, 1971; Simons, 1987, 2006; Archer, 1995; Fine, 1999; Johnston, 2006; Koslicki, 2008).

Por exemplo, se bem que o núcleo de um átomo de Hélio-4 seja composto por dois neutrões e dois protões, este núcleo só existe enquanto núcleo, em virtude de um tipo específico de interacção chamado nuclear forte: λxy [x está ligado, pela interacção nuclear forte, a y], ou: λxy [x troca glúões com y] (Simons, 2006, p.607). As conhecidas ‘fórmulas moleculares’ (por exemplo, ‘H₂O’) não nos dão, como se sabe, a identidade específica das diferentes moléculas (como o demonstram os fenómenos de isomeria), dado que elas indicam, tão-somente, os tipos de elementos que as constituem e o número dos seus átomos respectivos. Só as chamadas ‘fórmulas estruturais’ (com a sua representação das relações espaciais), ou, mesmo, as ‘estruturas das ligações’ representam o que é, e como *existe*, uma molécula enquanto sistema relacional concreto (Hendry 2013).

Uma propriedade estrutural de um todo organizado não é, assim, uma propriedade *distributiva* ou *colectiva* das suas partes, mas uma propriedade de

‘primeira ordem’ desse todo tomado como uma *unidade* estrutural. Por isso é que a noção de estrutura é definível como uma totalidade, cujas «leis, ditas de composição, não se reduzem a associações cumulativas, mas conferem ao todo, enquanto tal, propriedades de conjunto distintas das propriedades dos seus elementos» (Piaget, 1970a, p.7).

Aliás, como Hüttemann observou (2004, pp.91-92), a mera necessidade de obtermos ‘leis de composição’ para darmos conta de algumas propriedades sistémicas é já sinal de que não existe uma relação de micro-determinação unidireccional e hegemónica dos todos pelas suas partes, nem a tão invocada ‘prioridade ontológica’ das partes e das suas respectivas micro-leis¹⁹.

Numa palavra: uma propriedade estrutural de um sistema organizado pertence à estrutura relacional que compreende as suas partes, e não às partes, enquanto tais, nem à sua mera justaposição. Como Peter Simons observou, «é surpreendente como muitos ontólogos (...) falham em distinguir entre uma *coleção* de vários indivíduos, e o *indivíduo* que eles compõem» (2006, p.599, n.4).

Uma propriedade (*P*) de um sistema (*S*) é *estruturalmente* autónoma, de um ponto de vista sincrónico, relativamente às partes de *S*, se e somente se,

- i) a instanciação de *P* por *S* depende de algumas das propriedades, capacidades causais e relações locais das partes de *S*;
- ii) mas *P* é uma propriedade de uma estruturação (organização, orquestração) específica das propriedades, capacidades causais e relações das partes de *S*, e não do seu mero conjunto ou coleção.

A autonomia causal de um sistema determina-se pelas capacidades causais de interacção que o sistema detém em virtude das suas propriedades estruturais.

Uma propriedade estrutural (*P*) de um sistema (*S*) é *causalmente* autónoma, de um ponto de vista sincrónico, relativamente às partes de *S*, se, e somente se,

- i) em cada momento da sua evolução, *S* tem uma determinada capacidade causal em virtude de possuir *P*;

¹⁹ «(...) micro-laws [are] laws that describe how the subsystems of compound systems would behave if they were isolated. In this sense composition laws are certainly not among the micro-laws. But then the claim that macro-laws involve no further commitment over and above those of the micro-laws is false. A macro-law is not merely the micro-laws. It incorporates the laws of composition, i.e. it incorporates information about how the contributions of the subsystems add up. (...) Thus, in considering a system as a compound physical system we are not merely conceiving the behaviour of the parts, we *furthermore* assert how their behavior combines.» Por isso, «the composition-laws establish a non-hegemonic determination relation that fails to establish the hegemony of the micro-level» (Hüttemann, 2004, pp.91-92).

ii) mas P é sincronicamente determinado por uma estruturação (organização, orquestração) específica de certas capacidades causais das partes de S , e não por um mero conjunto ou subconjunto dessas capacidades²⁰.

É neste sentido que a ‘estrutural relacional’ de um sistema deve ser concebida

- como o verdadeiro *sujeito instanciador* de certas propriedades do sistema,
- bem como o verdadeiro *agente causal* das capacidades causais associadas a essas propriedades.

Capacidades causais como a homeostasia, a auto-regulação, a plasticidade, ou a adaptação pertencem a células ou organismos pluricelulares, enquanto sistemas estruturados ou organizados, não sendo inteligivelmente concebíveis como meros conjuntos ou subconjuntos das capacidades causais individuais dos seus constituintes (Boogerd et al., 2005, p.133). Enzimas individuais catalisam reacções particulares, mas elas não protagonizam actividades fisiológicas como a síntese de proteínas. Somente a estrutura relacionalmente orquestrada de uma célula é capaz de realizar uma tal operação (Bechtel & Hamilton, 2007, p.406). Numa palavra: é em função da sua estrutura relacional que um sistema, como um todo, *age* e tem o *poder* de agir de certas formas, *em cada momento* da sua existência.

Esta autonomia estrutural e causal de um sistema é, por isso, suficiente, não apenas para desacreditar as perspectivas eliminativistas ou epifenomenalistas do ‘*nothing-but-ism*’, como uma «mítica invenção filosófica» (Wimsatt, 2017, p.304)²¹, mas para igualmente se reconhecer a autonomia relativa das chamadas ‘ciências especiais’ (Wimsatt & Sarkar, 2006, p.701).

A relação de *co-determinação* parcial e recíproca entre as partes e a estrutura relacional de um sistema define, como dissemos, a noção mais forte de emergência ontológica.

Uma propriedade (P) de um sistema (S) é sincronicamente emergente, no sentido mais forte do termo, relativamente às partes de S , se e somente se,

- 1) a instanciação de P por S depende de algumas propriedades e capacidades causais das partes de S ;
- 2) mas não somente $P(a)$ é sincronicamente determinada por uma organização específica dessas propriedades e capacidades (e não pela sua mera

²⁰ Compare-se com as ‘condições’ apresentadas por J. Wilson (2015, pp.356-357).

²¹ «‘Genes are the only units of selection’, ‘Organisms are nothing but bags of genes’, ‘The mind is nothing but neural activity’, ‘Social behavior is reducible to or nothing more than the behavior of individuals’. If total aggregativity is so rare, why are claims like these so common?» (Wimsatt, 2017, p.304).

adição); (ii) como as partes de *S* apenas manifestam tais propriedades e capacidades em virtude, e através, da estrutura relacional que define e regula o próprio sistema *S*.

Ou seja, a questão não se limita a identificar-se as entidades que instanciam as propriedades e capacidades causais que servem de base à existência e à identidade dos sistemas (i.e., as suas partes), mas de saber *porque* instanciam elas tais propriedades e capacidades causais. Ora, se esse porquê, ou essa *causa*, remete para as relações que as partes somente desenvolvem no contexto das estruturas relacionais específicas de certos sistemas, a explicação cabal dos sistemas já não poderá ser feita em função das suas partes como entidades absolutamente primeiras e autodeterminadas. Assim se observa o fracasso de uma qualquer micro-determinação unidireccional e hegemónica dos sistemas pelas suas partes²².

Por esta razão é que as propriedades sistémicas emergentes representam «tipos de macro-propriedades insusceptíveis de serem objecto de uma micro-explicação com base em modelos de variáveis individuais-independentes». Desta forma, a «noção de emergência pode ser generalizada de forma a recobrir as dinâmicas não-lineares» observáveis em sistemas nos quais os comportamentos das partes se encontram tão correlacionados e interdependentes que o clássico princípio de sobreposição se torna inaplicável (Auyang, 1999, p.178).

Como é óbvio, uma relação de transformação ou de interdependência estrutural pode assumir diversas formas e graus de intensidade. Com efeito, qualquer relação causal, por definição, modifica os seus relata, já que qualquer um deles sofre o efeito da acção do outro. Ora, até no seio de meros agregados as partes interagem fisicamente umas com as outras (Levins, 2017 [1970], p.75). Por outro lado, uma série gradual de mudanças mínimas, em termos estritamente quantitativos ou de ‘valores’ (Auyang, 1999, p.49), pode

²² Por isso é que a derradeira escapatória do essencialismo atomista e da sua doutrina micro-reducionista parece hoje consistir, ou na adopção do potencialismo mais extremo e desbragado – ‘seja qual for a nova propriedade, ela já existia, desde sempre, em potência, no seu instanciador’ –, ou na simples ‘reconstrução’ de toda e qualquer propriedade relacional como uma propriedade monádica intrínseca ou de nível inferior. Como Wimsatt ironicamente ‘aconselha’: «Describe a relational property as if it were monadic, or a lower-order relational property. Thus, e.g., describe fitness as if it were a property of phenotypes or genes, ignoring the fact that it is a relation between organism and environment. (This strategy may be justified/facilitated [and its strong assumptions hidden] by fixing the environment, thus making it artificially disappear as a variable)» (Wimsatt, 2017, p.347). Na verdade, «[m]any of the properties attributed to entities at a given level (...) will in fact be disguised relational properties» (Wimsatt, 2017, p.210).

gerar, por efeitos de limiar, a formação de propriedades qualitativamente novas e a aquisição de capacidades causais novas associadas a tais propriedades.

Daí que o factor ontologicamente distintivo de uma emergência diacrónica ou sincrónica, no sentido mais forte do termo, é que uma propriedade de um sistema só exista, e só seja assim explicável, como um produto estrutural (organizacional) de propriedades e capacidades causais que as suas partes só manifestam em virtude, e através, das estruturas relacionais que definem e regulam esse mesmo sistema.

A noção mais forte de emergência ontológica implica, assim, a satisfação de duas condições, explicitamente distinguidas por Bechtel e Richardson (2010, pp.xlv-xlvi):

i) que os comportamentos e as capacidades causais efectivamente manifestados pelas diferentes partes de um sistema sejam determinados por uma estrutura de interacções recursivas e não-lineares que é específica a esse mesmo sistema, como uma totalidade relacional; e

ii) que as propriedades estruturais do sistema sejam, por seu turno, determinadas pelo conjunto dessas interacções recursivas e não-lineares, sob a forma típica de um ‘controlo distribuído’.

Esta dependência estrutural das partes é claramente observável nos processos causais cíclicos (não-sequenciais) ou recursivos, de natureza retroactiva (*feedback*) ou pró-activa (i.e., por interacções antecipatórias: *feed-forward*)²³, assim como nos conhecidos processos de auto-organização, estudados nos mais variados domínios científicos (e.g., Feltz et al., 1999). Por exemplo, como já atrás se referiu, as capacidades causais que uma célula possui são determinadas pela estrutura específica de uma rede de interacções modificadoras entre as suas moléculas e macromoléculas. Mas há mais: as funções causais que uma célula desempenha num dado organismo são igualmente determinadas no curso do tempo, por um processo de diferenciação, através do qual a célula «adquire propriedades estruturais e funcionais» novas, através de uma série de interacções com outras células do mesmo organismo (Gilbert & Barresi, 2016, pp.29-44). Outro exemplo: as capacidades

²³ «Both the structure (the particular assembly) and the function (the ontogenetic role) of genes derive from spatial and temporal aspects of the state of the cell-organism. In turn, genes so produced help to regulate ontogenetic processes in the developing organism as participants in nonlinear feedback and feed-forward networks generating and being generated by the developing organism. Consequently, the usual idea of genetic primacy is rendered incoherent» (Robert, 2004, p.75).

causais de uma proteína são determinadas por uma orquestração específica de um vasto conjunto de capacidades causais que diferentes moléculas e macromoléculas manifestam, e só manifestam, no contexto de uma rede de interacções específicas à estrutura relacional de uma célula (Cohen & Atlan, 2006)²⁴.

3.3 Consequências epistemológicas

Desta forma julgamos ter evidenciado porque razão qualquer propriedade ou sistema emergentes são susceptíveis de ser *causalmente* explicados, se bem que não de forma micro-reducionista. A forma alternativa de explicação corresponde, a nosso ver, ao modelo que hoje se apresenta como *neo-mecanicista*. Nesta óptica, qualquer propriedade emergente é susceptível de ser explicada em função de uma determinada estrutura relacional (ou ‘orquestração’) de diferentes tipos de relações e interacções (espaciais, temporais e causais) entre diferentes entidades concebidas como partes interactivas²⁵.

Qualquer propriedade emergente (E) é, desta forma, explicável como uma propriedade de uma relação não-linear (R_{NL}) entre as partes (a_1, a_2, a_3, \dots, n) de um sistema – ‘ $E = R_{NL}(a_1, a_2, a_3, \dots, n)$ ’ –, ou, alternativamente, como uma propriedade de uma relação linear (R_L) entre certas *propriedades relacionais* dessas

²⁴ «A single protein may assume several functionally different conformations, and so the gene that gives rise to the protein may be said to function in more than one way. Moreover, the protein encoded by the gene can (and does) undergo chemical modifications (enzymatic cleavage, aggregation with other molecules, phosphorylation, glycosylation and so forth) to carry out further functions independent of the gene. The protein glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase first discovered as an enzyme, for example, is now known to have a role in membrane fusion, microtubule bundling, RNA export, DNA replication and repair, apoptosis, cancer, viral infection and neural degeneration.» Mais: «a single protein can function in very different ways during prenatal development and later in life after development is completed» (Cohen & Atlan, 2006, p.2). Por esta ordens de razões é que Evelyn Fox Keller pode tecer a seguinte conclusão: «The new developmental biology brings with it a resurgence of interest in many of the problems of organization and morphogenesis (...). The findings that result point neither to cytoplasmic nor to nuclear determination but rather to a complex but highly coordinated system of regulatory dynamics that operate simultaneously at all levels: at the level of transcription activation, of translation, of protein activation, and of the intercellular communication – in the nucleus, in the cytoplasm, indeed in the organism as a whole» (Keller, 1995, pp.29-30).

²⁵ Esta é justamente a noção geral de ‘mecanismo’ adoptada pelos neo-mecanicistas. Por exemplo: «A mechanism is a structure performing a function in virtue of its component parts, component operations, and their organization. The orchestrated functioning of the mechanism is responsible for one or more phenomena» (Bechtel & Abrahamsen 2005: 423). Para uma recente apresentação dos principais temas, problemas e debates no seio da abordagem neo-mecanicista, *vide* Glennan & Illari, 2017.

mesmas partes ($pr^1, pr^2, pr^3, \dots, n$) – i.e., das partes já determinadas pela estrutura relacional do seu próprio sistema: $E = R_L[a_1(pr^1), a_2(pr^2), a_3(pr^3), \dots, n]$.

Por isso é que um sistema emergente não pode ser definido como uma soma ou composição das suas partes, tomadas em si e por si mesmas, mas pode (e deve) ser definido como uma *forma de composição das suas relações* ou das *propriedades e capacidades causais relacionais* das suas partes.

Cumpre, todavia, ressaltar que mesmo este tipo de explicação implica uma *abstracção* de cada sistema face às relações que ele mantém com o seu meio. Isto significa que a explicação de muitas propriedades sistémicas tem de *integrar* três níveis de análise: (i) os diferentes tipos de relações locais entre os constituintes de um sistema; (ii) a estrutura relacional no seio da qual essas relações se formam e desenvolvem; e (iii) as relações do sistema, enquanto tal, com o seu meio, incluindo no seio de organizações estruturais de nível superior.

A própria abordagem neo-mecanicista reconhece, porém, a necessidade de articular estes três níveis de análise e de explicação, já que parte da sua novidade teórica (face ao mecanicismo do século XVII) radica, justamente, numa concepção explicitamente relacional incompatível com qualquer forma de atomismo metafísico ou individualismo metodológico²⁶.

A perspectiva aqui esboçada opõe-se, assim, quer ao essencialismo atomista, quer ao descritivismo de tipo holista, na medida em que ela não

²⁶ «While there are certainly historical and conceptual connections between the New Mechanism and these earlier incarnations of mechanical philosophy, there are important differences that bear emphasis at the outset. First, the New Mechanists are *not committed to atomism either metaphysically or methodologically*. New Mechanists have emphasized that nature is hierarchically arranged, with new and different kinds of entities and interaction arising at different levels of organization» (Glenann, 2017, p.6 – *italico inserido*). Registe-se, a este respeito, as pertinentes observações de William Bechtel: «mechanistic explanations are inherently reductionistic *insofar* as they require specifying the parts of a mechanism and the operations the parts perform. *But* they also require consideration of the *organization* of the whole mechanism and its relation to conditions in its *environment* since it is only when appropriately situated that a mechanism will produce the phenomenon of interest. Mechanistic explanations are always multilevel accounts, integrating information about parts, operations, and organization within the mechanism with characterization of the phenomenon exhibited by the whole mechanism» (Bechtel, 2011, p.538 – *italicos inseridos*). Assim, «[t]he notion of reduction that arises with mechanistic explanation (...) is very different from that which has figured either in popular discussions or in recent philosophy of science, and its consequences are quite different. In these discussions, appeals to lower levels are thought to deny the efficacy of higher levels (...). While the functioning of a mechanism depends upon its *constitution*, it also depends on its context, including its incorporation within systems at yet *higher levels of organization*. Mechanistic reductionism neither denies the importance of context or of higher levels of organization nor appeals exclusively to the components of a mechanism in explaining what the mechanism does. The appeal to components

considera, seja as partes, seja os seus todos, como entidades primeiras, independentes ou auto-suficientes, a partir das quais se poderia reconstruir toda a realidade. Entidades como todos e como partes só se definem e explicam pelas suas relações de construção recíproca.

Se do ponto de vista ontológico há que atribuir um estatuto ontológico equivalente à tríade relata/partes, relações, sistemas/todos relacionais (dado que nenhum deles existe sem os outros), do ponto de vista epistemológico, a primazia vai para as *relações*. Se algum sentido haverá, pois, em insistir-se no qualificativo ‘reducionista’ para caracterizar toda e qualquer forma de explicação, diremos, então, que o tipo de explicação aqui proposto tem a forma de uma *redução relacional*, na exacta medida em que

- as propriedades sistémicas emergentes só são explicáveis como propriedades de estruturas relacionais específicas, em última instância, geradas, reproduzidas e transformáveis por um conjunto de diferentes *relações locais* entre as suas partes (negando-se, por essa via, qualquer forma de holismo); e
- a instanciação das propriedades e das capacidades causais das partes que se configuram como mais relevantes na produção das propriedades emergentes de um sistema só é, por sua vez, explicável em função das relações que as partes desenvolvem no contexto das *estruturas relacionais* que definem e regulam os seus próprios sistemas (negando-se, por essa via, qualquer forma de atomismo ou de individualismo).

Foi no quadro desta perspectiva relacional-dinâmica que se propôs uma *concepção unificada* das noções de emergência diacrónica e sincrónica por oposição às diferentes formas de *micro-reducionismo*: micro-determinismo diacrónico, micro-determinação sincrónica, micro-previsibilidade e micro-explicação.

Tipos de emergência	Ontologia	Epistemologia
<i>Diacrónica</i>	Interaccionismo construtivista (Actualismo modal disposicionalista) (≠ Micro-pré-determinismo)	≠ Micro-imprevisibilidade

in fact serves a very restricted purpose of explaining how, in a given context, the mechanism is able to generate a particular phenomenon» (Bechtel, 2006, pp.40-41 – itálicos inseridos).

