ESTUDOS

SOBRE A

CELLULA VEGETAL

POR

José Diogo Arroyo

LICENCIADO EM PHILOSOPHIA
E SOCIO EFFECTIVO DO INSTITUTO DE COIMBRA

COIMBRA
IMPRENSA DA UNIVERSIDADE
1880

A' Sociedade dos
"Estudos Medicos"

ESTUDOS

SOBRE A

CELLULA VEGETAL

ESTUDOS

SOBRE A

CELLULA VEGETAL

POR

José Diogo Arroyo

LICENCIADO EM PHILOSOPHIA
E SOCIO EFFECTIVO DO INSTITUTO DE COIMBRA

COIMBRA
IMPRENSA DA UNIVERSIDADE
1880

C'est avec raison que l'on reconnait dans la cellule la forme organisée particulière à la vie, et la vie dans l'activité propre de la cellule.

CLAUS, *Traité de Zoologie.*

En tous genres la méthode est encore plus importante que la doctrine elle-même.

AUG. COMTE, *Philosophie positive.*

A

MEU PAE

DISSERTAÇÃO INAUGURAL

PARA O

ACTO DE CONCLUSÕES MAGNAS

NA

FACULDADE DE PHILOSOPHIA

DA

UNIVERSIDADE DE COIMBRA

PARTE I

MORPHOLOGIA DA CELLULA

A cellula vegetal apresenta-se vulgarmente constituida por uma membrana exterior, que involve uma substancia mucilaginosa, o protoplasma, na qual se acham contidas todas as outras formações cellulares, o nucleo, a chlorophylla, o amido, etc.

Comtudo, entre todas as substancias, que podem concorrer para a formação da cellula, distingue-se o protoplasma pelo caracter das suas funcções variadas.

O protoplasma é a substancia viva da cellula: é elle que a construe, que desempenha o seu trabalho chimico, que lhe dá o movimento, que a reproduz.

É o factor principal de todas as funcções cellulares.

As outras formações, que mencionamos, ou são protoplasmicas, e por isso as suas propriedades derivam immediatamente das d'aquella substancia, ou têm uma diversa constituição e acham-se

incapazes então de manifestarem os phenomenos vitaes. Mas nenhuma d'ellas existe sem que anteriormente exista a materia viva.

D'este modo fica naturalmente traçado o caminho, que temos a seguir.

O estudo do protoplasma é a base a que deve referir-se o das outras partes da cellula.

CAPITULO I

Summario: I Natureza chimica do protoplasma. É uma substancia proteica. Sua constituição molecular. — II Estructura physica do protoplasma. Suas relações com os corpos colloides. Theoria *plastidular*. Factos que a justificam. — III Granulações: são o primeiro indicio apparente da actividade do protoplasma. Esta substancia vive num meio formado pela mistura de principios diversos. Diffusão e osmose. Intussuscepção. Productos a que o protoplasma dá origem. Succo cellular.

I

O protoplasma é uma substancia albuminoide ou proteica. Como todos os corpos do grupo a que pertence, é uma combinação complexa de carbono, hydrogeno, azoto, oxygeno e enxofre. As experiencias de Chevreul, Boussingault, Corenwinder e Dehérain levaram este ultimo a suppôr, que na molecula protoplasmica existe tambem o phosphoro. Pelo menos experiencias feitas sobre as sementes verificaram, que a proporção de phosphoro augmenta com a quantidade de azoto que ellas contêm, e que o acido phosphorico e os phosphatos se combinam com certos principios immediatos, de modo a não poderem manifestar algumas das suas propriedades. Por exemplo o phosphato neutro de calcio, que é completamente insoluvel na agua, torna-se

soluvel nas condições apontadas. Comtudo esta supposição de Dehérain necessita de ser confirmada.

Todas as substancias albuminoides se aproximam pela sua composição centesimal e possuem um peso molecular muito elevado. Por este motivo, pelo seu estado amorpho na grande maioria dos casos e pela impossibilidade de as obter completamente puras, não póde ligar-se uma absoluta confiança aos resultados da analyse. Muitos despresam até as pequenas differenças observadas e attribuem a todas as materias proteicas uma composição identica, referindo as suas formulas moleculares á de uma d'ellas tomada para typo. Em geral a substancia escolhida é a albumina, cujo peso molecular é aproximadamente 1612, e cuja formula bruta Lieberkuhn representa por

$$C^{72} H^{112} Az^{18} SO^{22}.$$

Como se vê, corresponde a uma molecula extremamente complicada.

Suppondo todavia que este resultado é exacto, resta determinar a constituição intima da molecula. É de prever que as difficuldades inherentes a esta determinação sejam maiores, do que no caso precedente.