<i>Sincrónica</i>	Autonomia estrutural e causal + Co-determinação partes/ estrutura relacional (≠ Micro-determinação)	Explicação neo-mecanicista (≠ Micro-explicação)
-------------------	--	---

Ora, esta relação de compatibilidade (e, mesmo, de continuidade) entre as abordagens sincrónica e diacrónica dos fenómenos de emergência nada tem, afinal, de surpreendente, se reconhecermos

– que cada estado estrutural de um sistema (sincronicamente observável em cada momento da sua evolução) só existe na medida em que ele é preservado por um processo relacional que continuamente reproduz as condições da sua persistência; e

– que a existência de diferentes níveis de organização estrutural correspondem sempre a diferentes estádios de formação e construção da realidade.

Relações de *transformação* estrutural entre diferentes entidades podem tornar-se, no curso de um processo de desenvolvimento ou evolução, relações sincrónicas de *interdependência* estrutural dessas mesmas entidades, enquanto partes de um sistema entretanto já formado. Como veremos, isso mesmo é exemplificável pela ocorrência dos conhecidos processos de endossimbiose e, em particular, pela formação das células eucarióticas fotossintéticas, como sistemas genuinamente emergentes na estrutura e na evolução biológica do nosso planeta.

4. Simbiose e endossimbiose

Em 1904, o naturalista alemão Ernst Haeckel (1834-1919) publicou, em dois volumes, *Kunstformen der Natur* [Formas de Arte da Natureza], uma obra deslumbrante, constituída por um conjunto de ilustrações – litografias e impressões em papel de carvão – de alguns organismos. Desse conjunto ressalta uma placa contendo diversas espécies de líquenes (Fig.1). A escolha de Haeckel em dedicar uma ilustração aos líquenes não é fortuita. De facto, eles ocuparam, desde cedo, um lugar central naquilo que viria a ser a *história da simbiose*, servindo por vezes de motivo para a *derrota* de vários biólogos no seu campo de estudo. Usados amplamente no domínio da medicina²⁷ e da

²⁷ São conhecidas as propriedades antibacteriana e antifúngica dos ácidos liquénicos.

arte²⁸, pelo menos desde a Antiga Grécia, somente no final do século XIX e sobretudo no princípio do século XX a sua natureza foi suficientemente esclarecida. Os líquenes, para além das suas múltiplas utilidades (na medicina e na arte, como referimos, mas também como fonte de alimento, fonte de matéria prima e, mais recentemente, como bioindicadores de poluição ambiental), resultam da associação entre um fungo – maioritariamente *Ascomycetes*, mas também *Basidiomycetes* – e um simbionte fotossintético (fotobionte), que poderá ser uma alga verde (os géneros *Trebouxia* e *Trentepohlia* são os mais frequentes) ou uma cianobactéria (a mais frequente é a do género *Nostoc*)²⁹. Embora se pensasse que os fungos se associavam indiscriminadamente a qualquer fotobionte, desde que este contribuísse para a sobrevivência daquele (Hill, 2009), sabe-se hoje que esta associação é específica para o género do fotobionte, mas não para a espécie (Lücking et al., 2009). Da associação entre o fungo e o fotobionte resultam características morfológicas e fisiológicas que não estão presentes nos seus componentes quando fora da associação (Sanders, 2001), nomeadamente a formação de um talo – vulgarmente designado por *talo líquénico* – com características morfológicas distintas (Fig.2). De facto, quando os fungos não-liquenizados são colocados em cultura pura, observa-se um crescimento lento de um conjunto de filamentos. O desenvolvimento de um talo é activado somente pela presença de um fotobionte (Ahmadjian, 1993), o qual parece iniciar uma cascata morfogenética que conduz à estratificação do talo, seguido de uma alteração dos padrões de expressão génica (Trembley et al., 2002). Honegger (2001) referiu-se ao talo líquénico como um «fenótipo simbiótico», mas é possível que estejam também envolvidos mecanismos genéticos quer no reconhecimento quer na interacção conducente ao desenvolvimento do talo (Grube & Hawksworth, 2007). Entretanto, estudos recentes têm vindo a mostrar que comunidades altamente estruturadas de bactérias não-fotossintéticas – entre as quais predominam as *a-proteobactérias* – são também um componente importante do talo líquénico, com funções distintas, que necessitam ainda de ser melhor

²⁸ Segundo Schneider (1897, p.5), é possível que a referência, no livro do profeta Ezequiel, à púrpura e ao escarlate – «O linho fino do Egipto com os seus bordados formava as tuas velas para te servir de pavilhão. A púrpura e os escarlate das ilhas de Elisha formaram a tua cobertura» (Ez. 27, 7) – seja na verdade uma referência a corantes obtidos a partir de uma determinada espécie de líquenes (*Rocella tinctoria*). De facto, conhece-se o uso destes líquenes no processo de coloração muito antes do tempo de Plínio.

²⁹ Existem casos em que está presente apenas a cianobactéria, mas também se conhecem casos em que o fungo estabelece uma associação primária com uma alga verde e uma associação secundária com uma cianobactéria (Friedl & Büdel, 2008).

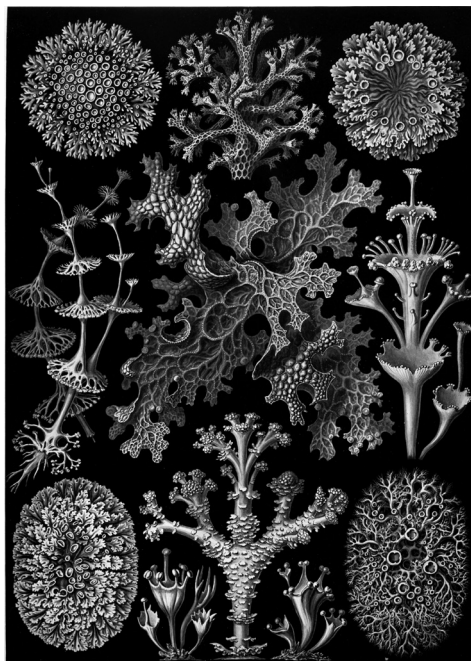


Fig. 1 – Placa contendo diversas espécies de líquenes extraída da obra *Kunstformen der Natur* (1904, *Tafel 83*), de Ernst Haeckel.

compreendidas (Bates et al., 2011), mas que poderão estar relacionadas com a fixação de azoto ou até mesmo com a produção de compostos com actividade antibacteriana e hormonal (Grube & Berg, 2009; Grube et al., 2009).

Embora a «identidade biológica» dos líquenes esteja suficientemente compreendida, a sua história³⁰ está fortemente marcada pela dúvida quanto à sua origem, a sua natureza e a sua posição no reino vegetal. Conhecidos e manipulados desde os tempos de Teofrasto (372a.C.-287a.C.), e desde então classificados indiscriminadamente como musgos, algas ou fungos (Schneider, 1897, p.6), somente em 1694³¹ o botânico francês Joseph Pitton de Tournefort (1656-1708) reconhece, de certa forma *avant la lettre*, que os líquenes constituem afinal uma classe distinta de plantas. Pese embora este

³⁰ Para uma revisão da história dos líquenes até 1897, cf. Schneider (1897).

³¹ Tournefort, J.P. de. *Elements de Botanique*. Paris, 1694.

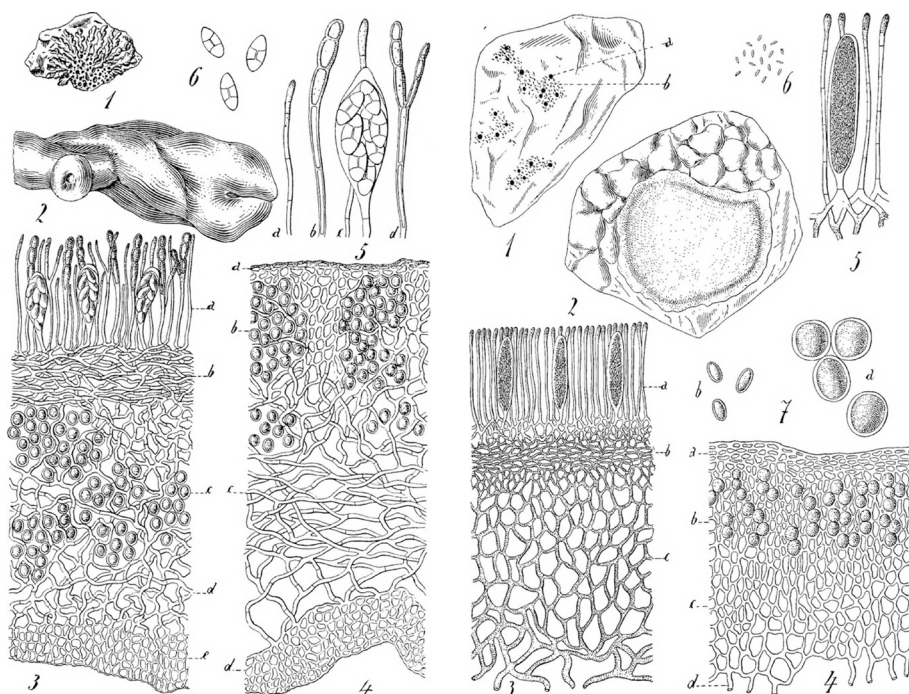


Fig.2 – Representação em corte de alguns talos líquenicos extraídos da obra de Albert Schneider (1897): à esquerda, de *Placidium elegans* (plate 35), e à direita, de *Acarospora* (plate 42).

reconhecimento, o trabalho dos botânicos incidia sobretudo na descrição de novas espécies³² e em tentativas mais ou menos originais de desenvolver sistemas de classificação, sobretudo com base na forma e na estrutura do talo líquenico. Pouco se sabia sobre a sua anatomia e muito pouco sobre a sua fisiologia, e até mesmo a sua posição no reino vegetal, proposta por Tournefort, não reunia consenso. Veja-se, a título de exemplo, as ideias de Hornschuch, de 1819, quanto à origem dos líquenes:

Algas, líquenes e musgos desenvolvem-se na ausência de semente a partir de água em decomposição. A decomposição da água induzida pelo calor e pela luz solar dá origem ao ancestral comum das formas vegetais acima referidas. Este ancestral

³² Segundo Schneider, no período entre 1694 e 1729, foram descritas perto de 70 novas espécies, aumentando assim o número de espécies conhecidas até então para cerca de 120 (Schneider, 1897, p.7).

é um vegetal *infusorium* conhecido por *Monas leus* (substância verde de Priestley) que, quando activado pela luz e pelo ar, é submetido a uma transformação, evoluindo em algas, líquenes e musgos. Os líquenes são, na realidade, musgos que foram submetidos a esta transformação no curso da sua evolução, e podem muito bem ser considerados monstrosidades vegetais. Os apotécios (dos líquenes) não são frutos, antes o início de uma corola, análoga à da flor dos musgos (*Moosröschen*). As observações de Micheli em relação ao desenvolvimento dos líquenes a partir dos sorálios devem ser desacreditadas uma vez descoberta a geração espontânea dos líquenes (cf. Schneider, 1897, p.16, tradução nossa).

Porém, até meados do século XIX, os botânicos que se dedicavam ao estudo dos líquenes estavam mais interessados na sua descrição e classificação (sistemática), e ainda que tivessem dedicado alguma atenção à morfologia, faziam-no apenas como um meio complementar. É justamente a partir deste momento que o interesse dos botânicos se desloca da colecção, descrição e classificação para o estudo comparativo da morfologia, ciclo de vida e fisiologia das várias espécies de líquenes até então conhecidas e descritas. Neste domínio, importa destacar o contributo exemplar do botânico alemão Anton De Bary (1831-1888). Num trabalho publicado em 1866, intitulado *Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten* [Morfologia e Fisiologia de Fungos, Líquenes e Mixomicetes], De Bary descreve de forma minuciosa a estrutura morfológica e anatómica de vários líquenes, em particular de líquenes crustáceos. Schneider refere que «De Bary acreditava que alguns líquenes gelatinosos (*Ephebe*, etc.) correspondiam a estádios maduros ou perfeitos de plantas cujos estádios imaturos são reconhecidos como formas de *Nostoc*, *Chroococcus*, etc.; ou que estes organismos são verdadeiras algas, atacadas por certos ascomicetes, cujas hifas penetram a alga e formam o talo liquénico» (Schneider, 1897, p.22). E, portanto, ainda segundo Schneider, é talvez por essa razão que De Bary deve ser considerado o primeiro autor a desvelar a verdadeira natureza dos líquenes. Porém, o período de maior importância para a história dos líquenes é aquele em que se reconhece, em definitivo, a sua natureza dual, isto é, a associação entre um fungo e uma alga. Embora, como vimos anteriormente, Schneider considere De Bary como o primeiro a desvelar a natureza dual dos líquenes, é frequente a literatura referir-se à «hipótese dualista» do botânico suíço Simon Schwendener (1829-1919) como o ponto de partida para um novo período da história dos líquenes e da simbiose. Schwendener, professor de botânica na Universidade de Basel, tinha-se dedicado a estudar o crescimento e o desenvolvimento do talo liquénico, assunto sobre o qual tinha publicado já alguns

trabalhos. Aliás, curiosamente, a sua primeira publicação sobre líquenes fruticulosos foi justamente a sua tese de habilitação para a obtenção do título de *Privatdozent*, na Universidade de Munique (Honegger, 2000). Os seus estudos distinguiam-se sobretudo pelas técnicas que empregava e pelo rigor das observações microscópicas que fazia. De facto, Schwendener foi discípulo de Carl Nägeli, e mais tarde seu assistente na Universidade de Munique, e foi com ele que aprendeu as melhores práticas de investigação em microscopia. Juntos publicaram *Das Mikroskop* [O Microscópio], em dois volumes, sobre a teoria e a prática da microscopia óptica e a sua aplicação na botânica (Nägeli & Schwendener, 1865, 1867). No dia 10 de Setembro de 1867, numa sessão pública em Rheinfelden, Schwendener dá a conhecer, pela primeira vez, a sua hipótese dualista para a natureza dos líquenes, na qual defende que os líquenes não devem ser vistos como plantas autónomas, mas antes como fungos associados a algas (Honegger, 2000). No entanto, esta hipótese encontrou forte resistência por parte da comunidade, sobretudo dos botânicos ligados à sistemática, uma vez que o reconhecimento dessa natureza dual, de certo modo ambígua, acabaria por introduzir uma anomalia fatal nos seus sistemas de classificação. Pese embora os biólogos tenham continuado a classificar os líquenes como uma classe distinta das plantas, a meio caminho entre as algas e os fungos, a hipótese de Schwendener acabaria por vir a ser confirmada experimentalmente por um amplo conjunto de botânicos, os quais acabariam por isolar a alga que estabelece associação com vários tipos de fungos, formando assim tipos particulares de líquenes. Alguns desses botânicos ensaiaram inclusivamente a sua produção sintética, através da cultura de componentes dos fungos e de constituintes de algas, separando-os ou juntando-os de forma a estudar a formação do talo. A verdade é que a obtenção de culturas isoladas de algas e de fungos se revelava quase sempre um fracasso. No caso das algas, quando o meio era devidamente suplementado com nutrientes essenciais, obtinham-se culturas viáveis. Todavia, no caso dos fungos, as dificuldades eram imensas. Schwendener, que tinha prosseguido os seus estudos sobre a natureza dual dos líquenes no Instituto de Botânica Experimental, que dirigia, sediado na Universidade de Berlim, levou a cabo uma série de experiências com o objectivo de compreender a fisiologia de ambos os componentes desta associação. Estudou a fisiologia dos fungos e das algas em separado, e acabou por concluir que as algas forneciam aos fungos hidratos de carbono sintetizados a partir do dióxido de carbono atmosférico, e os fungos, por sua vez, ampliavam consideravelmente a capacidade de absorção, por parte

das algas, de água e sais minerais contidos no solo. Por outro lado, também a inserção frequente deste tipo de associação na categoria do parasitismo, uma ideia vulgarmente dotada de uma carga negativa – «viver à custa de» –, não correspondia de forma alguma a este tipo de associação que se mostrava, afinal, mutuamente benéfica para os organismos envolvidos, note-se, organismos esses filogeneticamente distintos. É justamente da necessidade de encontrar um termo que corresponda à natureza deste tipo de associação que surge o termo «Simbiose», proposto inicialmente em 1877 por Albert Bernhard Frank (Sapp, 1994, p.6). É também este autor que, após um amplo conjunto de estudos sobre vários tipos de líquenes, dá conta da existência de alguns casos em que também a componente das algas se adaptou de tal forma à vida conjunta que acabou por perder a sua capacidade de viver de um modo independente. Porém, o termo «Simbiose» é habitualmente atribuído ao botânico alemão Anton De Bary (1831-1888) que, em 1878, no decorrer da reunião geral da Associação dos Naturalistas e Médicos Alemães, apresenta uma comunicação – *Die Erscheinung der Symbiose* [O Fenómeno da Simbiose] – na qual introduz uma definição mais ampla do termo: «vida conjunta de organismos não relacionados».³³ De acordo com Sapp (1994, p.7), embora De Bary não tenha feito qualquer referência a Frank nessa ocasião, em escritos posteriores acaba por fazê-lo e, mais importante ainda, chega mesmo a corroborar a hipótese de que algumas espécies de algas se adaptaram de tal forma ao «liquenismo» que acabaram por perder a sua capacidade de viver fora dessa associação, isto é, acabaram por perder a sua autonomia enquanto organismos de vida livre.

De Bary teve um papel crucial no desenvolvimento dos estudos simbióticos. Na década de 70 do século XIX, um dos centros de investigação de ponta em botânica experimental, ao nível mundial, estava sediado na Universidade de Estrasburgo e tinha como responsável justamente Anton De Bary. Os seus trabalhos foram considerados uma referência e a sua influência ressoou pelos inúmeros estudantes que afluíam ao seu laboratório para aí conduzirem as suas investigações no campo da fisiologia vegetal. Tendo, por isso, à sua disposição um vasto conjunto de dados sobre inúmeras associações de vários tipos, De Bary acabou por perceber que as associações em que ambos os componentes envolvidos beneficiavam dessa associação eram, na verdade, casos de mutualismo. O termo «Mutualismo» tinha sido introduzido em

³³ De Bary toma o termo «Simbiose» como uma designação genérica para uma associação geral. Parasitismo, mutualismo, liquenismo, etc., são casos particulares desta associação geral. (De Bary, 1878, cf. Sapp, 1994, p.3).

1875 pelo zoólogo belga Pierre-Joseph van Beneden (1809-1894). Num livro que se tornou bastante popular à época, intitulado *Les Commensaux et les Parasites* [Os Comensais e os Parasitas], van Beneden contraria a ideia comum de que todas as relações íntimas envolvendo «animais inferiores» e «animais superiores» se tratavam de relações parasitárias. Pelo contrário, à semelhança do que acontece nas sociedades humanas, também as relações sociais que ocorrem nas sociedades animais são de diversos tipos, propondo então uma classificação dessas relações: «Parasitismo», «Comensalismo» e «Mutualismo». De Bary retoma estas definições e procura aplicá-las ao domínio da botânica. Embora tenha considerado improvável a existência de comensalismo no reino das plantas, pelo menos com o sentido que van Beneden atribuía ao termo, reconheceu a existência de casos que se aproximam da definição de mutualismo. Um desses casos é a associação íntima que ocorre entre cianobactérias do género *Anabaena* e um pequeno feto aquático do género *Azolla*.³⁴ De Bary observou que as cianobactérias estavam presentes em todos os estádios do ciclo de vida desse feto, sem o prejudicar directa ou indirectamente. No caso dos líquenes, De Bary refere que estes são uma forma de vegetação compreendendo milhares de espécies, na qual todos os indivíduos mostram não apenas uma associação de dois ou até mesmo de três espécies diferentes, mas são constituídos unicamente por esta associação (Sapp, 1994, p.9).

De um modo geral, a simbiose tem vindo a ser referida como uma associação entre espécies diferentes, que pode implicar um benefício para todos os componentes envolvidos na associação («mutualismo»), um benefício para um dos componentes, mas sem prejuízo para os demais («comensalismo»), ou um benefício para um dos componentes com prejuízo para os demais («parasitismo»). Porém, de que tipo de benefícios estamos nós a falar?

Classicamente, reconheceram-se benefícios sobretudo ao nível trófico, mas também ao nível da protecção. No caso dos líquenes, por exemplo, tratava-se claramente de uma associação com benefícios tróficos mútuos. Desse ponto de vista, a simbiose seria entendida como uma interacção física de organismos – como dizia De Bary, «uma vida conjunta» – que,

³⁴ Para uma introdução ao sistema simbiótico *Azolla-Anabaena*-bactérias, ver, por exemplo, Carrapiço, F. (2010), *Azolla as a Superorganism: Its Implication in Symbiotic Studies*. In: J. Seckbach e M. Grube (eds.), *Symbiomes and Stress: Joint Ventures in Biology*, Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology, 17, 225-241, Springer; Carrapiço, F. e Rita, O. (2009), *Simbiogénese e Evolução*. In: A. Levy et al. (eds.), *Evolução. Conceitos e Debates*. Lisboa: Esfera do Caos, pp.175-198

independentemente do resultante da associação, ainda assim é possível reconhecer a sua identidade biológica, e de tal modo que mesmo uma interacção do tipo mutualista é, pois, avaliada pelos efeitos benéficos que ela proporciona a cada uma das partes envolvidas. É justamente esta a lógica que está subjacente ao conceito de associação, por exemplo, no domínio da Ecologia, em que este tipo de associação é frequentemente referido como uma «interacção biótica», sendo classificado em função dos efeitos próprios que essa mesma interacção tem sobre cada um dos componentes da associação (Tab.1). Neste sentido, estas interacções adicionam às equações básicas do crescimento populacional termos positivos, negativos ou nulos. Têm, por isso, um efeito directo na sobrevivência e no crescimento de cada uma das populações envolvidas. Nos ecossistemas, os vários tipos de interacções podem ser reduzidos a dois tipos gerais: *interacções negativas* e *interacções positivas*. E estas reduzem-se, por sua vez, a dois princípios gerais (Odum, 1971, p.340):

- Na evolução e no desenvolvimento dos ecossistemas, as interacções negativas tendem a reduzir-se ao grau mínimo em favor da simbiose positiva que reforça a sobrevivência das espécies em interacção;
- As associações recentes ou novas estão mais sujeitas a desenvolver *coacções* negativas severas do que as associações mais antigas.

Tab.1 – Efeitos das interacções entre populações de duas espécies (adaptado de Odum, 1971).

Tipo de interacção	Espécies		Natureza da interacção
	1	2	
<i>Neutralismo</i>	0	0	Nenhuma das populações afecta a outra
<i>Competição</i>	–	–	Inibição directa ou indirecta de cada uma das espécies pela outra
<i>Amensalismo</i>	–	0	Inibição da população 1 sem afectar a população 2
<i>Parasitismo</i>	+	–	População 1, parasita, em menor número do que a 2, hospedeira
<i>Predação</i>	+	–	População 1, predador, em maior número do que a 2, presa
<i>Comensalismo</i>	+	0	População 1, comensal, beneficia enquanto que a 2, o hospedeiro, não é afectado

<i>Protocooperação</i>	+	+	Interação favorável a ambas, embora não obrigatória
<i>Mutualismo</i>	+	+	Interação favorável a ambas e obrigatória

Proposto originalmente por Haskel, em 1949, este esquema de classificação das interações entre populações baseado nos seus efeitos positivos, negativos ou neutros foi amplamente generalizado. Edward O. Wilson (n.1929), entomólogo americano, na sua obra magistral *Sociobiology: A new synthesis* (1975), dedica um capítulo às «simbioses sociais», onde começa por considerar que «as adaptações ao nível social não são menos diversas do que as existentes ao nível organismal»³⁵ (p.353). Apresenta depois três categorias gerais de simbioses sociais – *comensalismo social*, *mutualismo social* e *parasitismo social* – e 11 subcategorias, tomando sempre como aprumo os efeitos benéficos, ou não, dessa interação para a sobrevivência e o crescimento de cada uma das «sociedades» envolvidas. Um dos exemplos de comensalismo social ali referido diz respeito ao caso dos peixes-trombeta do género *Aulostomus* que habitam as águas tropicais americanas e que usam um grupo de peixes-cirurgiões amarelos (*Zebrasoma flavescens*) para se camuflarem. Segundo Wilson, este comportamento parece ser uma espécie de extensão da tendência para os peixes-trombeta se camuflarem entre os corais. Diz-se comensalismo social porque nesta associação uma espécie é beneficiada (os peixes-trombeta) e a outra não é prejudicada (os peixes-cirurgiões amarelos). Este estratagema contribui de forma decisiva para que os peixes-trombeta não fiquem expostos aos seus predadores, aumentando desta forma a sua sobrevivência e, por conseguinte, a sua população. Como exemplo de mutualismo social, Wilson refere algumas espécies de formigas da América do Sul e Central cujos ninhos mantêm uma estreita associação, defendendo-o em conjunto, construindo-o em conjunto, eventualmente partilhando comida, embora nunca criem as respectivas proles em conjunto. Um outro caso que julgamos eloquente é o do mutualismo social que ocorre na região neotropical entre formigas do género *Azteca* e árvores do género *Cecropia*. Estas árvores têm caules e ramos ocos que são habitados pelas formigas. Estas protegem-na de animais herbívoros e de outros insectos. Funcionam, aliás, como uma espécie de «mecanismo imunitário não-específico» que defende a árvore de invasores externos. Em troca, as

³⁵ «The adaptations at the social level are no less diverse than those at the organismic level.»

formigas recebem um composto meloso, rico em glicogénio, produzido por glândulas localizadas junto ao pecíolo das folhas (Longino, 1991). Em suma, a árvore usufrui de protecção e as formigas usufruem de uma *oikos* bem como de nutrientes.

O ponto de vista de Wilson sobre as simbioses sociais vai ao encontro da lógica subjacente ao conceito ecológico de interacção, segundo o qual as diferentes interacções bióticas são classificadas em função dos efeitos próprios que essa mesma interacção tem sobre cada um dos componentes da associação. Mas os poucos botânicos que investigavam os vários casos de mutualismo entre plantas e animais inferiores, e que acreditavam que a cooperação entre tais grupos filogenéticos era bastante generalizada, estavam convencidos de que a simbiose podia dar origem a mudanças fisiológicas e morfológicas altamente especializadas, resultando assim num «todo» orgânico novo e «superior». De facto, alguns acreditavam mesmo que este processo esteve na origem da evolução de *todas* as plantas e de *todos* os animais. Tal argumento foi apresentado, uma vez mais, por Albert Schneider, que desenvolve um conceito de simbiose que se afasta do conceito proposto inicialmente por De Bary. Em vez de uma complexa interdependência de comunidades, sociedades ou populações, tendo por objectivo primordial o seu crescimento e, por conseguinte, a sua sobrevivência, Schneider vai estabelecer uma separação entre a mera interacção de seres vivos e aquilo que ele considera ser a «verdadeira simbiose». Classifica, assim, as associações simbióticas como antagonistas (parasitismo) ou mutualistas e dá especial atenção às alterações morfológicas e fisiológicas daí resultantes. Embora no caso do parasitismo as especializações e as adaptações morfológicas ou fisiológicas sejam limitadas – Schneider considera este tipo de interacção «destrutiva», pelo que qualquer alteração, a existir, conduzirá por certo à dissolução em vez de à sua evolução –, no caso do mutualismo elas são necessárias para o sucesso evolutivo da associação simbiótica: «(...) simbiose mutualista implica que haja um elevado grau de especialização e um aumento significativo da *fitness* necessários à luta pela existência»³⁶. Por conseguinte, no seu entender, o mutualismo é o tipo de associação que interessa à evolução, isto é, uma associação em que cada simbiote possui ou desenvolve uma característica específica que é útil para o outro simbiote. As alterações morfológicas que acompanham as relações funcionais que se estabelecem podem, ou não, ser

³⁶ «(...) mutualistic symbiosis implies that there is a higher specialization and greater fitness to enter into the struggle for existence.» (Schneider, 1897)

facilmente identificadas, e a adaptação não é nem quantitativa nem qualitativamente idêntica para ambos os simbioses. Neste sentido, os líquenes constituem um bom exemplo – em rigor, o primeiro exemplo – na medida em que se encontram amplamente distribuídos e possuem uma maior vitalidade e uma maior actividade fisiológica do que cada um dos simbioses de *per se*, ou seja, desta associação simbiótica resulta claramente uma vantagem evolutiva com peso para a sobrevivência de cada uma das partes. Embora tradicionalmente as associações simbióticas mutualistas tenham sido sempre encaradas como uma interacção de indivíduos ou populações que, apesar de tudo, mantêm uma certa autonomia³⁷ – isto é, a associação não é obrigatória e a existência dos simbioses, na sua máxima individualidade, não depende da associação –, Schneider percebe que existe um outro tipo de associação mutualista em que a existência dos simbioses passa a *depend*, de forma *permanente*, dessa associação. Muitas vezes nem sequer reconhecida como uma simbiose, estas associações, que Schneider optou por designar por «individualismo», formam assim uma «unidade morfológica e individual» (Schneider, 1897). E, uma vez mais, os líquenes são aqui apontados como um bom exemplo de um «individualismo completo».

4.1 Um mais um igual a um

Por forma a compreender melhor uma associação simbiótica de dois ou mais organismos, alguns autores têm vindo a representá-la com um equivalente aritmético, propositadamente anómalo, do tipo $2+3=1$ (Margulis & Guerrero, 1991)³⁸ ou ainda do tipo $1+1(+1)=1$ (Seckbach, 2002)³⁹. No caso

³⁷ No caso dos líquenes, a maioria dos botânicos admitia que o micobionte (fungo) teria perdido totalmente a capacidade de uma existência independente, mas quanto ao fotobionte (alga), este podia ainda existir de forma independente e autónoma.

³⁸ Os autores referem-se a *Mixotricha paradoxa*, um protista que habita o intestino da térmita *Mastotermes darwiniensis*. Embora seja uma única célula, na verdade é composta por muitas espiroquetas bem como por outras bactérias. No total, cinco entidades autopoiéticas que equivalem a um indivíduo: uma célula nucleada, duas espiroquetas, uma outra bactéria em forma de bastonete na superfície, e ainda outra bactéria endossimbiótica no seu interior. Para os autores, «*Mixotricha* é um exemplo de uma simbiose na qual organismos de espécies absolutamente distintas, em tempos separados, se associaram e formaram uma nova entidade, com propriedades diferentes das dos organismos que o compõem. (...) Esta nova entidade, este novo protista nadador, é um bom exemplo de um “domínio emergente”. A primeira “propriedade emergente” é a motilidade do complexo, e a propriedade subsequente é a capacidade para digerir madeira.» (Margulis & Guerrero, 1991, p.52).

³⁹ A hipótese do sinergismo é por vezes descrita como um tipo de relação em que, por exem-

particular dos líquenes, a associação simbiótica é, por vezes, representada na forma $1+1=1$ (leia-se, *fungo + fotobionte = líquen*). A anomalia aritmética pretende assim evidenciar justamente o efeito simbiótico da associação, isto é, pela associação de dois organismos distintos (*fungo + fotobionte*) obtém-se, como resultado, uma unidade morfológica e funcional – o líquen – composta pelos dois organismos, mas também por uma estrutura – o talo liquénico – que é uma característica única e exclusiva desta associação. Talvez pudéssemos introduzir aqui também as bactérias fotossintéticas, que sabemos estarem presentes nesta associação (Grube & Berg, 2009; Grube et al., 2009), resultando então na seguinte formulação: $1+1[+1] = 1$ (leia-se, *fungo + fotobionte [+bactérias] = líquen*). No entanto, ainda que o resultante seja uma unidade morfológica e funcional marcada por uma novidade – o talo liquénico –, a verdade é que, em sentido estrito, não se trata de uma estrutura absolutamente indiferenciada, na medida em que continua a ser possível reconhecer e identificar, nessa mesma unidade, o fungo e o fotobionte que lhe deram origem. Por conseguinte, talvez fosse mais adequado representar esta associação de uma das seguintes formas:

$1+1(+1) = [1+1+1]^*$ fungo + fotobionte (+ bactérias) **igual a** uma unidade estrutural composta obrigatoriamente por [fungo + fotobionte + bactérias], unidade essa que exhibe características morfológicas e fisiológicas *emergentes*, aqui representadas pelo asterisco

$1+1(+1) \longrightarrow [1+1+1]^*$ fungo + fotobionte (+ bactérias) **implica irreversivelmente** uma unidade estrutural composta obrigatoriamente por [fungo + fotobionte + bactérias], unidade essa que exhibe características morfológicas e fisiológicas *emergentes*, aqui representadas pelo asterisco

$1+1(+1) \longleftrightarrow [1+1+1]^*$ fungo + fotobionte (+ bactérias) **implica reversivelmente** uma unidade estrutural

plo, $1+1=3$. O que se pretende mostrar com esta aritmética anómala é que a sinergia entre dois organismos resulta em qualquer coisa superior à soma das partes, ou seja, o sinergismo implica a complexificação do sistema e nunca a sua simplificação (para uma descrição detalhada sobre a hipótese do sinergismo ver, por exemplo, Corning, 1983, 1997, 1998).

composta obrigatoriamente por [fungo + fotobionte + bactérias], unidade essa que exibe características morfológicas e fisiológicas *emergentes*, aqui representadas pelo asterisco

É, pois, a unidade representada por $[1+1+1]^*$ que deve ser designada por *líquen*, enquanto que as características *emergentes* correspondem, por sua vez, ao talo liquénico. Trata-se de uma simplificação do modo como representamos tal associação, mas, ainda assim, ele não nos satisfaz totalmente. É certo que nos dá informação relevante sobre o estado inicial e final do «todo», mas pouco nos diz sobre o que se passa, não apenas do ponto de vista quantitativo, mas também do ponto de vista qualitativo, às «partes» que o compõem durante o processo de formação do líquen. Quer dizer, será que o fungo, o fotobionte e até mesmo as bactérias, dentro da associação ($[1+1+1]^*$), mantêm a sua autonomia e a sua identidade biológica como quando fora dessa associação ($1+1(+1)$)? E será que o resultante dessa associação é devedor de uma mera recomposição das «partes» ou, pelo contrário, as «partes» são elas mesmas transformadas no curso do processo relacional? É um assunto complicado, uma vez que não dispomos ainda de dados experimentais conclusivos. Julgamos, por isso, que a verosimilhança deste tipo de aritmética é pouco representativa dos fenómenos que realmente ocorrem no «processo simbiótico». E, portanto, na sua vez, propomos uma representação relacional do seguinte tipo:

$R_s(A,B) \longrightarrow C$ a relação simbiótica (R_s) entre os organismos A e B, de espécies distintas, **implica irreversivelmente** a *emergência* de uma nova estrutura ou de um novo organismo (C)

ou

$R_s(A,B) \longleftrightarrow C$ a relação simbiótica (R_s) entre os organismos A e B, de espécies distintas, **implica reversivelmente** a *emergência* de uma nova estrutura ou de um novo organismo (C)

Ainda assim, também aqui nada nos é dito sobre o processo relacional em si, ou seja, sobre a série de eventos que ocorre em cada um dos organismos

envolvidos na relação simbiótica imediatamente antes da emergência, por exemplo, da nova estrutura ou do novo organismo C. Aliás, eventos esses que terão de ser *suficientes* e *necessários* para a emergência de um novo organismo, não apenas distinto do ponto de vista quantitativo – mais ou menos genes, mais ou menos estruturas celulares, mais ou menos órgãos, etc. –, mas também qualitativo. É, portanto, nesta relação simbiótica, neste «processo simbiótico», que têm lugar os acontecimentos *transformacionais* que são decisivos para que ocorra a *emergência* de uma nova estrutura ou de um novo organismo com novas propriedades evolutivamente mais vantajosas.

A este propósito, a origem endossimbiótica das células eucarióticas, em particular a das células fotossintéticas, pode dar um contributo significativo para a clarificação do tal «processo simbiótico», isto é, para o *gap* entre o momento em que «A é A», «B é B» e não existe ainda «C», e o momento em que «A já não é A», «B já não é B» e em que se observa o aparecimento de um «C» que não existia antes. Vejamos, então, muito brevemente, o caso da origem e evolução das células eucarióticas fotossintéticas.

4.2 A *emergência* das células eucarióticas fotossintéticas

4.2.1 A *ideia endossimbiótica*

Habitualmente, a história da vida na Terra torna-se mais vibrante quando se refere ao Fanerozóico, isto é, aos últimos cerca de 580 milhões de anos (Djokic et al., 2017), período no qual se observa o triunfo dos animais terrestres dotados de esqueletos biomineralizados e, é claro, o aparecimento dos primeiros homínídeos. Porém, a verdade é que, tanto quanto sabemos, as primeiras formas de vida surgiram há cerca de 3,85 mil milhões de anos (Djokic et al., 2017) e, pese embora a tendência generalizada para se desconsiderar, ou se considerar irrelevante, ou pouco significativo, ou até desinteressante, o que sucedeu entre o início do Arqueano (3,85 mil milhões de anos) e o início do Fanerozóico (580 milhões de anos), com o Proterozóico pelo meio, que durou cerca de 2,1 mil milhões de anos, a verdade é que foi justamente nesse período de cerca de 3,2 mil milhões de anos que tudo aconteceu para que tudo viesse a ser como é. Aliás, algo que Lynn Margulis pretendeu afirmar, com pujança, através da publicação de *Microcosmos*, em 1986. Se considerarmos que o espaço público de então era dominado por um fascínio quase generalizado pelo *Cosmos* que, curiosamente, o seu ex-marido, Carl Sagan, tinha tornado popular seis anos antes, foi sem dúvida

um acto estóico. Ora, para Lynn Margulis, mais de 3 mil milhões de anos de evolução microbiana não podiam representar simplesmente uma longa e solitária caminhada, um tanto sombria, no friso cronológico da vida em que pouco ou nada de relevante se passou; antes pelo contrário, para Margulis, havia poucas dúvidas de que teria sido precisamente graças a essa evolução microbiana que a vida veio a ser como é.

A ideia subjacente à história da origem das células eucarióticas não é difícil de ser explicada: dois organismos, uma bactéria heterotrófica (a-proteobactéria), no caso das células heterotróficas, ou uma bactéria fotossintética (cianobactéria), no caso das células fotossintéticas, é capturada por um organismo heterotrófico que, ao invés de a reconhecer como um intruso e de a integrar num vacúolo digestivo e assim a degradar, estabelece com ela uma relação simbiótica que acabará por resultar numa série de transformações tanto celulares como moleculares que, ao fim de um certo tempo, dão lugar à *emergência* de um novo organismo com novas qualidades, o que acabará por conferir a esse novo organismo uma vantagem evolutiva em função das suas circunstâncias. Em boa verdade, esta ideia foi explorada muito antes de Lynn Margulis, sobretudo pela escola russa de botânicos⁴⁰ (Andrey Faminetsyn, Constantin Mereschkowsky, Boris Kozo-Polyansky, entre outros), que Margulis, aliás, conhecia mal⁴¹.