A constituição de um corpo determina-se pela interpretação das suas reacções, sendo tanto mais certo aquelle conhecimento, quanto mais definidas forem estas. Ora a molecula albuminoide é impropria para nos ministrar um tal auxilio, o que se justifica pela natureza e o enorme numero d'atomos que a constituem.

O carbono é um corpo solido, que até hoje não póde ser liquefeito a temperatura alguma; o oxygeno, o azoto e o hydrogeno, corpos que possuem a maior mobilidade molecular. O carbono

póde affectar diversos estados allotropicos; o oxygeno condensa-se produzindo o ozono. Ha pois contrastes notaveis nas relações das forças moleculares e atomicas, que determinam a estatica de cada um d'estes corpos.

Sob o ponto de vista chimico, torna-se saliente a opposição entre a energia com que o oxygeno se combina com a maior parte das substancias conhecidas e a inercia incomparavel do azoto. Em presença d'estes corpos e do hydrogeno, que tem um poder medio de combinação, o carbono individualisa-se, porque, sendo completamente inerte ás temperaturas ordinarias e podendo combinar-se sómente com um pequeno numero de substancias, tem a propriedade de multiplicar o numero dos seus atomos nas moleculas dos corpos a que dá origem, complicando-lhes a estructura. Esta propriedade manifesta-a de um modo excepcional. É a ella que os edificios moleculares das substancias proteicas devem a sua formação.

Notemos agora que o equilibrio de um agrupamento atomico se rompe tanto mais facilmente pela acção de uma força exterior, quanto mais heterogeneas forem as unidades que o constituirem. Sirvam de exemplo os compostos do azoto, dos quaes alguns têm uma extrema instabilidade. Na molecula albuminoide os resultados são muito mais complexos, porque á heterogeneidade dos elementos se reune o grande numero d'atomos de cada um. E por isso a acção de uma força incidente reparte-se tão desegualmente pelos atomos que a formam, que elles tendem constantemente á perda immediata do seu equilibrio, para se adaptarem ás novas condições em que se acham collocados. Comprehende-se bem que, se as forças não tiverem uma intensidade sufficiente para destruirem o edificio molecular, este responda á sua acção por uma pequena alteração: uma nova disposição ato-

mica, que póde variar de uma infinidade de maneiras, ou mesmo uma leve modificação do numero dos seus atomos constituintes. É por esta razão que os casos de isomeria se multiplicam, á medida que a estructura molecular se complica; que tantas substancias albuminoides distinctas manifestam uma composição centesimal quasi identica; que, emfim, o conhecimento da sua constituição está sujeito a tantas causas que desfiguram os factos.

Mas do pouco que dissemos podemos tirar já uma conclusão valiosa. É a possibilidade que os corpos albuminoides têm de se metamorphosearem de um modo insensivel, obedecendo á menor excitação externa e podendo talvez experimentar uma verdadeira evolução na sua constituição molecular. Isto é confirmado por muitos factos, que demonstram a variação na constituição d'estas substancias. Citaremos as analyses feitas sobre as cellulas da levadura de cerveja, das quaes Schützenberger concluiu que, segundo as circumstancias, podemos admittir na levadura a presença de uma ou muitas materias albuminoides. Além d'isto, segundo o mesmo chimico, não é possivel affirmar que uma substancia albuminoide especificamente determinada seja um principio immediato bem definido; antes cada uma parece ser uma mistura, em proporções variaveis, de corpos quasi identicos e de difficil, senão impossivel, separação. A albumina, que por muito tempo foi considerada um principio immediato, é formada pela mistura de muitas albuminas, que quasi se confundem pela composição, e unicamente se distinguem pelo seu poder rotatorio especifico e pela temperatura de coagulação. A complicação de estructura explica-se assim mais claramente, porque os agrupamentos de primeira ordem se reunem para darem um agrupamento d'ordem superior.

A theoria sobre a constituição d'estes compostos deve tender

pois, de um modo geral, a attribuir á disposição atomica a origem principal das suas dessemelhanças.

As substancias proteicas são caracterisadas ainda porque, submettidas á acção de certos reagentes, se desdobram de um modo analogo, produzindo-se alguns principios communs a todas, e variando dentro de certos limites a composição dos outros de uma maneira especial para cada uma. A theoria da sua constituição naturalmente se baseia em reacções d'esta natureza. Por isso Mulder as considerou como formadas por um radical constante, a *proteína*, e quantidades variaveis de enxofre, phosphoro e materias mineraes; Liebig, attribuindo-lhes a mesma composição elementar, as suppoz todas compostos isomeros; Sterry Hunt, amidos ou nitrylos da cellulosa, da dextrina, da gomma e do assucar. Mas eram então incompletos e deficientes os factos conhecidos; as theorias que os traduziram foram já completamente abandonadas; têm hoje um puro interesse historico.