No entanto, é provável que a ideia fosse poderosíssima, pois ela ressoou em diferentes personagens e em diferentes contextos. De facto, ao mesmo tempo que Margulis via o seu trabalho enfim publicado no *Journal of Theoretical Biology*, um pequeno artigo surgia na *Nature*, intitulado *Evolution of eucaryotic cells* (1967), da autoria de Jostein Goksøyr, professor de microbiologia na Universidade de Bergen, na Noruega, no qual é apresentada, de um modo extraordinariamente sucinto (o artigo ocupa menos de uma página), uma hipótese para a origem da célula eucariótica fotossintética a partir de formas procariotas.⁴² Seja como for, apesar da simplicidade da ideia, que

⁴⁰ A este propósito, cf. Liya Nikolaevna Khakhina (1992). *Concepts of Symbiogenesis. A historical and critical study of the research of Russian botanists* (Ed. By Lynn Margulis and Mark McMenamin, Trans. By Stephanie Merkel and Robert Coalson). New Haven and London: Yale University Press.

⁴¹ A única referência a Mereschkowsky, no artigo de Margulis de 1967, foi retirada da obra de Edmund B. Wilson, *The cell in development and heredity* (1925) que, por sua vez, fez referência a Mereschkowsky através do artigo *The evolution of the cell* (1915), de Edward A. Minchin, ou seja, a referência a Mereschkowsky, no artigo de Margulis, é feita através de uma fonte terciária.

⁴² Há, neste caso, uma certa semelhança com o de Darwin e de Wallace, em que este apresenta àquele a teoria da origem das espécies por selecção natural de uma forma extraordinariamente

muitos usaram como pretexto para a destruir, prová-la revelou-se um verdadeiro desafio. Afinal, no quadro de uma comunidade científica demasiado crente das teorias neodarwinistas, como admitir sequer o atrevimento de se considerar a possibilidade de a evolução fazer-se não apenas através da mutação e da recombinação génica, mas também através da «fusão» de organismos filogeneticamente distintos?

O caminho fez-se caminhando, até que entra em cena a biologia molecular, e o sequenciamento de DNA, e a genómica, e a filogenómica, e a genómica comparativa, que, segundo John Archibald (2011), «provaram, para além de todas as dúvidas, os princípios centrais da hipótese endossimbionte para a origem das mitocôndrias e dos plastos e, ao mesmo tempo, revelaram a complexidade genética e genómica dos eucariotas modernos, complexidade essa que era inimaginável décadas antes».

Hoje, sabemos que a fotossíntese surgiu, há mais de 2,5 mil milhões de anos (Planavsky et al., 2014), nos antepassados das actuais cianobactérias e que, há cerca de 1,5 mil milhões de anos (Parfrey et al., 2011), as células eucarióticas heterotróficas (isto é, que tinham já núcleo e mitocôndrias) adquiriram, através de uma endossimbiose com essas mesmas cianobactérias fotossintéticas, a capacidade de realizarem fotossíntese oxigénica (Martin et al., 2002), mudando assim, para sempre, o curso da evolução da vida na Terra. Ademais, ocorrem nos plastos uma variedade de outros processos bioquímicos, como a biossíntese de ácidos gordos, de aminoácidos ou de isoprenóides (Rolland et al., 2012), cuja importância é atestada pelo facto de, mesmo em organismos que acabaram por perder, secundariamente, a fotossíntese, persistirem plastos (Cenci, Moog & Archibald, 2017).

Hoje, sabemos que este evento ocorreu num ancestral partilhado por três linhagens: os glaucófitos (*Glaucophyta*), os rodófitos (*Rhodophyta*) e os *Chloroplastida*, este último incluindo as algas verdes e as plantas verdes (Reyes-Prieto et al., 2007). Hoje, enfim, sabemos muito mais daquilo que sabíamos há 50 anos, quando Lynn Margulis publicou o seu artigo seminal sobre a origem das células eucarióticas, e sabemos mais sobretudo no que diz respeito ao processo simbiótico que deu origem às células eucarióticas, em geral, e às células eucarióticas fotossintéticas, em particular. A ideia de Margulis sobreviveu.

resumida, o que contrasta com o «resumo» de Darwin de cerca de 500 páginas. É claro que, à semelhança de Darwin, Margulis apresenta no seu extenso artigo um conjunto de factos citológicos, bioquímicos e paleontológicos que cumprem a função essencial de suportar a teoria, algo que Goksoyr se escusa a fazer.

4.2.2 *As implicações celulares, moleculares e metabólicas do processo endossimbiótico*

Em organismos unicelulares, sobretudo protozoários, a captura de bactérias e de partículas exógenas é um evento bastante comum e que tem como objectivo a extração de nutrientes. Este processo, denominado de *fagocitose*, é actualmente bem conhecido (Alberts et al., 2002, pp.746-748). Numa primeira fase, as partículas são fagocitadas e incluídas em vacúolos digestivos (fagossomas). Estes, por sua vez, fundem-se com os lisossomas, que transportam as hidrolases ácidas, ocorrendo assim uma digestão do conteúdo. Daqui resultam pequenas moléculas (ácidos gordos, aminoácidos ou açúcares) que passam depois para o citosol para aí serem usadas em outras funções celulares. No final, os corpos contendo os resíduos não-digeridos fundem-se com a membrana celular, expelindo-os para o exterior. Ora, uma vez que a endossimbiose implica a captura, por parte de um organismo heterotrófico (Fig.3, Org.B), de um outro organismo (uma cianobactéria, Fig.3, Org.A), justamente por fagocitose, como explicar que este organismo não tenha sido digerido por aquele? Dito de outro modo, quão plausível é o processo de fagocitose (Fig.3a) ter falhado por algum motivo? Ademais, quão plausível é esse erro ter proporcionado uma oportunidade inovadora para a célula-hospedeira ter desenvolvido uma forma de nutrição baseada numa endossimbiose com um organismo que lhe é filogeneticamente estranho? Contudo, assim aconteceu. Segundo Cenci, Moog & Archibald (2017), é provável que as cianobactérias tenham sido inicialmente ingeridas como alimento, mas que as suas capacidades fotossintéticas se tenham revelado úteis para a célula hospedeira fagotrófica. De facto, as vantagens evolutivas devem ter sido extremamente poderosas. Aliás, basta recordar que, naquele tempo, o meio ambiente estava saturado em dióxido de carbono, de maneira que um metabolismo energético centrado na captura dessa molécula abundante, para dela extrair carbono essencial às funções celulares dos organismos, seria com certeza uma inovação destinada ao sucesso.

Seja como for, para além da plausibilidade ou até da probabilidade do evento, a verdade é que ele nem sequer nos é estranho. De facto, muito organismos heterotróficos são capazes de sequestrar plastos de algas por si predadas (um processo denominado de *cleptoplastia*), utilizando temporariamente a sua capacidade fotossintética. É, pois, o caso de grande parte dos dinoflagelados, um grupo de eucariotas unicelulares que contém organismos heterotróficos e autotróficos, e que são conhecidos por obterem plastos de grupos de algas filogeneticamente distintos entre si, ou então de alguns

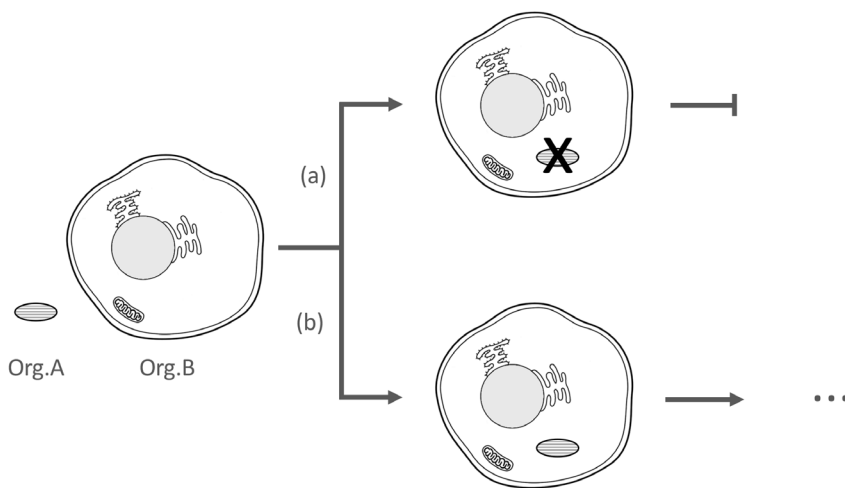


Fig.3 – Esquema representativo das possibilidades de acontecimento após o organismo A (Org.A) ter sido fagocitado pelo organismo B (Org.B): (a) O Org.A é digerido e eliminado; (b) Por algum motivo o Org.A não é digerido, mantendo-se no citosol do Org.B, dando assim início ao processo endossimbiótico.

gastrópodes, como as lesmas-do-mar do género *Elysia* (Rumpho et al., 2001), ou seja, o fenómeno não é raro.

Num outro nível, há também organismos que apresentam os dois modos tróficos em função das condições do ambiente. É o caso, por exemplo, do dinoflagelado *Dinophysis acuminata*. Quando o alimento é limitante, o *D. acuminata* pode obter entre 45% a 100% das suas necessidades de carbono a partir dos plastos fotossintéticos derivados de um criptófito (Kim & Archibald, 2010). Porém, esta percentagem diminui para 10% a 30% quando a sua presa é abundante (Hackett et al., 2004), ou seja, o *D. acuminata* tem uma capacidade (designada tecnicamente por mixotrofia) bastante eficiente de «perceber» as condições externas do meio em que está inserido e, assim, de acordo com aquilo que lhe é mais favorável do ponto de vista da sobrevivência da espécie, activar um ou outro modo de produção de energia. Esta capacidade permite, assim, que estes organismos apresentem uma plasticidade adaptativa bastante incomum perante um meio que é dinâmico e que está em permanente mudança. Talvez por isso estes organismos façam hoje parte do «jogo dos possíveis» da evolução e continuem a prosperar.

Porém, o que nos interessa aqui assinalar é o modo como os plastos se mantêm funcionais por longos períodos de tempo. No caso dos dinoflagelados do género *Dinophysis*, estes encontram-se amplamente distribuídos nos oceanos e incluem actualmente mais de 100 espécies. Aliás, os *Dinophysis* são bem conhecidos pela sua capacidade de sequestrar e usar plastos funcionais de criptófitos e, menos comum, de haptófitos (Johnson, 2011). Os plastos assim adquiridos apresentam-se rodeados por duas membranas e são desprovidos de nucleomorfos e de mitocôndrias (Park et al., 2008). Curiosamente, embora os plastos usados pelos dinoflagelados derivem de uma alga, reconhecem-se diferenças ultraestruturais entre os plastos retidos no interior de *Dinophysis* e os plastos que integram o criptófito de vida livre, o que sugere a ocorrência de transformações nesse processo de integração dos plastos (Johnson, 2011).

No caso concreto dos dinoflagelados *D. caudata* e *D. fortii*, os plastos derivados de criptófitos, adquiridos de um modo indirecto, mantêm-se funcionais por um período superior a um mês na ausência de nucleomorfo e de núcleo. Ora, uma vez que os plastos actuais dispõem de cerca de 200 genes que codificam proteínas (Kim & Archibald, 2009) e que, por isso mesmo, dependem da importação de proteínas codificadas pelo núcleo do «hospedeiro», como é que os plastos destes dinoflagelados se mantêm funcionais por um período tão extenso e ainda por cima na ausência de núcleo? A hipótese mais plausível é que essas proteínas essenciais ao funcionamento dos plastos têm origem no núcleo dos dinoflagelados. No entanto, se assim é, como é que o núcleo dos dinoflagelados recebeu esses genes plastidiais que codificam proteínas essenciais ao funcionamento dos plastos? Wisecaver & Hackett (2010), por exemplo, através de métodos de transcriptómica, identificaram no núcleo do dinoflagelado *D. acuminata* cinco genes potenciais de origem plastidial. Os produtos destes cinco genes contêm péptidos-sinal, isto é, sequências na região N-terminal das proteínas que estão eventualmente relacionadas com a translocação dessas mesmas proteínas através da dupla membrana plastidial. Assim, *D. acuminata* parece ter muito menos genes plastidiais no seu núcleo do que os dinoflagelados com plastos permanentes, o que sugere que a transferência adicional de genes que codificam proteínas dirigidas aos plastos deve ocorrer apenas quando os plastos estão plenamente integrados no hospedeiro dinoflagelado. Um outro aspecto interessante é que, destes cinco genes, apenas um tem origem no criptófito, sendo que os outros quatro derivam de outras fontes, como haptófitos e dinoflagelados contendo fucoxantinas. Em comparação com a *Elysia chlorotica*, por exemplo,

na qual se tem vindo a identificar potenciais genes plastidiais que derivam exclusivamente da alga *Vaucheria litorea*, no caso da *D. acuminata* pelo menos quatro genes têm uma origem múltipla. Esta diferença estará, muito provavelmente, relacionada com a estratégia trófica do *D. acuminata* que, ao contrário, da *E. chlorotica*, consome uma grande variedade de presas, incluindo algas fotossintéticas.

Ultrapassada a fase crítica de não-digestão do endossimbionte, tem início uma outra fase, isto é, tem início o *processo endossimbiótico* propriamente dito (Fig.3b). Em termos gerais, e de um modo bastante simplificado, este processo é caracterizado por dois fenómenos: a transferência de material genético entre o simbionte e o núcleo do hospedeiro (Martin et al., 2002; Timmis et al., 2004), e depois o desenvolvimento de complexos de translocação membranares para que as proteínas essenciais ao funcionamento dos plastos, sintetizadas a partir da informação contida no núcleo do hospedeiro, possam assim atravessar a membrana do simbionte. No primeiro caso, sabe-se hoje que aproximadamente 90% dos genes que estavam presentes na cianobactéria de vida livre se perderam ou então foram transferidos para o núcleo da célula hospedeira (Archibald, 2015). De facto, quando se comparam os genomas plastidiais com os genomas das cianobactérias de vida livre verifica-se que estes codificam entre 2000 e 12 000 genes (Dagan et al., 2013), enquanto que os genomas plastidiais raramente têm mais do que 200 genes (Kim & Archibald, 2009), embora sejam necessárias mais de 1000 proteínas para que o plasto se mantenha funcional (de Vries & Archibald, 2018). Por sua vez, foram identificados, no genoma nuclear do hospedeiro, centenas de genes de origem cianobacteriana (Martin et al., 2002), confirmando assim a ocorrência da transferência de genes por via endossimbiótica.

Uma das consequências mais imediatas deste processo foi, pois, a redução do genoma do endossimbionte. Porém, uma vez que a maior parte das proteínas essenciais ao bom funcionamento dos plastos passa a ser sintetizada a partir de genes localizados no núcleo da célula hospedeira, foi necessário que se desenvolvessem, ao mesmo tempo, complexos de translocação da membrana externa (TOC) e interna (TIC) do plasto (Shi et al., 2013; Soll & Schleiff, 2004). Traduzidas pelos ribossomas citoplasmáticos, tais proteínas adquirem um péptido-sinal na porção N-terminal que é depois reconhecido pelos complexos constantes nas membranas externa e interna do endossimbionte, permitindo assim a translocação das proteínas do citoplasma para o interior do plasto (Gould, Waller & McFadden, 2008). Curiosamente, para a constituição destes complexos concorreram activamente quer o endossimbionte quer o

hospedeiro (Archibald, 2017; Bhattacharya et al., 2007). Embora alguns autores considerem que a constituição de um sistema eficiente de importação de proteínas é o ponto crítico em que o endossimbionte cianobacteriano se torna num organito (Theissen & Martin, 2006), ambos os fenómenos – isto é, transferência endossimbiótica de genes e desenvolvimento de complexos de translocação de proteínas – parecem ter sido decisivos para a integração do endossimbionte na célula hospedeira (Nakayama & Archibald, 2012; Kim & Archibald, 2010; Bhattacharya et al., 2007).

No entanto, para além de todas estas transformações ao nível do genoma e do proteoma, o processo endossimbiótico implicou também, por parte da célula hospedeira, a aquisição e a evolução de novas vias metabólicas e de novos processos bioquímicos, em particular ao nível do metabolismo do amido, da fotossíntese e da fixação de carbono, e da biossíntese de aminoácidos. No caso do metabolismo do amido, armazenado sob a forma de amilose e de amilopectina (esta última permite o armazenamento de um maior número de unidades de glucose), intervêm na biossíntese várias enzimas com origem cianobacteriana, como a amido sintase ligada ao grânulo (GBSS), por exemplo, que é responsável pela síntese da amilose (Deschamps et al., 2008). Por sua vez, a via metabólica pela qual ocorre fixação de carbono, durante a fotossíntese, é o ciclo de Calvin, fixação essa que é catalisada por uma enzima, a ribulose-1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO), constituída por 16 subunidades, oito subunidades maiores (LSU) e 8 subunidades menores (SSU). Presente em todos os *Archaeplastida*, reconhecem-se quatro holoenzimas – as formas I, II, III e IV (Tabita et al., 2008), sendo a forma I aquela que é a mais comum, estando presente em plantas, algas, cianobactérias e na maior parte das proteobactérias fototróficas e quimiolitotróficas (Tabita, 1999). Todavia, o aspecto mais interessante relacionado com a biogénese da RuBisCO é o facto de o genoma plastidial conter o gene (*RbcL*) que codifica as LSU e o genoma nuclear conter o gene (*RbcS*) que codifica as SSU. Assim, para a RuBisCO assumir a sua conformação final, é necessário que haja, por um lado, a tradução de ambos os genes (*RbcL* e *RbcS*) nos diferentes compartimentos celulares e, por outro, a importação das SSU do núcleo para o plasto (Gruber & Feiz, 2018). Na biossíntese de aminoácidos, que ocorre tanto no citosol como nos plastos, estima-se que cerca de 40% das enzimas envolvidas no metabolismo de aminoácidos têm uma origem cianobacteriana. É, pois, o caso da glutamina sintetase, que provém da célula hospedeira, e da glutamato sintase dependente de ferredoxina, que provém das cianobactérias (Reyes-Prieto & Moustafa (2012).

O esclarecimento do processo endossimbiótico beneficiou sobremaneira com a descoberta de uma ameba de água doce a *Paulinella chromatophora*. Isolada pela primeira vez em 1894, pelo biólogo alemão Robert Lauterborn, a *P. chromatophora* oferece a rara possibilidade de observarmos «ao vivo» a fase inicial de uma eventual endossimbiose primária. De facto, esta ameba encerra habitualmente no seu citoplasma um ou dois corpos celulares, designados historicamente por *cianelas*, as quais se assemelham mais com cianobactérias de vida livre e menos com os plastos canónicos. As tais cianelas não podem ser cultivadas em laboratório, não parecem estar inseridas num vacúolo digestivo e dividem-se de modo sincrónico com o seu hospedeiro, sugerindo um certo grau de integração hospedeiro-endossimbionte (Archibald, 2006). Curiosamente, uma espécie muito próxima, a *P. ovalis*, apesar de não ser fotossintética, alimenta-se activamente de cianobactérias que são semelhantes às do género *Synechococcus*. A sequenciação completa do operão de rRNA do endossimbionte de *P. chromatophora* revelou a existência de uma relação filogenética robusta entre o endossimbionte e as cianobactérias actuais (Martin et al., 2005). Por sua vez, os estudos mostram ainda que o endossimbionte de *P. chromatophora* possui uma parede de peptidoglicano do tipo cianobacteriano. Embora seja hoje evidente que *P. chromatophora* adquiriu o seu aparelho fotossintético de modo independente da origem endossimbiótica de todos os outros plastos, uma questão importante permanece: em que medida o endossimbionte de *P. chromatophora* pode ser considerado um organito? Mais especificamente, qual a extensão da integração genética entre hospedeiro e componentes do endossimbionte da *P. chromatophora*? Trata-se, pois, de uma questão complicada, uma vez que implica identificar, no processo endossimbiótico, uma espécie de «ponto sem retorno», a partir do qual o endossimbionte perde a sua autonomia enquanto organismo de vida livre, passando a fazer parte integral do hospedeiro. Contudo, não se trata de uma mera condescendência, de um empréstimo de funções, mas antes de uma transformação quantitativa de ambas as partes envolvidas no processo e de tal modo que, no final, se é que há um final, o resultado é um novo organismo dotado de propriedades inovadoras, isto é, de uma nova biologia, sobre as quais a selecção natural poderá actuar.

5. Conclusão

Habitualmente, a iconografia representativa do fenómeno simbiótico faz uso da imagem aritmética « $1+1=1$ », procurando assim evidenciar, de um

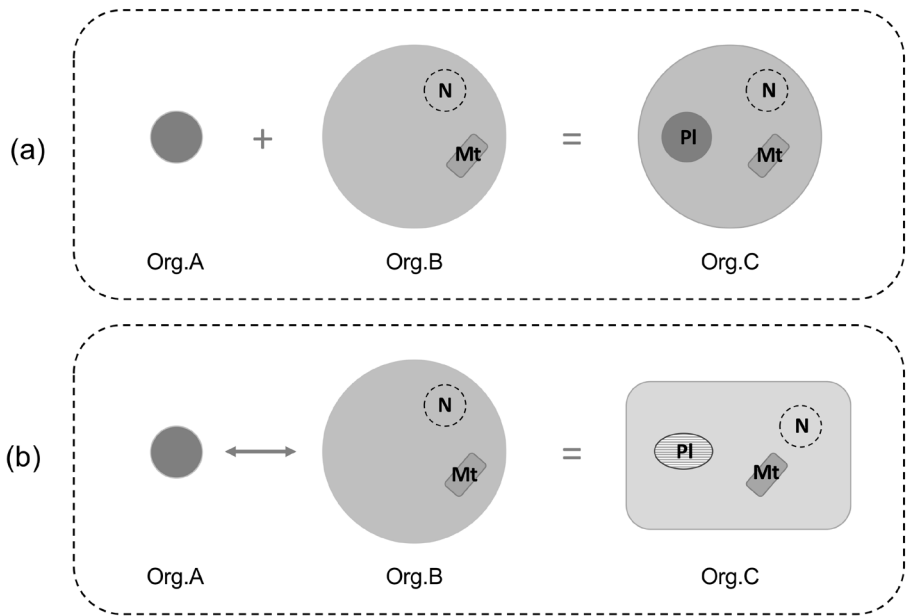


Fig. 4 – (a) Esquema habitualmente usado para representar o processo endossimbiótico, em que o organismo C resulta tão-somente da sobreposição, isto é, do somatório das imagens dos organismos A e B; (b) Representação fiel do processo endossimbiótico, em que a relação simbiótica entre os organismos A e B resulta na emergência de um organismo C, que não existia e que constitui uma total novidade, razão pela qual surge aqui representado simbolicamente com uma forma distinta. Legenda: N – Núcleo; Mt – Mitocôndria; PI – Plasto.

modo particular, o resultado final, isto é, da associação entre dois organismos resulta um outro organismo (Fig. 4a). Porém, no nosso entender, esta imagem é equívoca em relação ao processo simbiótico. De facto, ao representar o organismo C como uma mera sobreposição das formas A e B, que surgem aqui como que imutáveis, ela induz a ideia de que as transformações que ocorrem no processo simbiótico são como que invisíveis, ou seja, como se não tivessem qualquer impacto no «todo». Ora, se entendermos este processo como competente para gerar novidade, teremos de reconhecer que C não poderá nunca ser representado como uma simples reprodução de B com A no seu interior. Neste sentido, uma iconografia que queira ser fiel ao processo simbiótico, em particular nas suas implicações celulares,

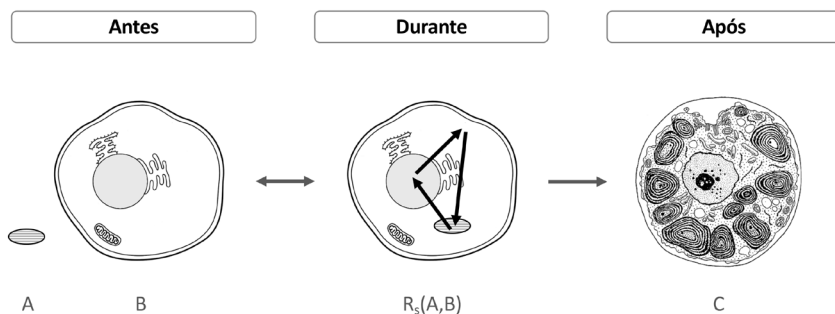


Fig.5 – Visão simplificada das transformações operadas pelo processo endossimbiótico: «antes», tínhamos dois organismos autônomos, em que A correspondia a um organismo fotossintético e B a um organismo heterotrófico; «durante» ocorreram uma série de transformações quantitativas sobre os elementos envolvidos na relação simbiótica entre A e B; «após» obtemos já um novo organismo C, com uma nova estrutura celular e molecular e com novas propriedades metabólicas.

moleculares e metabólicas, então ela deve representar C necessariamente diferente de A e B (Fig.4b).

Ademais, ainda que se reconheça que a imagem aritmética « $1+1=1$ » apresente vantagens cognitivas, dada a sua simplificação, a verdade é que o processo simbiótico tem pouco a ver com a ideia de adição ou de combinação que a soma expressa, isto é, uma operação em que se juntam duas ou mais parcelas para se obter um número total. O processo simbiótico – ele próprio um processo dinâmico – implica *necessariamente* o desenvolvimento de transformações qualitativas recíprocas. É, pois, *pela* relação simbiótica entre organismos distintos que ocorrem fenômenos qualitativamente transformadores, é *da* relação simbiótica causal que emerge o diferente, enfim, é *com* a relação simbiótica que o devir vida se constrói.

Ora, a este respeito, o processo endossimbiótico, que deu origem à emergência das células eucarióticas fotossintéticas, parece ser um caso bastante eloquente. Como vimos, o processo endossimbiótico faz-se através de uma relação dinâmica, construtora e transformadora entre os organismos envolvidos, com implicações celulares, moleculares e metabólicas, isto é, ao nível da existência, mas também ao nível da identidade. Neste sentido, o processo endossimbiótico (Fig.5), ao implicar transformações quantitativas

profundas, quer no genoma e no proteoma dos organismos envolvidos, quer nas suas próprias estruturas celulares e moleculares, parece concluir-se, por um lado, com a transformação do organismo endossimbionte a organito e, portanto, à perda da sua autonomia biológica enquanto espécie, e, por outro, à *emergência* de um novo organismo com uma nova estrutura, novas propriedades e novas capacidades causais a si associadas, isto é, um organismo que deixou de ser heterotrófico e passou a ser autotrófico. Dito de outro modo, pelo processo endossimbiótico obteve-se novidade e inovação, mas também diversidade e complexidade celular, a base para a formação de novas espécies, a conquista de novos habitats e, em última análise, a transformação do planeta Terra. E convém lembrar que tudo isto só foi possível porque, há cerca de 2,5 mil milhões de anos, uns seres microscópicos, cujo papel para a posterior evolução da vida na Terra teimamos a desprezar e a desconsiderar, *inventaram* a fotossíntese.

Referências bibliográficas

- Ahmadjian, V. (1993). The lichen photobiont – what can it tell us about lichen systematics? *Bryologist* 96: 310-313.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, R. & Walter, P. (2002). *Molecular biology of the cell*, 4th edition. New York: Garland Science.
- Alexander, S. (1920). *Space, Time, and Deity*. London: Macmillan.
- Archer, M. (1995). *Realist Social Theory: The Morphogenetic Approach*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Archibald, J.M. (2005). Jumping genes and shrinking genomes-probing the evolution of eukaryotic photosynthesis using genomics. *IUBMB Life* 57:539-547.
- Archibald, J.M. (2006). Endosymbiosis: Double-Take on Plastid Origins. *Current Biology* 16:R690-R692.
- Archibald, J.M. (2011). Origin of eukaryotic cells: 40 years on. *Symbiosis* 54:69-86.
- Archibald, J.M. (2015). Endosymbiosis and eukaryotic cell evolution. *Curr. Biol.* 25:R911-R921.
- Archibald, J.M. (2017). Evolution: Protein import into a nascent photosynthetic organelle. *Curr. Biol.* 27:R1004-1006.
- Aristotle (1933). *Metaphysics, Volume I: Books 1-9*. Translated by Hugh Tredennick. Loeb Classical Library 271. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Atlan, H. (1979). *Entre le Cristal et la Fumée. Essai sur l'organisation du vivant*. Paris: Seuil.

- Atlan, H. (1993). *Enlightenment to Enlightenment: Inter-critique of Science and Myth*, Albany: State University of New York Press.
- Atlan, H. (1999). *La fin du tout génétique? Vers de nouveaux paradigmes en biologie*, Paris: INRA.
- Atlan, H. & Koppel (1990). The Cellular Computer DNA: Program or Data?. *Bulletin of Mathematical Biology*, 52 (3), pp. 335-348.
- Auyang, S. (1999). *Foundations of Complex-System Theories – In Economics, Evolutionary Biology, and Statistical Physics*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Battacharya, D., Archibald, J., Weber, A. & Reyes-Prieto, A. (2007). How do endosymbionts become organelles? Understanding early events in plastid evolution. *BioEssays* 29:1239-1246.
- Bechtel, W. (2006). *Discovering Cell Mechanisms: The Creation of Modern Cell Biology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Bechtel, W. (2011). Mechanism and Biological Explanation. *Philosophy of Science*, 78 (4), pp. 533-557.
- Bechtel, W. & Abrahamsen, A. (2005). Explanation: A Mechanist Explanation. *Studies in the History and Philosophy of Biology and Biomedical Sciences*, 36, pp. 421-441.
- Bechtel, W. & Abrahamsen, A. (2010). Dynamic mechanistic explanation: computational modeling of circadian rhythms as an exemplar for cognitive science. *Studies in History and Philosophy of Science*, 41 (2010): 321-333.
- Bechtel, W. & Hamilton, A. (2007). Reduction, integration, and the unity of science: natural, behavioral, and social sciences and the humanities. In: *Handbook of the Philosophy of Science: General Philosophy of Science – Focal Issues*, Volume editor: Theo Kuipers. General editors: D. M. Gabbay, P. Thagard and J. Woods. North Holland: Elsevier BV, pp. 377-430.
- Bechtel, W. & Richardson, R. (2010), *Discovering Complexity: Decomposition and Localization as Strategies in Scientific Research*, Cambridge (Mass.): The MIT Press.
- Beckerman, A. et al., Flohr, H. and Kim, J. (eds.) (1992). *Emergence or Reduction? Essays on the Prospects of Nonreductive Physicalism*. Berlin: Walter de Gruyter.
- Bedau, M. (1997). Weak Emergence. In: J. Tomberlin (ed.). *Philosophical Perspectives: Mind, Causation, and World*, vol. 11. Malden (Mass.): Blackwell, pp. 375-399.
- Bedau, M. & Humphreys, P. (2006). *Emergence: Contemporary Readings in Science and Philosophy*. Cambridge: The MIT Press.
- Bohm, D. (1984). *Causality and Chance in Modern Physics [1957]*. London: Routledge.
- Boogerd et al. (2005). Emergence and Its Place in Nature: A Case Study of

- Biochemical Networks. *Synthese*, 145: 131-164.
- Borghini, A. (2016). *A Critical Introduction to the Metaphysics of Modality*. London-New York: Bloomsbury.
- Borghini, A and Williams, N.E. (2008). A Dispositional Theory of Possibility. *Dialectica*, 62, pp. 21-41.
- Broad, C. D. (1925). *The Mind and Its Place in Nature*. London: Routledge and Kegan Paul.
- Cenci, U., Moog, D. & Archibald, J.M. (2017). Origin and spread of plastids by endosymbiosis. In: M. Grube, L. Muggia & J. Seckbach (Eds.), *Algal and cyanobacteria symbioses* (pp.43-81). Washington, D.C.: World Scientific Publishing.
- Cohen, I.R. & Atlan, H. (2006). Genetics as Explanation. *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd., pp. 1-7 (DOI: 10.1002/9780470015902.a0005881).
- Corning, P.A. (1983). *The Synergism Hypothesis: A Theory of Progressive Evolution*. Blacklick, Ohio, USA: McGraw-Hill.
- Corning, P.A. (1997). Holistic Darwinism: «Synergism Selection» and the Evolutionary Process. *Journal of Social and Evolutionary Systems* 20:363-400.
- Corning, P.A. (1998). The Synergism Hypothesis: On the Concept of Synergy and Its Role in the Evolution of Complex Systems. *Journal of Social and Evolutionary Systems* 21(2):133-172.
- Corradini, A. & O'Connor, T. (eds.) *Emergence in Science and Philosophy*, London: Routledge.
- Dagan, T., Roettger, M., Stucken, K., Landan, G., Koch, R., Major, P., Gould, S.B., Goremykin, V.V., Rippka, R., de Marsac, N.T., Gugger, M., Lockhart, P.J., Allen, J.F., Brune, I., Maus, I., Pühler, A. & Martin, W.F. (2013). Genomes of Stigonematalean Cyanobacteria (Subsection V) and the Evolution of Oxygenic Photosynthesis from Prokaryotes to Plastids. *Genome Biology and Evolution* 5(1):31-44.
- de Vries, J. & Archibald, J.M. (2018). Plastid autonomy versus nuclear control. In S.-M. Chaw & R. Jansen (Eds.), *Advances in Botanical Research* 85.
- Delattre, P. (1971). *L'Évolution des Systèmes Moléculaires: Bases théoriques. Applications à la Chimie et à la Biologie*, Paris: Maloine.
- Deschamps, P., Colleoni, C., Nakamura, Y., Suzuki, E., Putaux, J.L., Buléon, A., Haebel, S., Ritte, G., Steup, M., Falcón, L.I., Moreira, D., Löffelhardt, W., Raj, J.N., Plancke, C., d'Hulst, C., Dauvillée, D. & Ball, S. (2008). Metabolic symbiosis and the birth of the plant kingdom. *Mol Biol Evol* 25(3):536-548.
- Dumouchel, P. e Dupuy, J.-P. (dir.) (1983). *L'Auto-organisation: De la Physique au Politique* (Colloque de Cerisy), Paris: Seuil.

- Djokic, T., Van Kranendonk, M.J., Campbell, K.A., Walter, M.R. & Ward, C.R. (2017). Earliest signs of life on land preserved in ca. 3.5 Ga hot spring deposits. *Nature Communications* 8:15263. doi: 10.1038/ncomms15263
- Feltz, B., Crommenlick, M. e Goujon, Ph. (eds.) (1999). *Auto-Organisation et Émergence dans les Sciences de la Vie*. Bruxelles: Ousia.
- Fine, K. (1999). Things and Their Parts. *Midwest Studies in Philosophy* 23, pp. 61-74.
- Friedl, T. & Büdel, B. (2008). Photobionts. In: T. H. Nash III (ed.) *Lichen Biology* (pp. 7-26). New York: Cambridge University Press.
- Garson, J. (2006). Emergence. In: S. Sarkar e J. Pfeifer (eds.), *The Philosophy of Science: An Encyclopedia*. New York: Routledge, pp. 230-235.
- Gilbert, S. & Barresi, M. (2016). *Developmental Biology*. 11th Edition. Sunderland (Mass.): Sinauer Associates.
- Gilbert, S. e Sarkar, S. (2000). Embracing Complexity: Organicism for the 21st Century. *Developmental Dynamics*, 219, pp. 1-9.
- Gillett, C. (2016). *Reduction and Emergence in Science and Philosophy*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Glennan, S. (2017). *The New Mechanical Philosophy*, Oxford: Oxford University Press.
- Glennan, S. & Illari, P. (eds.) (2017). *The Routledge Handbook of Mechanisms and Mechanical Philosophy*. New York: Routledge.
- Gould, S.B., Waller, R.F. & McFadden, G.I. (2008). Plastid evolution. *Annu Rev Plant Biol* 59:491-517.
- Grube M. & Hawksworth D.L. (2007). Trouble with lichen: the re-evaluation and re-interpretation of thallus form and fruit body types in the molecular era. *Mycological Research* 111:1116-1132
- Grube, M. & Berg, G. (2009). Microbial consortia of bacteria and fungi with focus on the lichen symbiosis. *Fungal Biology Reviews* 23(3):72-85.
- Grube, M., Cardinale, M., Castro, J., Müller, H. & Berg, G. (2009). Species-specific structural and functional diversity of bacterial communities in lichen symbioses. *The ISME Journal* 3(9):1105-1115.
- Gruber, A.V. & Feiz, L. (2018). Rubisco assembly in the chloroplast. *Front Mol Biosci* 5:24.
- Hackett, J.D., Anderson, D.M., Erdner, D.L. & Bhattacharya, D. (2004). Dinoflagellates: a remarkable evolutionary experiment. *Am J Bot* 91:1523-1534.
- Hempel, C. (1965). *Aspects of Scientific Explanation and Other Essays in the Philosophy of Science*. New York: The Free Press.
- Hendry (2013). The Metaphysics of Molecular Structure. In: Karakostas and