Posteriormente a estes chimicos, Berthelot considerou os corpos albuminoides como amidos complexos, formados pela combinação dos *acidos amidados*

$$C^n H^{2+1} Az O^2 \text{ (serie da leucina)},$$

e da *tyrosina*, etc., com certos principios oxygenados pertencentes ás series *acetica* e *benzoica*.

As differenças entre as diversas materias albuminoides são produzidas, segundo esta theoria, pela natureza e proporções relativas dos amidos e corpos oxygenados geradores.

Bouchardat adopta-a na sua *Historia geral das materias albuminoides*.

Actualmente Schützenberger, empregando o hydrato de bario,

desdobrou estas substancias, por uma simples hydratação, não as alterando profundamente, como succedia em algumas experiencias anteriores.

Os resultados a que chegou foram os seguintes:

Todas as substancias albuminoides contêm um radical commum—*a urêa*—, e são formadas pela associação, em proporções diversas, d'este radical com varios *acidos amidados*, pertencentes ás duas series

$C^nH^{2n+1}AzO^2$ (serie da leucina), $C^nH^{2n-1}AzO^4$ (serie aspartica)

e com outros compostos, taes como a *tyrosina* e a *tyro-leucina*.

As proporções entre estas substancias explicam as dessemelhanças de propriedades de todas as materias albuminoides.

Preferimos esta theoria á de Berthelot, que não dá conta da existencia constante da urêa. Mas, prescindindo d'esta substancia, «é impossivel com os acidos amidados $C^nH^{2n+1}AzO^2$, diz Schützenberger, exprimir a composição dos albuminoides; qualquer que seja a combinação que se effectue com aquelles corpos, e ainda que se subtráiam elementos da agua, em quantidade sufficiente para egualar a proporção de oxygeno contida na albumina, encontrar-se-ha sempre um excesso notavel de hydrogeno. É pois indispensavel a intervenção dos acidos amidados da serie aspartica $C^nH^{2n-1}AzO^4$ no grupo das materias proteicas, para explicar a sua constituição.»

É evidente que, considerando-as assim, deverão estas substancias em muitos casos pertencer á classe de isomeros, que Berthelot designa por—*metameria*,—ou isomeria por compensação. Com effeito, sendo em todas quasi constante a composição centesimal e, ao que parece, o peso molecular, só podem distin-

guir-se pela natureza dos amidos e outros corpos oxygenados, que entram na sua formação, contendo uns em excesso os elementos que faltam aos outros. Assim comprehende-se a facilidade com que ellas se modificam, sem alterarem a sua composição.

Mas ha phenomenos que parecem dever attribuir-se a uma isomeria propriamente dicta. Citámos já a albumina, que é formada pela condensação de muitas albuminas de poderes rotatorios distinctos e de quasi identica composição. Neste caso o phenomeno de isomeria está bem patente.

Suppondo mesmo que ha impossibilidade em averiguar se ella se verifica d'um modo constante, o que podemos ter como mais provavel é que a variação das substancias albuminoides provém de factos d'esta natureza.

Não é possivel que os phenomenos de isomeria se manifestem aqui com a simplicidade, que offerecem nos corpos de pequena complicação molecular. A molecula da albumina já se nos mostrou muito complexa; cada um dos agrupamentos, que a formam, resulta da associação de moleculas mais simples, mas ainda complicadas. Não sabemos a maneira intima, por que estas se sobrepõem, e as relações que as ligam. Suppondo comtudo que só uma d'ellas recebe uma pequena modificação, esta pouco deve influir nas propriedades geraes da grande molecula proteica, e por conseguinte póde não se tornar muito sensivel exteriormente.

Estas pequenas alterações podem accumular-se até um limite, em que a sua influencia commum determine uma mudança sensivel de propriedades do corpo proteico. Pois bem, se, dado isto, a sua composição centesimal se conservar a mesma aproximadamente, não devemos ver aqui uma prova de um phenomeno de isomeria, ainda que em um gráu muito complicado?

Este modo de ver tem a vantagem de tornar mais comprehensivel a propriedade geralmente attribuida aos albuminoides de experimentarem infinitesimas variações de composição. Não é a sua molecula inteira, considerada como uma massa unica, que affectam essas variações. Só uma pequenissima parte componente se modifica, muito talvez em relação ás suas dimensões, mas de um modo insignificante, se se attender a todo o edificio molecular.