- Dieks (eds.), *EPSA11: Perspectives and Foundational Problems in Philosophy of Science*. Cham: Springer, pp. 331-342.
- Hill, D.J. (2009). Asymmetric co-evolution in the lichen symbiosis caused by a limited capacity for adaptation in the photobiont. *Botanical Review* 75(3):326-338.
- Honegger, R. (2001). The symbiotic phenotype of lichen-forming ascomycetes. In B. Hock (ed.), *The Mycota. Fungal Associations* (vol.9, pp.165-188). Berlin: Springer-Verlag.
- Humphreys, P. (2006). Emergence. In: D. Borchert (ed.). *The Encyclopedia of Philosophy* (2nd ed.), vol. 3. New York: Macmillan, pp. 190-194.
- Humphreys, P. (2016). *Emergence: A Philosophical Account*. Oxford: Oxford University Press.
- Hüttemann, A. (2004). *What's Wrong with Microphysicalism?* London: Routledge.
- Hüttemann, A. & Love, A. (2016). Reduction. In: Humphreys (ed.), *The Oxford Handbook of Philosophy of Science*. Oxford: Oxford University Press.
- Johnson, M.D. (2011). The acquisition of phototrophy: adaptive strategies of hosting endosymbionts and organelles. *Photosynth Res* 107(1):117-132.
- Johnston, M. (2006). Hylomorphism. *The Journal of Philosophy*, 103, pp. 652-698.
- Keller, E.F. (1995). *Refiguring Life: Metaphors of Twentieth-Century Biology*. New York: Columbia University Press.
- Kim, J. (1993). *Supervenience and Mind*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Kim, J. (1998). *Mind in a Physical World*. Cambridge (Mass.): The MIT Press.
- Kim, E. & Archibald, J.M. (2009). Diversity and evolution of plastids and their genomes. In: H. Aronsson & A. S. Sandelius (Eds), *The Chloroplast – Interactions with the Environment* (pp.1-39). Berlin: Springer-Verlag.
- Kim, E. & Archibald, J.M. (2010). Plastid evolution: gene transfer and the maintenance of ‘stolen’ organelles. *BMC Biology* 8:73.
- Koslicki, K. (2008). *The Structure of Objects*. Oxford: Oxford University Press.
- Levins, R. (2017). Complex Systems. In: Waddington C.H. (ed.). *Organization, Stability & Process: Towards a Theoretical Biology*, vol. 3. [1970]. New York: Routledge, pp. 73-87.
- Lewes, G. H. (1875). *Problems of Life and Mind*, vol. 2. London: Kegan Paul, Trench, Turbner, & Co.
- Lewis, D. (1986). *Philosophical papers*, vol. II. Oxford: Oxford University Press.
- Lewis, D. (1994). Humean supervenience debugged. *Mind*, 103, pp. 473-490.
- Lewontin, R. (1982). Organism and environment. In: H. C. Plotkin (ed.). *Learning, Development and Culture*. New York: Wiley, pp. 151-172.
- Lewontin, R. (1983). Gene, Organism, and Environment. In: D. S. Bendall

- (ed.), *Evolution: From Molecules to Men*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 273-285.
- Lewontin, R. (2000). *The Triple Helix: Gene, Organism, and Environment*, Cambridge (Mass.)/London (England): Harvard University Press.
- Longino, J.T. (1991). Taxonomy of the *Cecropia*-inhabiting *Azteca* ants. *Journal of Natural History* 25(6):1571-1602.
- Lowe, E. J. (1998). *The Possibility of Metaphysics: Substance, Identity, and Time*. Oxford: Clarendon Press.
- Lücking, R., Lawrey, J.D., Sikaroodi, M., Gillevet, P.M., Chaves, J.L., Sipman, H.J. & Bungartz, F. (2009). Do lichens domesticate photobionts like farmers domesticate crops? Evidence from a previously unrecognized lineage of filamentous cyanobacteria. *Am. J. Bot.* 96(8):1409-1418.
- Mahner, M. & Bunge, M. (1997). *Foundations of Biophilosophy*. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag.
- Margulis, L. & Guerrero, R. (1991). Two plus Three Equal One. Individuals Emerge from Bacterial Communities. In: W.I. Thompson, *Gaia 2: Emergence. The New Science of Becoming* (pp.50-67). Steiner Books.
- Martin, B., Nowack, E.C.M. & Melkonian, M. (2005). A plastid in the making: evidence for a second primary endosymbiosis. *Curr. Biol.* 15:425-432.
- Martin, W., Rujan, T., Richly, E., Hansen, A., Cornelsen, S., Lins, T., Leister, D., Stoebe, B., Hasegawa, M. & Penny, D. (2002). Evolutionary analysis of *Arabidopsis*, cyanobacterial, and chloroplast genomes reveals plastid phylogeny and thousands of cyanobacterial genes in the nucleus. *PNAS* 99:12246-12251.
- Mill, J.S. (1974), *A System of Logic Ratiocinative and Inductive*, Books I-III [1843]. In: *Collected Works of John Stuart Mill*, vol. VII. University of Toronto Press/Routledge & Kegan Paul.
- Morgan, L. (1923). *Emergent Evolution (The Gifford Lectures delivered in the University of St. Andrews in the year of 1922)*. London: Williams and Norgate.
- Nagel, E. (1952). Wholes, Sums, and Organic Unities. *Philosophical Studies*, 3 (2), pp. 17-32.
- Nägeli C.W. & Schwendener S. (1865). *Das Mikroskop. I. Teil. Die Theorie des Mikroskops und die mikroskopische Wahrnehmung*. Leipzig.
- Nägeli C.W. & Schwendener S. (1867), *Das Mikroskop. II. Teil. Die Anwendung des Mikroskops*. Leipzig.
- Nakayama, T. & Archibald, J.M. (2012). Evolving a photosynthetic organelle. *BMC Biol.* 10:35.
- Nicolis, G. & Prigogine, I. (1989), *Exploring Complexity*. New York: W. H. Freeman

- and Co.
- Odum, E.P. (1971). *Fundamentals of Ecology* (3.^a edição). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Oppenheim, P. and Putnam, H. (1958). Unity of Science as a Working Hypothesis. In: H. Feigl et al. (eds.). *Minnesota Studies in the Philosophy of Science*, vol. 2. Minneapolis: University of Minnesota Press, pp. 3-36.
- Oyama, S. (2000a). *The Ontogeny of Information: Developmental Systems and Evolution* (2th ed., revised and expanded). Durham: Duke University Press.
- Oyama, S. (2000b). *Evolution's Eye: A Systems View of the Biology-Culture Divide*. Durham and London: Duke University Press.
- Oyama S, Griffiths P. & Gray R. (eds.) (2001). *Cycles of Contingency: Developmental Systems and Evolution*. Cambridge: MIT Press.
- Parfrey, L.W., Lahr, D.J., Knoll, A.H. & Katz, L.A. (2011). Estimating the timing of early eukaryotic diversification with multigene molecular clocks. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:13624-13629.
- Park, M.G., Park, J.S., Kim, M. & Yih, W. (2008). Plastid dynamics during survival of *Dinophysis caudata* without its ciliate prey. *J Phycol* 44:1154-1163.
- Piaget, J. (1970a). *Structuralism*. London: Routledge & Kegan Paul.
- Piaget, J. (1970b). *L'Épistémologie Génétique*. Paris: PUF.
- Planavsky, N.J., Asael, D., Hofmann, A., Reinhard, C.T., Lalonde, S.V., Knudsen, A., Wang, X., Ossa Ossa, F., Pecoits, E., Smith, A.J.B., Beukes, N.J., Bekker, A., Johnson, T.M., Konhauser, K.O., Lyons, T.W. & Rouxel, O.J. (2014). Evidence for oxygenic photosynthesis half a billion years before the Great Oxidation Event. *Nature Geosci* 7:283-286.
- Quine, W. (2008). The Way the World Is [1986]. In: *Confessions of a Confirmed Extensionalist and Other Essays* (D. Føllesdal and D. Quine, eds.). Cambridge (Mass.): Harvard University Press, pp. 166-171.
- Rescher, N. & Oppenheim, P. (1955). Logical Analysis of Gestalt Concepts. *The British Journal for the Philosophy of Science*, Vol. VI, N° 22, pp. 89-106.
- Reyes-Prieto, A., Hackett, J.D., Soares, M.B., Bonaldo, M.F. & Bhattacharya, D. (2006). Cyanobacterial contribution to algal nuclear genomes is primarily limited to plastid functions. *Curr Biol* 16:2320-2325.
- Reyes-Prieto, A. & Moustafa, A. (2012). Plastid-localized amino acid biosynthetic pathways of *Plantae* are predominantly composed of non-cyanobacterial enzymes. *Sci Rep* 2:955.
- Richardson, R. & Stephen, A. (2007). Emergence. *Biological Theory* 2 (1), pp. 91-96.
- Robert, J. S. (2004). *Embryology, Epigenesis, and Evolution: Taking Development Seriously*.

- Cambridge: Cambridge University Press.
- Rolland, N., Curien, G., Finazzi, G., Kuntz, M., Maréchal, E., Matringe, M., Ravel, S. & Seigneurin-Berny, D. (2012). The biosynthetic capacities of the plastids and integration between cytoplasmic and chloroplast processes. *Annu Rev Genet* 46:233-264.
- Rose, S. (1997). *Lifelines. Biology, Freedom, Determinism*. London: Allen Lane.
- Rumpho, M.E., Summer, E.J., Green, B.J., Fox, T.C. & Manhart, J.R. (2001). Mollusc/algal chloroplast symbiosis: how can isolated chloroplasts continue to function for months in the cytosol of a sea slug in the absence of an algal nucleus? *Zoology* 104(3-4):303-312.
- Sanders, W. B. (2001). Lichens: The interface between mycology and plant morphology. *Bioscience* 51:1025-1035.
- Santos, G. (2016). O Significado Filosófico da Teoria dos Sistemas em Desenvolvimento na Biologia. In: A. Barbosa & R. Santos (Eds.), *Questões de Vidas: Fulgurações Interdisciplinares*. Lisboa: Centro de Bioética da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, pp.135-160.
- Santos, G. (2015b). Ontological Emergence: How is that possible? Towards a new Relational Ontology. *Foundations of Science*, 20 (4), pp. 429-446.
- Santos, G. (2015a). Upward and Downward Causation from a Relational-Horizontal Ontological Perspective. *Axiomathes*, 25 (1), pp. 23-40.
- Santos, G. (2013). Philosophy and Complexity. *Foundations of Science* 18, Special Issue (4): Philosophy and Complexity, pp. 681-686.
- Sapp, J. (1994). *Evolution by Association. A History of Symbiosis*. USA: Oxford University Press.
- Sawyer, K. (2005). *Social Emergence: Societies As Complex Systems*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Schneider, A. (1897). *A Text-Book of General Lichenology, with Descriptions and Figures occurring in the Northeastern United States*. Binghamton, New York: Willard N. Clute & Company. doi: 10.5962/bhl.title.3774
- Seckbach, J. (2002). Living together one inside the other. In: J. Seckbach (ed.), *Symbiosis: Mechanisms and Model Systems* (pp.xvii-xviii). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Shapiro, S. (1997). *Philosophy of Mathematics: Structure and Ontology*. Oxford: Oxford University Press.
- Shi, L.X. & Theg, S.M. (2013). The chloroplast protein import system: From algae to trees. *Biochim Biophys Acta* 1833(2):314-331.
- Silberstein, M. & McGeever, J. (1999). The Search for Ontological Emergence. *The Philosophical Quarterly*, 49 (195), pp. 182-200.

- Simon, H. (1962). The Architecture of Complexity. *Proceedings of the American Philosophical Society*. vol. 106 (6), pp. 467-482.
- Simons, P. (1987). *Parts: A Study in Ontology*. New York: Oxford.
- Simons, P. (2006). Real Wholes, Real Parts: Mereology Without Algebra. *The Journal of Philosophy*, 103, pp. 597-613.
- Soll, J. (2001). Toc, Tic, and chloroplast protein import. *Biochimica et Biophysica Acta* 1541:64-79.
- Soll, J. & Schleiff, E. (2004). Protein import into chloroplasts. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol* 5:198-208.
- Stephen, A. (1999). Varieties of Emergentism. *Evolution and Cognition*, 5, pp. 49-59.
- Strohman, R. (1997). Epigenesis and Complexity: The coming Kuhnian revolution in biology. *Nature Biotechnology* 15, pp. 194-200.
- Tabita, F.R. (1999). Microbial ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase: a different perspective. *Photosynth Res* 60:1-28.
- Tabita, F.R., Satagopan, S., Hanson, T.E., Kreel, N.E. & Scott, S.S. (2008). Distinct form I, II, III, and IV Rubisco proteins from the three kingdoms of life provide clues about Rubisco evolution and structure/function relationships. *J Exp Bot* 59:1515-1524.
- Theissen, U. & Martin, W. (2006). The difference between organelles and endosymbionts. *Curr Biol* 16:R1016-R1017.
- Timmis, J.N., Ayliffe, M.A., Huang, C.Y. & Martin, W. (2004). Endosymbiotic gene transfer: Organelle genomes forge eukaryotic chromosomes. *Nature Reviews Genetics* 5:123-135.
- Trembley, M.L., Ringli, C. & Honegger, R. (2002). Morphological and molecular analysis of early stages in the resynthesis of the lichen *Baeomyces rufus*. *Mycological Research* 106:768-776.
- Wilson, E.O. (1975). *Sociology: A new synthesis*. The Belknap Press of Harvard University Press.
- Wilson, J. (2015). Metaphysical Emergence: Weak and Strong. In: T. Bigaj & C. Wüthrich (eds.). *Metaphysics in Contemporary Physics*. Poznan Studies in the Philosophy of the Sciences and the Humanities. Leiden-Boston: Brill-Rodopi, pp. 345-402.
- Wimsatt, W. (2006). Aggregate, composed, and evolved systems: Reductionistic heuristics as means to more holistic theories. *Biology and Philosophy*, 21, pp. 667-702.
- Wimsatt, W. (2007). *Re-Engineering Philosophy for Limited Beings: Piecewise Approximations to Reality*. Cambridge (MA): Harvard University Press.
- Wimsatt, W. & Sarkar, S. (2006). Reductionism. In: S. Sarkar and J. Pfeifer

(eds.). *The Philosophy of Science: An Encyclopedia*. New York-London: Routledge, pp. 696-703.

Wisecaver, J.H. & Hackett, J.D. (2010). Transcriptome analysis reveals nuclear-encode proteins for the maintenance of temporary plastids in the dinoflagellate *Dinophysis acuminata*. *BMC Genomics* 11:366.

In memoriam Lynn Margulis (1938-2011)

RICARDO MELO¹

*What were Margulis' contributions to the field of cellular evolution? Why, in the eyes of many, is she considered the champion of endosymbiotic theory? My own view is that it was the force with which she conveyed her ideas, and her emphasis on the synthesis of different lines of evidence gleaned from distinct and often disparate fields – cytology, genetics, microbiology, ecology, geology, paleontology – that was remarkable and unique. In short, she pushed the concept of symbiogenesis further and harder than anyone before or since, and continues to do so to this day.*²

—John M. Archibald³

*With the rise of studies on eukaryotic diversity coupled with powerful tools in molecular biology and microscopy, we are poised to collect additional data that will illuminate details on the origin and diversification of eukaryotic life on Earth.*⁴

— Laura A. Katz⁵

¹ Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Departamento de Biologia Vegetal e MARE-Marine and Environmental Sciences Centre, Lisboa, Portugal. Trabalho realizado no quadro das actividades do MARE, unidade de I&D com a referência UID/MAR/04292/2019. rmelo@ciencias.ulisboa.pt

² «Quais foram as contribuições de Margulis para o campo da evolução celular? Porque é que, aos olhos de muitos, ela é considerada a defensora da teoria endossimbiótica? Do meu ponto de vista foi a força com que ela transmitiu as suas ideias e a ênfase que colocou na síntese de diferentes linhas de evidência recolhidas de áreas distintas e frequentemente díspares – citologia, genética, microbiologia, ecologia, geologia, paleontologia – que foi notável e único. Em suma, ela impulsionou o conceito de simbiogénese mais do que qualquer um antes ou depois, e continua a fazê-lo até ao dia de hoje.»

³ Archibald J.M. (2011). Origin of eukaryotic cells: 40 years on. *Symbiosis* 54(2):69-86. Ver tradução neste volume.

⁴ «Com o aumento dos estudos sobre a diversidade eucariótica em associação com os poderosos instrumentos da biologia molecular e da microscopia, estamos prontos para obter dados adicionais que irão revelar os detalhes da origem e diversificação da vida eucariótica na Terra.»

⁵ Katz L.A. (2012). Origin and diversification of Eukaryotes. *Annual Review of Microbiology* 66 (1):411-427.

1. Introdução

Neste volume é apresentada a primeira tradução para língua portuguesa do artigo original de Lynn Margulis (à altura, Lynn Sagan), publicado em Março de 1967, e que representou o início de uma longa e notória carreira em que a autora, parafraseando John M. Archibald, acima, se distinguiu de todos os que a antecederam, ou mesmo se lhe seguiram, pela extraordinária energia e persistência com que promoveu o conceito de simbiogénese. O título original do artigo, *On the origin of mitosing cells*⁶, faz referência a conceitos fundamentais da Biologia: (i) as células, de que são constituídos todos os seres vivos e se apresentam nas duas tipologias bem conhecidas, a procariótica e a eucariótica, e (ii) o processo da mitose, uma forma de divisão nuclear que, por ser um exclusivo das células eucarióticas, a autora usa neste título como alegoria ou metáfora dessa tipologia celular. A teoria e os fundamentos longamente explanados neste artigo – quase 50 páginas impressas! – seriam revisitados e publicados três anos mais tarde, numa versão ainda mais exaustiva e abrangente, em livro, então com o título explícito *Origin of Eukaryotic Cells* (YUP, 1970)⁷. A motivação principal para este apontamento *in memoriam* é a de tentar contribuir para a resposta à pergunta que John M. Archibald enuncia na citação acima: quais foram as contribuições de Lynn Margulis para o campo da evolução celular e por que razão ela é geralmente considerada como o paladino da teoria endossimbiótica.

2. Alguns dados bio-bibliográficos sobre a jovem Lynn

Nascida a 5 de Março de 1938, em Chicago, Illinois (EUA), numa família da classe média – com mais três filhas, Joan, Sharon e Diane – Lynn Petra Alexander ingressou na Universidade de Chicago aos 16 anos para frequentar o curso de estudos gerais («*liberal arts*») que terminou três anos mais tarde, em 1957. Nessa altura, com apenas 19 anos de idade, casou-se com um colega que conhecera logo no primeiro ano, Carl Sagan (1934-1996), e logo depois ingressou num programa de mestrado em Genética

⁶ Sagan L. (1967). On the origin of mitosing cells. *Journal of Theoretical Biology* 14(3):225-274.

⁷ Margulis L. (1970). *Origin of Eukaryotic Cells. Evidence and Research Implications for a Theory of the Origin and Evolution of Microbial, Plant, and Animal Cells on the Precambrian Earth*. Yale University Press. Segundo a própria autora, este livro foi escrito em apenas «seis intensas semanas». Cf. Margulis L. (1996). Chapter 7 «*Gaia Is A Tough Bitch*». In J. Brockman (Ed.), *The Third Culture* (1st ed.). Touchstone.

e Zoologia, na Universidade de Wisconsin em Madison, com o biólogo celular Walter Plaut. No final de 1958, ainda durante a realização do mestrado, a jovem Lynn Alexander Sagan publicou o seu primeiro artigo científico, uma nota breve e como segunda autora, sobre a marcação do núcleo de células de *Amoeba proteus* por uma nova metodologia de autoradiografia, usando timidina marcada com trítio (radioactivo), com alta afinidade para o DNA⁸. Os resultados mostraram uma inesperada marcação intensa no citoplasma de todas as células, levando os autores a concluir tratar-se de DNA extra-nuclear, cuja origem e função necessitariam de mais investigação para poderem ser explicadas. Quando terminou o mestrado, em 1960, Lynn Sagan era já mãe de dois rapazes, mas isso não a impediu de ingressar num programa de doutoramento em Genética na Universidade da Califórnia em Berkeley, sob a orientação do zoólogo Max Alfert. Em 1963, a família mudou-se para Boston e Lynn começou a dar aulas na Universidade de Brandeis e a fazer investigação no Departamento de Biologia com Jerome Schiff (1931-1995) e Herman Epstein (1920-2007). A tese de doutoramento só viria a ser registada em Berkeley dois anos mais tarde, em 1965, e dela resultou apenas outro pequeno artigo, publicado no início desse ano, como única autora, também sobre a incorporação citoplasmática de timidina, mas desta vez em algas *Euglena*⁹. A conclusão foi que a técnica da timidina radioactiva para localizar DNA extra-nuclear por autoradiografia não funcionava em *Euglena*, no entanto purinas tritadas eram incorporadas em DNA e RNA nos mesmos organismos. Durante a passagem por Berkeley, Lynn colaborou também com Stanley Scher¹⁰, um exobiólogo que trabalhava com Carl Sagan, no Laboratório de Ciências Espaciais, em projectos financiados pela NASA. Da sua colaboração com o grupo da Universidade de Brandeis que vinha a publicar há vários anos resultados de investigações com algas *Euglena*, resultou um outro artigo, publicado no final do mesmo ano de 1965¹¹, no qual demonstraram a

⁸ Plaut W. & Sagan L. (1958). Incorporation of thymidine in the cytoplasm of *Amoeba proteus*. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* 4 (6):843-846.