Acceitando a theoria de Schützenberger, não suppomos que ella exprima com rigor a estructura chimica dos compostos albuminoides; unicamente a consideramos como a que melhor se aproxima da solução d'este problema. Apreciamol-a comtudo, porque nas sciencias biologicas realisa um verdadeiro progresso tudo o que nos auxilia a pôr de lado o caracter mysterioso dos phenomenos vitaes. Se as materias albuminoides têm uma tal constituição, ou uma outra, que se assemelhe a esta, é de prever que a sua molecula entre um dia completamente definida nos quadros da chimica. Dar-se-ha então o primeiro grande impulso ao conhecimento mechanico do modo como ella actúa, quando reveste os caracteres da materia viva, o protoplasma.

Hoje caminhamos numa via de exploração: lançamos mão de tudo o que possa illucidar-nos sobre este problema obscuro.

Pelo que respeita ao objecto especial d'este paragrapho, podemos affirmar que, de hoje em deante, o conhecimento da constituição chimica do protoplasma não constitue uma questão insoluvel.

II

Os caracteres que acabamos de attribuir ao protoplasma são insufficientes para a comprehensão dos phenomeeos vitaes da cellula. O trabalho chimico que esta effectua tem, como veremos, uma condição necessaria na instabilidade das substancias proteicas, as quaes a seu turno devem a sua complicada constituição ás especiaes propriedades physico-chimicas do carbono.

Mas o protoplasma, ao passo que assim se manifesta, adquire um conjuncto de caracteres physicos que o estremam de todos os corpos conhecidos, ainda os mais proximos pela constituição molecular. Mencionaremos as distribuições variadas que a sua substancia póde experimentar no interior das cellulas; a propriedade que possue de affectar fórmas diversas, mais ou menos determinadas, segundo os organismos que se consideram; finalmente a sua mobilidade.

A fórma e a mobilidade são phenomenos de que só posteriormente nos occuparemos, porque se devem considerar resultantes de causas variadas, que ainda não estudamos. Mas a distribuição do protoplasma na cellula tem uma relação immediata com uma propriedade geral de todas as materias vivas—a sua attracção para a agua.

Este elemento, penetrando por uma força osmotica na massa protoplasmica, e desaggregando as suas moleculas, accumula-se em pontos diversos, produzindo ahi outras tantas cavidades ou *vacuolos*. A nova affluencia do liquido, determinando um crescimento correlativo dos vacuolos, repelle o protoplasma, que se dis-

tribue á peripheria sob a fórma de uma capa continua, varios pontos da qual ficam ligados por filamentos, restos da massa primitiva que resistiram á desaggregação.

O simples esboço do phenomeno é sufficiente para individualisar o protoplasma physicamente. Nenhuma outra substancia o manifesta, o que demonstra a particular estructura d'aquelle corpo. Podemos dizer, em geral, que todos os phenomenos vitaes presuppõem no protoplasma uma estructura physica complexa.

Necessitamos pois de estabelecer com precisão tudo o que possa esclarecer-nos sobre este ponto.

Apontámos já uma propriedade geral de todas as materias vivas, a sua attracção para a agua. Todos os corpos organisados se compõem, como diz Julio Sachs, de uma substancia solida e agua interposta. Se tractarmos uma cellula viva por um corpo ávido de agua, o acido sulphurico concentrado, por exemplo, o seu protoplasma contrahe-se immediatamente, destacando-se da parede exterior; as moleculas proteicas aproximam-se, porque lhes é roubada a agua interposta entre ellas. Dá-se o phenomeno opposto no caso em que se lhes fornece uma quantidade de liquido maior, como mostrámos no exemplo precedente.

Em consequencia d'esta propriedade o protoplasma offerece a apparencia de um corpo mucilaginoso, estado sob o qual se assemelha a um grupo de substancias, cujos caracteres têm muitos pontos de contacto com os seus. São aquellas que Graham designou pelo nome de *colloides*.

Sabe-se que os *colloides* se distinguem dos *cristalloides* pelo seu poder de diffusão, pequeno e por vezes quasi nullo nos primeiros, e grande nos segundos. Os caracteres dos colloides são muito notaveis, e singularmente proprios, para nos fazerem comprehender algumas das propriedades da materia viva da cellula.

Todos possuem uma consistencia mais ou menos gelatinosa, e um estado que apparenta ser o intermediario entre o solido e o liquido, mas que, em verdade, não póde comparar-se a nenhum dos dois.