⁹ Sagan L. (1965). An unusual pattern of tritiated thymidine incorporation in *Euglena*. *The Journal of protozoology* [actual *Journal of Eukaryotic Microbiology*] 12(1):105-109.

¹⁰ Sagan L. & Scher S. (1961). Evidence of cytoplasmic DNA in *Euglena gracilis*. *J. Protozool.* 8 (suppl.):8; Scher S. & Sagan L. (1962). Comparative studies of chloroplast replication: Ultraviolet inactivation and photoreactivation of cytoplasmic DIU synthesis in *Euglena gracilis*. *J. Protozool.* 9 (suppl):32.

¹¹ Sagan L., Ben-Shaul Y., Epstein H.T. & Schiff J.A. (1965). Studies of chloroplast deve-

existência de DNA e RNA nos cloroplastos de *Euglena gracilis* var. *bacillaris*, usando desta vez purinas – guanina e adenina – tritadas. Com base nestes resultados e na discussão da bibliografia, os autores afirmaram a sua convicção quanto à probabilidade destes organitos, por possuírem DNA e RNA próprios, estarem sob controlo genético autónomo, ou seja, serem, pelo menos em parte, independentes do controlo nuclear.

3. O estado da arte antes da publicação de *On the origin of mitosing cells*

A evidência experimental sobre a existência de DNA, quer em cloroplastos quer em mitocôndrias de vários organismos eucarióticos, tinha vindo paulatinamente a acumular-se desde a década de 50. Esta evidência parecia contrariar o conceito prevalecente de que o controlo genético das células, ou seja, das suas características morfológicas e fisiológicas, bem como dos sistemas biológicos por elas integrados, ao nível dos organismos ou das espécies, era da responsabilidade exclusiva do DNA nuclear, do código genético e da sua transcrição/tradução e dos mecanismos complexos de regulação molecular. Estas ideias situavam-se no campo da hereditariedade citoplasmática não-mendeliana, iniciado na Alemanha no início do século XX¹², mas que tinha sido relegado para as franjas da investigação genética preponderante nos EUA¹³. No entanto, é bem possível que um dos mais reconhecidos proponentes americanos de uma hereditariedade não baseada exclusivamente no núcleo, o brilhante geneticista Joshua Lederberg (1925-2008), copremiado com o Nobel de Medicina ou Fisiologia em 1958 – com apenas 33 anos de idade – «pelas suas descobertas relativas à recombinação genética e à organização do material genético de bactérias»,¹⁴ possa ter sido relevante para o grande interesse que Lynn Margulis parece ter demonstrado, desde bem cedo nos seus estudos, pela hereditariedade citoplasmática e pela

lopment in *Euglena*. XI. Radioautographic localization of chloroplast DNA. *Plant Physiology* 40(6):1257-1260.

¹² Hagemann R. (2010). The foundation of extranuclear inheritance: plastid and mitochondrial genetics. *Molecular Genetics and Genomics* 283(3):199-209.

¹³ Sapp J. (2009). *The New Foundations of Evolution: On the Tree of Life*. Oxford University Press.

¹⁴ *The Joshua Lederberg Papers*. National Library of Medicine. Consultado a 6 de Dezembro de 2012 (<http://profiles.nlm.nih.gov/ps/retrieve/Collection/CID/BB>). Lederberg foi o autor do termo ‘exobiologia’ – o estudo da vida extraterrestre.

possível existência de DNA em organitos celulares¹⁵: Lederberg era *chairman* e professor do Departamento de Genética Médica da Universidade de Wisconsin em Madison quando Lynn foi estudante de mestrado (1957-1960). O contacto científico, mas de cariz amigável, entre os dois continuou em anos posteriores e versando a mesma temática. No espólio de Joshua Lederberg, preservado pela National Library of Medicine (National Institutes of Health) dos EUA, é possível encontrar correspondência com Lynn Margulis, incluindo uma carta que ela lhe dirigiu em 1962, da Universidade da Califórnia em Berkeley, a solicitar um encontro para discutirem «(1) os dados de DNA citoplasmático presumivelmente-nos-cloroplastos, (2) cloroplastos como endossimbiontes em geral e (3) a minha proposta de explicação do sistema não-cromossómico *sr-500* e *sd* de Sager». ¹⁶ Lynn estava a desenvolver investigação para o doutoramento e Lederberg tinha-se mudado há pouco para a Universidade de Stanford, também na Califórnia, para fundar e dirigir o Departamento de Genética Médica.

Voltando um pouco atrás, foi precisamente no Departamento de Zoologia da Universidade de Wisconsin em Madison, no laboratório dos antigos professores de Lynn, Walter Plaut e o biólogo celular e especialista em microscopia electrónica, Hans Ris (1914-2004), que foi desenvolvida a investigação que veio a culminar na publicação, em 1962, de um artigo em que, através de métodos citoquímicos e de microscopia electrónica de transmissão, foram identificados filamentos de DNA e possíveis ribossomas no interior de cloroplastos da alga verde *Chlamydomonas moewusii*¹⁷. Ris tinha sido pioneiro no uso da microscopia electrónica para estudar algas cianofíceas (cianobactérias) e achado semelhanças claras entre a estrutura dos tilacóides fotossintéticos presentes nessas células procarióticas e a organização dos cloroplastos de células do tipo eucariótico¹⁸. Citando o trabalho clássico,

¹⁵ Guerrero R. (2011). Lynn Margulis (1938-2011), in search of the truth. *International Microbiology* 14(4):183-186.

¹⁶ Tradução livre do original. Ruth Sager (1918-1997) foi uma geneticista americana que, a partir de 1949, investigou exaustivamente a genética da microalga verde *Chlamydomonas reinhardtii* (ler mais em <http://www.chlamy.org>), primeiro no Instituto Rockefeller e, a partir de 1955, na Universidade de Columbia, ambos em Nova Iorque; (em 1949-1951 foi bolsista de pós-doutoramento com Sam Granick); *sr-500* e *sd* são dois factores (genes) não-cromossómicos que exibem hereditariedade monoparental em *C. reinhardtii* descritos por Sager & Tsubo (1961).

¹⁷ Ris H. & Plaut W. (1962). Ultrastructure of DNA-containing areas in the chloroplast of *Chlamydomonas*. *The Journal of Cell Biology* 13(3): 383-391.

¹⁸ Margulis L. (2005). Hans Ris (1914-2004): Genophore, chromosomes and the bacterial origin of chloroplasts. *International Microbiology* 8(2): 145-148.

se bem que muito pouco divulgado à altura, do biólogo russo Constantin Mereschkowsky (1855-1921)¹⁹, um dos primeiros proponentes da origem por simbiogénese dos cloroplastos, Ris tinha apoiado publicamente essa interpretação em 1960 no 10.º Congresso Internacional de Biologia Celular (Paris) e ensinava-a nas suas aulas de biologia celular avançada que Lynn frequentou. O artigo de Ris e Plaut, anteriormente referido, termina com a importante afirmação de que, uma vez que ficava demonstrada a semelhança ultraestrutural entre o organito celular e os organismos de vida livre (Monera), a endossimbiose devia ser retomada, de forma séria, como um possível passo evolutivo na origem de sistemas celulares complexos (eucariotas)²⁰.

Esta hipótese polémica sobre a autonomia funcional e genética dos organitos celulares eucariotas tinha apoiantes em mais universidades e centros de investigação americanos. Por exemplo, no Instituto Rockefeller em Nova Iorque, Sam Granick (1909-1977), um bioquímico que se notabilizou nas áreas do metabolismo do ferro e da ferritina, da estrutura e função dos cloroplastos e da biossíntese de porfirinas e clorofilas, em colaboração com Aharon Gibor (n.1925)²¹, um biólogo israelita que tinha feito um doutoramento na Universidade de Stanford sobre cultivo de microalgas, publicaram uma série de resultados primeiro com cloroplastos de *Euglena gracilis* estirpe z e depois da macroalga verde *Acetabularia mediterranea*. Com base nos seus resultados e nos de vários outros autores, com diferentes células e organismos vegetais, foi adquirida suficiente evidência para afirmar que os organitos tinham a capacidade de se auto-perpetuarem, que possuíam determinantes genéticos próprios baseados em ácidos nucleicos e a capacidade de sintetizarem os seus próprios DNA, RNA e proteínas²². Em 1964 os dois

¹⁹ Sapp J., Carrapiço F. & Zolotonosov M. (2002). Symbiogenesis: the hidden face of Constantin Merezhkowsky. *History & Philosophy of the Life Sciences* 24(3): 413-440. (disponível em <http://azolla.fc.ul.pt>); Martin W. & Kowallik K. (1999). Annotated English translation of Mereschkowsky's 1905 paper «Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche». *European Journal of Phycology* 34 (3): 287-295.

²⁰ Tradução livre do original em Ris & Plaut (1962).

²¹ Aharon Gibor é professor emérito na Universidade da Califórnia em Santa Bárbara e foi membro do comité de doutoramento do autor no Departamento de Ciências Biológicas daquela universidade. Juntamente com o graduate advisor Prof. Michael Neushul, Jr. (1933-1993), foram grandes responsáveis pelo fascínio do autor pelo tema deste volume. Aqui fica uma sentida expressão de gratidão.

²² Revisto por Gibor A. (1965). Chloroplast heredity and nucleic acids. *American Naturalist* 99(907): 229-239. Ver também Kirk J.T.O. (1986). Roots: The discovery of chloroplast DNA. *BioEssays* 4(1):36-38.

investigadores publicam um importante artigo de revisão na revista *Science*, onde reforçam estas suas conclusões e as estendem às mitocôndrias que estavam também a ser investigadas²³.

Com efeito, o casal sueco Margit e Sylvan Nass, especialistas em microscopia electrónica, primeiro na Universidade de Estocolmo e, a partir de 1964, no Departamento de Investigação Terapêutica da Escola de Medicina da Universidade da Pensilvânia, em Filadélfia (EUA), tinha obtido resultados inequívocos da presença em mitocôndrias de fibras com características de DNA numa grande variedade de tipos celulares animais (oito filos diferentes) e também em alguns vegetais (cebola e dinoflagelados)²⁴. Em algumas mitocôndrias apareciam também grânulos semelhantes a ribossomas que coravam de maneira idêntica aos ácidos nucleicos. Investigações semelhantes estavam também a ser realizadas por Schiff e Epstein (e seus colaboradores) no Departamento de Biologia da Universidade de Brandeis, em Boston, onde Lynn colaborou após o regresso de Berkeley²⁵. Este foi um período provavelmente atribulado para Lynn a nível pessoal, com dois filhos pequenos – o mais velho, Dorion Sagan (n.1959), viria a ser seu co-autor em vários livros – tinha-se separado de Carl Sagan ainda em Berkeley, mas apesar de tudo, dois anos depois, em 1966, Lynn obtém um lugar no Departamento de Biologia da Universidade de Boston, onde iria permanecer por 22 anos, até 1988, no que terá sido o período mais prolífico da sua valiosa carreira académica, iniciado com a preparação e submissão do seu mais importante manuscrito.

4. A publicação de *On the origin of mitosing cells*

O manuscrito *On the origin of mitosing cells*, que, apesar da separação, Lynn ainda assinou com o apelido Sagan, foi recebido para publicação na revista *Journal of Theoretical Biology* em 8 de Junho de 1966 e publicado na edição de Março de 1967²⁶. Não cabe nesta nota introdutória nem a análise nem a crítica aprofundadas do conteúdo científico deste artigo. Para esse efeito

²³ Gibor A. & Granick S. (1964). Plastids and mitochondria: Inheritable systems. *Science* 145(3635):890-897.

²⁴ Nass M.M.K., Nass S. & Afzelius B.A. (1965). The general occurrence of mitochondrial DNA. *Experimental Cell Research* 37(3):516-539.

²⁵ Edelman M., Epstein H.T. & Schiff J.A. (1966). Isolation and characterization of DNA from the mitochondrial fraction of *Euglena*. *Journal of Molecular Biology* 17(2):463-469.

²⁶ Sagan (1967).

J. Theoret. Biol. (1967) 14, 225–274

On the Origin of Mitosing Cells

LYNN SAGAN

*Department of Biology, Boston University
Boston, Massachusetts, U.S.A.*

(Received 8 June 1966)

A theory of the origin of eukaryotic cells ("higher" cells which divide by classical mitosis) is presented. By hypothesis, three fundamental organelles: the mitochondria, the photosynthetic plastids and the (9+2) basal bodies of flagella were themselves once free-living (prokaryotic) cells. The evolution of photosynthesis under the anaerobic conditions of the early atmosphere to form anaerobic bacteria, photosynthetic bacteria and eventually blue-green algae (and protoplastids) is described. The subsequent evolution of aerobic metabolism in prokaryotes to form aerobic bacteria (proto-flagella and protomitochondria) presumably occurred during the transition to the oxidizing atmosphere. Classical mitosis evolved in protozoan-type cells millions of years after the evolution of photosynthesis. A plausible scheme for the origin of classical mitosis in primitive amoeboid flagellates is presented. During the course of the evolution of mitosis, photosynthetic plastids (themselves derived from prokaryotes) were symbiotically acquired by some of these protozoans to form the eukaryotic algae and the green plants.

The cytological, biochemical and paleontological evidence for this theory is presented, along with suggestions for further possible experimental verification. The implications of this scheme for the systematics of the lower organisms is discussed.

1. Introduction

All free-living organisms are cells or are made of cells. There are two basic cell types: *prokaryotic* and *eukaryotic*. Prokaryotic cells include the eubacteria, the blue-green algae, the gliding bacteria, the budding bacteria, the pleuropneumonia-like organisms, the spirochaetes and rickettsias, etc. Eukaryotic cells, of course, are the familiar components of plants and animals, molds and protozoans, and all other "higher" organisms. They contain subcellular organelles such as mitochondria and membrane-bounded nuclei and have many other features in common.

"The numerous and fundamental differences between the eukaryotic and prokaryotic cell which have been described in this chapter have been fully recognized only in the past few years. In fact, this basic divergence in cellular structure which separates the bacteria and blue-green algae

T.B.

225

16

Fig.1 – Primeira página do artigo *On the Origin of Mitosing Cells*, publicado no *Journal of Theoretical Biology* em 1967.

este volume conta com a tradução para língua portuguesa de um importante trabalho do biólogo molecular John M. Archibald da Universidade de Dalhousie, em Halifax, Nova Escócia, Canadá, publicado em 2011 com o título *Origin of Eukaryotic Cells: 40 years on* [Origem das células eucarióticas: 40 anos depois]²⁷. Porventura será mais útil abordar outros aspectos relativos ao artigo de 1967. Provavelmente por ser um tão importante marco, quer da carreira da autora, quer da biologia evolutiva, tem existido uma certa envol-

²⁷ Archibald (2011).

vente de cariz quase mitológico acerca de três aspectos principais:

- Em primeiro lugar, a questão relativa ao próprio processo de publicação do artigo. A autora foi pródiga em chamar a atenção, tal como vários colaboradores e outros colegas seus (nomeadamente nos vários obituários publicados por ocasião da sua morte em várias revistas científicas e de divulgação²⁸), para o extenso e complicado processo de arbitragem ou revisão pelos pares (*peer review*) deste manuscrito, que terá sido submetido a 12, 15 ou 20 editores (*editors-in-chief*) de revistas diferentes até ser finalmente aceite para publicação por James F. Danielli (1911-1984), no já mencionado *Journal of Theoretical Biology*. Com efeito, Joshua Lederberg, um dos cientistas a quem Lynn enviou o manuscrito para obter comentários e correcções com vista à sua publicação, respondia-lhe, em carta datada de Fevereiro de 1966, que ainda não tinha conseguido ler o longo manuscrito o que, além de lhe incomodar a consciência, o impedia de julgar o mérito, quer dos detractores, quer dos lisonjeadores da autora. A carta acabava sugerindo nomes de editores prestigiados a quem Lynn poderia tentar submeter o artigo: George Wald (1906-1997, prémio Nobel em 1967) e Dwight Ingle (1907-1978), este último fundador da revista *Perspectives in Biology and Medicine* da Universidade de Chicago para publicar na interface das ciências biomédicas e das humanidades, e explorar e integrar as «duas culturas»²⁹. No final da carta, Lederberg refere ainda o conceituado microbiólogo canadiano Roger Stanier (1916-1982) como outro possível nome a consultar. Mas Lederberg também recomenda a Lynn para não se deixar desanimar pela resposta do editor da revista *Science*, Philip Abelson (1913-2004): ele próprio (laureado com o prémio Nobel da Medicina ou Fisiologia em 1958) tinha recebido comentários

²⁸ Guerrero R. (2011); Lake J.A. (2011). Lynn Margulis (1938-2011). *Nature* 480(7378):458-459; Archibald J.M. (2012). Lynn Margulis (1938-2011). *Current Biology* 22(1):R4-R6; Schaechter M. (2012). Lynn Margulis (1938-2011). *Science* 335(6066):302-302; Knoll A.H. (2012). Lynn Margulis, 1938-2011. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109(4):1022-1022; Dolan M. & Zook D. (2012). Lynn Margulis, 1938-2011. *Symbiosis* 56(1):1-3; Fogel G.B. & Schwartz A.W. (2012). Lynn Margulis (1938-2011). *Biosystems* 107(2):65; Kutschera U. (2012). Lynn Margulis: Symbiogenesis-Theorie und Anti-Darwinismus. *Biologie in unserer Zeit* 42(1):67-70; Dolan M.F. (2012). In Memoriam: Lynn Margulis (1938-2011). *Journal of Eukaryotic Microbiology* 59(4):427-428; Piqueras M. (2012). Lynn Margulis (1938-2011): The sense of wonder. *SEM@Foro* (53):14-19; McFall-Ngai M. (2012). Lynn Margulis (1938-2011) truth straight on: Reflections on the vision and spirit of Lynn Margulis. *The Biological Bulletin* 223(1):1-2.

²⁹ Visscher M.B. (1992). Dwight Joyce Ingle: September 4, 1907-July 28, 1978. *Biographical memoirs* 61:247-268.

ainda menos simpáticos do mesmo editor acerca de um manuscrito seu – *Signs of life* – que acabaria por vir a publicar em 1966 na revista *Nature*³⁰ e que, nas suas próprias palavras, constituiu «um esforço para sistematizar o pensamento acerca da questão, como decidir qual a metodologia a usar na procura de vida em Marte. Isto requer uma definição de “vida”»³¹;

- Na imprensa generalista, em obras de divulgação ou até mesmo em artigos e livros científicos, generalizou-se também a ideia de que Lynn só anos mais tarde após a publicação do artigo de 1967, quando o conceito de simbiogénese e da teoria endossimbiótica tinha já conquistado uma porção significativa da opinião científica, é que teria feito completa referência e reconhecimento aos vários autores que desde o início do século xx tinham proposto ou desenvolvido esse conceito e outros equivalentes. Nada menos exacto. No artigo de 1967 essa referência é feita logo na Introdução (p.226) quando a autora afirma explicitamente, em relação à origem da célula eucariótica a partir de simbioses remotas com células (procarióticas) de vida livre, que «estas ideias não são novas», mencionando o botânico russo Constantin Mereschkowsky, o protozoólogo inglês Edward Alfred Minchin (1866-1915), o americano Ivan Emanuel Wallin (1883-1969) que inventou o termo «simbiontismo», Joshua Lederberg, o evolucionista britânico J.B.S. Haldane (1892-1964) e Hans Ris e Walter Plaut da Universidade do Wisconsin em Madison. É verdade que não estão nesta lista outros nomes igualmente importantes, os de Andrei Sergeyevich Famintsyn (1835-1918) da Universidade de S. Petersburgo e o de Boris Mikhailovich Kozo-Polyansky (1890-1957) da Universidade Estadual de Voronezh, botânicos russos que, na linha de Mereschkowsky, propuseram e suportaram a simbiogénese na origem dos cloroplastos de algas e plantas³², mas cujas obras foram apenas publicadas em língua russa. Lynn Margulis e o famoso botânico Peter H. Raven (n.1936), director emérito do Jardim Botânico do Missouri em St. Louis, EUA, apoiaram a recente edição em língua inglesa da obra principal de Kozo-Polyansky, *Symbiogenesis: A New Principle of Evolution* (HUP, 2010)³³. Na Introdução

³⁰ Lederberg J. (1965). Signs of life: Criterion-system of exobiology. *Nature* 207(4992):9-13.

³¹ Tradução livre do original em *The Joshua Lederberg Papers*.

³² Harvard University Press, 2010. *Rediscovering symbiogenesis*. Harvard University Press Blog. Consultado a 6 de Dezembro de 2012. (http://harvardpress.typepad.com/hup_publicity/2010/07/rediscovering-symbiogenesis.html).

³³ Kozo-Polyansky B.M., Fet V. & Margulis L. (2010). *Symbiogenesis: A New Principle of Evolution*.

dessa obra, Raven conta que foi apenas em 1975, no Congresso Internacional de Botânica de Leninegrado (actual S. Petersburgo), que ele e Lynn tomaram conhecimento da obra de Kozo-Polyansky através do director do Jardim Botânico da cidade, o botânico A. Takhtajan, que lhes ofereceu uma cópia com apenas alguns excertos traduzidos para a língua inglesa;

- Por último, a ideia de que o artigo de 1967, que apesar de não se apresentar como a fonte original da teoria, teorizava tão somente sobre a aquisição por simbiogénese dos organitos celulares, não só os já mencionados cloroplasto e mitocôndria, mas também o flagelo, a motilidade celular em geral. No entanto, ao longo das muitas páginas do artigo, Lynn não faz apenas isso, ou melhor, não é essa a principal contribuição do seu génio. Essa terá sido a inovadora interligação e síntese que o artigo faz entre várias disciplinas, incluindo para além da biologia celular comparada, biologia molecular e fisiologia energética celular, a micropaleontologia ou paleomicrobiologia, a paleoclimatologia e a astronomia, assim como os mais modernos dados já publicados ou em preparação e discussão em alguns dos principais laboratórios americanos. Por exemplo, se bem que as ideias relativas às mudanças ambientais de longa amplitude em épocas ancestrais pré-Câmbricas já fossem antigas, quase tudo o que se sabia naquela altura sobre o registo fóssil mais antigo, bem como os muitos dados geológicos que permitiram a sua avaliação e interpretação, só tinham ficado disponíveis nos últimos 5-6 anos. Um dos cientistas fundamentais neste processo foi o micropaleontologista Elso S. Barghoorn (1915-1984), cuja equipa no Departamento de Geologia da Universidade de Harvard, incluindo o estudante de pós-graduação J. William Schopf (n.1941), publicou ao longo da década de 60 vários trabalhos muito importantes para a tese de Lynn, nomeadamente o artigo sobre os fósseis de «plantas» do sílex da formação de Gunflint em Ontário, Canadá, publicado na revista *Science* em 1965, em que quase quadruplicou o conhecimento existente da história da vida, colocando assim a disciplina em fundações sólidas³⁴. Noutro artigo Lynn cita uma frase favorita de Barghoorn: «não estudo a origem da vida, uma ideia envolta em mistério, mas antes estou

Harvard University Press.

³⁴ Margulis L. & Knoll A.H. (2006). Elso Sterrenberg Barghoorn, Jr 1915-1984. In *Biographical Memoirs* 87:92-109.

interessado na antiguidade da vida.»³⁵ Outro cientista cujo trabalho foi muito importante para a tese de Lynn foi Preston E. Cloud (1912-1991) que, na Universidade da Califórnia em Santa Bárbara, criou o Laboratório Cloud, inicialmente denominado Laboratório Limpo, dedicado aos estudos da paleomicrobiologia e das primeiras amostras geológicas lunares recolhidas pela missão espacial *Apollo 11* (Data de lançamento: 16 de Julho, 1969, 13:32:00 UTC / aterragem na Lua: 20 de Julho, 1969, 20:17:40 UTC no Mar da Tranquilidade³⁶). Cloud conseguiu interpretar as amplas dependências entre processos e episódios na evolução da biosfera remota, construindo um modelo bem validado pelos dados existentes; em 1968 reconheceu que o oxigénio livre havia começado a acumular-se na atmosfera de modo significativo há cerca de 2 mil milhões de anos atrás, criando assim a possibilidade de existirem organismos do tipo eucariótico e que tinha atingido níveis que suportavam a vida de metazóários cerca de 700 milhões de anos antes do presente.

No final do artigo, nos Agradecimentos, Lynn reconhece a ajuda, o encorajamento e a crítica de várias pessoas, nomeadamente de Barghoorn, Schoopf e Cloud, Ben-Shaul – do laboratório de Schiff e Epstein na Universidade de Brandeis –, do algologista Ralph A. Lewin (1921-2008)³⁷, da Instituição de Oceanografia Scripps da Universidade da Califórnia em São Diego, famoso pelos estudos da cianobactéria *Prochloron*, e dos seus ex-, Carl Sagan, e futuro marido, o especialista em cristalografia de raios-x Thomas N. Margulis (n.1937) da Universidade de Boston, com quem foi casada, entre 1967 e 1980, e teve uma filha e um filho.

5. O estado da arte após a publicação de *On the origin of mitosing cells*

Cerca de oito anos depois da publicação do artigo no *Journal of Theoretical Biology*, quando, quer em relação aos plastos quer às mitocôndrias,

³⁵ Margulis L. & Guerrero R. (1986). Not «origins of life» but «evolution in microbes». *Treballs de la Societat Catalana de Biologia* 39:105-112.

³⁶ Apollo 11. *Wikipedia, the Free Encyclopedia*. Consultado a 6 de Dezembro de 2012 (http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Apollo_11&oldid=527943763).

³⁷ Obituary Notice: Esteemed Marine Biology Pioneer: Ralph A. Lewin. *Scripps Oceanography News*. Consultado a 6 de Dezembro de 2012 (<http://scrippsnews.ucsd.edu/Releases/?releaseID=943>).

continuavam a acumular-se resultados de áreas e técnicas diferentes, aumentando o espectro de organismos e sistemas estudados e reforçando na grande maioria as observações obtidas na primeira metade da década de 60, Lynn Margulis publicou em 1975 uma reflexão sobre os critérios necessários e suficientes para sustentar factualmente a origem por simbiogénese dos organitos espelhada no artigo de 1967 (e no livro de 1970)³⁸. Nas suas palavras, «o propósito de uma teoria é unir observações aparentemente díspares num conjunto de generalizações com poder preditivo. (...) Muitas cadeias de evidências suportam esta teoria [endossimbiose em série de organitos celulares] e podem ser interpretadas umas em relação às outras com base nesta teoria. Mesmo que esta teoria venha eventualmente a ser provada errada ela tem a real vantagem de gerar um grande número de hipóteses únicas experimentalmente verificáveis».

Para além de continuar a investigar e a reunir dados para o que viria a ser o seu primeiro livro, intitulado *Origin of Eukaryotic Cells*, publicado em 1970, Lynn preocupou-se visivelmente em tentar integrar a sua visão alternativa – e proposta radical – para a origem das células complexas que viriam a estar na origem da verdadeira multicelularidade em plantas e animais, nas mais recentes classificações dos organismos acabadas de publicar por Klein e Cronquist (1968)³⁹ e Whittaker (1969)⁴⁰. Assim, foram publicados: (i) dois artigos criticando a filogenia clássica das plantas inferiores (Tálofitos) e propondo uma alternativa, baseada na teoria simbiótica, mais consistente com a natureza e sequência dos depósitos orgânicos pré-Câmbricos,⁴¹ e (ii) um outro artigo sobre a nova proposta de Whittaker que reflectia muitíssimo bem os conceitos evolutivos da nova teoria simbiótica, o que veio a originar a publicação de uma proposta conjunta⁴².

³⁸ Margulis L. (1975). Symbiotic theory of the origin of eukaryotic organelles; criteria for proof. *Symposia of the Society for Experimental Biology* 29:21-38.

³⁹ Klein R.M. & Cronquist A. (1967). A consideration of the evolutionary and taxonomic significance of some biochemical, micromorphological, and physiological characters in the thallophytes. *Quarterly Review of Biology* 42(2):108-296.

⁴⁰ Whittaker R.H. (1969). New concepts of Kingdoms of organisms. *Science* 163(3863):150-160.

⁴¹ Margulis L. (1968). Evolutionary criteria in Thallophytes: A radical alternative. *Science* 161(3845): 1020-1022; Margulis L. (1969). New phylogenies of the lower organisms: Possible relation to organic deposits in Precambrian sediment. *The Journal of Geology* 77(5):606-617.

⁴² Margulis L. (1971). Whittaker's five Kingdoms of organisms: Minor revisions suggested by considerations of the origin of mitosis. *Evolution* 25(1): 242; Whittaker R.H. & Margulis L. (1978). Protist classification and the kingdoms of organisms. *Biosystems* 10(1-2):3-18.

Outros autores alinharam com as propostas de Lynn no artigo de 1967 e publicaram revisões e análises que vieram enriquecer o património da teoria simbiótica. Num importante artigo publicado na revista *Science*, Peter Raven concordou que, por um lado, as homologias entre mitocôndrias e plastos, e por outro, entre estes e procariotas tornavam muito clara e viável a hipótese de os segundos terem originado os primeiros. Porém, havia no conjunto dos organismos extantes tantos exemplos de simbioses e dos mais variados graus de antiguidade evolutiva que ficava clara a facilidade com que tais relações podiam ser estabelecidas⁴³. Outro apoiante que muito contribuiu para a credibilização da tese de Lynn foi o microbiólogo F.J.R. «Max» Taylor (n.1939), professor emérito de Oceanografia Biológica e Fitoplâncton Marinho no Departamento de Ciências da Terra, Oceano e Atmosfera da Universidade da Colúmbia Britânica, Canadá, que foi creditado com a extensão da teoria em teoria endossimbiótica em série e que propôs pela primeira vez os conceitos de endossimbiose primária e secundária para explicar a grande diversidade de tipologias de plastos entre os eucariotas unicelulares.⁴⁴ No artigo, Max Taylor expõe argumentos para mostrar que a teoria celular clássica era inadequada para explicar as relações topológicas das mitocôndrias e dos cloroplastos que estão como que «fora» da célula, por ela «envolvidos», em vez de estarem verdadeiramente no seu interior. Esta localização dos organitos era, por outro lado, consistente com a sua teoria da endossimbiose em série – «*serial endosymbiosis theory*». O autor abria no entanto um ponto de discórdia com as propostas de Lynn no artigo de 1967 ao considerar que os centros de organização de microtúbulos, por estarem realmente dentro da célula, eram melhor explicados por uma origem autogénica do que pela proposta simbiogénica de Lynn. Taylor discute ainda a possibilidade de permanência dos organitos endossimbióticos quando as células em que foram produzidos são tomadas em outras células, dando exemplos de estados fotossintéticos pouco usuais em ciliados e flagelados, e sugerindo a possibilidade de alguns corpúsculos fotossintéticos que fazem a transição entre as típicas algas-azuis (cianobactérias) e os cloroplastos terem tido uma origem mais recente que a era pré-Câmbrica.

Em meados da década de 70 o número de aderentes às propostas endossimbióticas de Lynn Margulis, e de outros autores posteriores, era já

⁴³ Raven P.H. (1970). A multiple origin for plastids and mitochondria. *Science* 169(3946):641-646.

⁴⁴ Taylor F.J.R. (1974). Implications and extensions of the Serial Endosymbiosis Theory of the origin of Eukaryotes. *Taxon* 23 (2-3):229.

significativo, de tal maneira que o artigo suscitou uma avalanche de pedidos de separatas – mais de 800 – algo nunca visto no Departamento de Biologia da Universidade de Boston, acabando por ganhar um prémio para o melhor artigo publicado por um professor. Lynn Margulis era na altura apenas professora adjunta (sem *tenure*) no Departamento, mas viria a ganhar um lugar permanente que manteve durante 22 anos até 1988, quando obteve a cátedra de Distinto Professor da Universidade em Geociências, Evolução Microbiana e Hereditariedade dos Organitos, no Departamento de Geociências da Universidade do Massachussets em Amherst. No plano pessoal, o segundo casamento também acabou em divórcio, por volta de 1980, e Lynn não voltou a casar, embora tenha mantido desde meados dessa década uma forte e próxima relação pessoal – e muito prolífica relação profissional – com o especialista em biologia e ecologia microbianas da Universidade Autónoma de Barcelona, Ricardo Guerrero, a quem tratava por «*mi compañero*».⁴⁵

Ainda durante vários anos a polémica entre apoiantes da(s) teoria(s) que propunha(m) uma origem endossimbiótica para os organitos celulares e quem favorecia a teoria clássica da origem autogénica a partir do sistema endomembranar das células, manteve-se acesa. Talvez dois expoentes que exemplificam bem as posições do segundo grupo são os trabalhos dos professores da Universidade de Indiana em Bloomington, Henry R. Mahler (1921-1983) e Rudolf A. Raff – que actualmente detém a cátedra James H. Rudy em Biologia, dirige o Instituto de Biologia Molecular de Indiana e é geralmente considerado um dos fundadores da biologia evolutiva do desenvolvimento (Evo-Devo) – e os de Lawrence Bogorad (1921-2003) do Departamento de Biologia da Universidade de Harvard, que fez um pós-doutoramento no laboratório de Sam Granick no Instituto Rockefeller em 1951. Num artigo publicado na revista *Science* em 1972⁴⁶, Raff e Mahler, em completa contracorrente, afirmam que nem o registo fóssil nem a bioquímica eucarióticas suportam os preceitos da teoria simbiótica [sic]. Se bem que esta teoria «possa ser esteticamente agradável, ela não é atraente», pelo que se propõem desenvolver uma hipótese alternativa para a origem da célula eucariótica. Também na revista *Science*, mas já em 1975⁴⁷, Bogorad publicou um detalhado estudo sobre a evolução dos genomas eucarióticos

⁴⁵ Piqueras (2012).

⁴⁶ Raff R. A., & Mahler H. R. (1972). The non-symbiotic origin of mitochondria. *Science* 177(4049):575-582.

⁴⁷ Bogorad L. (1975). Evolution of organelles and eukaryotic genomes. *Science* 188(4191):891-898.

e dos organitos em que reviu os últimos conhecimentos, à época, sobre os possíveis mecanismos para a dispersão génica intracelular-intergenómica. A sua hipótese era que no momento da formação da célula eucariótica, ou um pouco antes, todos os genes necessários para o funcionamento do organito, bem como os seus produtos, estavam juntos; a actual dispersão de genes e produtos em diferentes compartimentos celulares poderia ser explicada por mecanismos de rearranjo intracelular dos genes através de potenciais mecanismos de «transferência génica» e de «substituição génica e de proteínas».

Pouco depois da publicação destas tentativas de apagar a chama acesa pelo artigo de Lynn em 1967, o trabalho que é considerado hoje em dia a primeira pedra da comprovação definitiva (ou o seu equivalente no processo científico) da origem simbiogénica dos organitos celulares eucarióticos foi publicado. Dois cientistas, então ligados à Fundação Nacional de Investigação Biomédica, Robert M. Schwartz (1944-2001) e Margaret O. Dayhoff (1925-1983) – também do Centro Médico da Universidade de Georgetown em Washington DC, e considerada a fundadora da bioinformática – relatam na revista *Science* de 27 de Janeiro de 1978⁴⁸ que, pela combinação de árvores evolutivas baseadas em sequências de diferentes tipos – ferredoxina, citocromos tipo-c e RNA ribossomal 5S –, tinha sido possível delinear, em traços largos, os eventos precoces na emergência da vida. Se bem que o esquema apresentado fosse baseado ainda em poucos dados sequenciais, ele poderia ser paulatinamente completado e refinado à medida que nova informação fosse sendo adicionada e, uma conclusão sobressaía claramente, a mais directa interpretação dos dados sequenciais é fornecida pela teoria simbiótica da origem dos eucariotas.

Lynn Margulis viveu muitos e produtivos anos em Amherst, no Estado de Massachussets, numa casa à beira de um lago, Puffers Pond, muito próxima da residência da grande poetisa Emily Dickinson (1830-1886), por quem se dizia fortemente inspirada⁴⁹. Em 22 de Novembro de 2011, com 73 anos de idade, cerca de uma semana após sofrer um devastador acidente vascular cerebral, Lynn morreu em sua casa. Sobrevivem-lhe as suas três irmãs, os seus três filhos e uma filha, dos dois casamentos, e nove netos e netas. Sobrevive também uma vasta obra publicada, catalisadora de reacções quase sempre radicais, polémica, por vezes teimosa mas sempre inquisitiva e iluminada por uma enorme vontade de saber que atingiu um vasto público

⁴⁸ Schwartz R.M., & Dayhoff M.O. (1978). Origins of prokaryotes, eukaryotes, mitochondria, and chloroplasts. *Science* 199(4327):395-403.

⁴⁹ Di Properzio J. (2004). Full Speed Ahead. University of Chicago Magazine. Consultado a 6 de Dezembro de 2012 (<http://magazine.uchicago.edu/0402/features/speed.shtml>).

multilingue e multicultural. Aliás, como ela própria.

*After all, nothing in the biology of bioenergetic organelles makes sense except in the light of endosymbiosis.*⁵⁰

— Bill Martin et al.⁵¹

Agradecimentos: O autor agradece à Doutora Jennifer Margulis, a Becky Sue Epstein e à Professora Amarella Eastmond pelas informações e imagens generosamente cedidas.

⁵⁰ «Afimal, nada na biologia da bioenergética dos organitos faz sentido excepto à luz da endossimbiose.»

⁵¹ Martin W., Roettger M., T. Kloesges T., Thiergart T., Woehle C., Gould S.B. & Dagan T. (2012). Modern endosymbiotic theory: Getting lateral gene transfer into the equation. *Endocytosis and Cell Research* 23 (special issue):1-5.