É muito geral o estado colloide; commum não só a todos os compostos azotados complexos, a um grande numero de combinações do carbono, oxygeno e hydrogeno, como a gomma, o amido e a dextrina, mas tambem a muitos corpos mineraes. O acido silicico, a albumina, o peroxydo de ferro, por exemplo, podem manifestal-o.

Todos os corpos que affectam o estado colloide se combinam com a agua, dando hydratos gelatinosos. Todos a retêm com uma grande energia. Podiamos suppôr, attenta a generalidade da sua existencia, que esta *agua de gelatinisação* corresponde á agua de *cristallisação* dos cristalloides.

A molecula dos colloides não entra em combinação com uma energia comparavel á dos acidos ou das bases ordinarias, ainda que tenha as suas propriedades. Tem uma actividade chimica muito menor. Por outro lado, posto que ás vezes muito soluveis, conservam-se com difficuldade em dissolução e depressa se precipitam. Isto levou Graham a attribuir-lhes uma molecula muito complicada, dotada de pequena mobilidade, hypothese que muitos factos justificam. Por exemplo, o acido gommico, cuja fórmula $C^{12}H^{11}O^{11}$ é relativamente simples, satura-se com uma quantidade tão pequena de base, que parece ter no estado colloide a sua molecula muitas vezes condensada. Sobretudo as materias organicas, que manifestam os phenomenos vitaes, são assim caracterisadas no maximo gráu. Para Graham é provavel, que a base do estado colloide seja um agrupamento de moleculas cristalloides.

A grandeza molecular contribue para a pequena diffusibilidade d'estas substancias. Nota-se até que, geralmente, ao passo que o peso molecular augmenta, a diffusibilidade diminue. Uma outra propriedade se prende com este facto: todos os colloides são muito instaveis. Vimos já que um grande edificio molecular deve manifestar esta propriedade, com uma energia crescente com o numero dos seus atomos. Demais o colloide póde considerar-se essencialmente como um corpo solido mergulhado em um meio liquido. Os agentes externos actuam com uma grande facilidade em toda a sua massa; a instabilidade chimica manifesta-se mais completamente, com o augmento de sensibilidade.

Resumindo: no estado colloide a attracção para a agua, o elevado peso molecular, a diffusibilidade por vezes quasi nulla, a instabilidade chimica e, finalmente, a extrema sensibilidade á acção do meio exterior são propriedades, ligadas entre si por uma relação intima de dependencia. Umas arrastam comsigo as outras. Podem algumas verificar-se nos cristalloides, mas nunca o seu conjuncto.

Graham ferido por este contraste, denomina o estado colloide o *estado dynamico da materia*, emquanto que o cristalloide é o *estado estatico*. «Os colloides, diz Graham, possuem uma força viva, que póde considerar-se como a origem provavel das acções, que se manifestam nos phenomenos vitaes.»

E assim deve ser. O protoplasma é a substancia que reveste em mais subido gráu as propriedades dos colloides. Parece que, desde os corpos mais simples até elle, existe uma progressão, cujo termo mais complicado synthetisa os caracteres do grupo, manifestando-os com a maior nitidez e energia, manifestação que nada mais é, do que a condição para a formação das substancias vivas.

Entre esses caracteres ha dois, o peso molecular e a instabilidade chimica, de que já tractámos precedentemente. A sensibilidade em relação aos agentes externos é uma consequencia da constituição dos colloides, que se revelará com evidencia nos phenomenos, de que tractarmos na segunda parte d'este estudo. Vejamos os dois restantes.

A albumina tem uma diffusibilidade insignificante, cêrca de mil vezes menor do que a do chlorureto de sodium. Isto é indispensavel para que se comprehenda a existencia dos organismos monocellulares nus. É possivel que o seu protoplasma seja completamente destituido do poder de diffusão, representando, como dissemos, a substancia em que este caracter se verifica de um modo absoluto. Mas tambem é certo que, se as propriedades dos corpos colloides não fossem conhecidas, a cellula nua, que vive isolada, constituiria mais um mysterio reputado impenetravel.

A funcção que a agua desempenha na constituição da cellula é capital. Como todos os corpos colloides, a materia proteica fórma com a agua hydratos gelatinosos.

Julio Sachs, comparando os poderes de absorpção para a agua do protoplasma e dos corpos colloides, acha ahi o criterio para distinguir as suas propriedades essenciaes. Os corpos organisados absorvem uma quantidade de agua limitada e saturam-se. Se absorverem mais passam ao estado colloide, perdendo a sua constituição intima, sem nunca mais a poderem recuperar. Os colloides, pelo contrario, misturam-se em todas as proporções com a agua, absorvendo-a indefinidamente sem perderem as suas propriedades.

Temos comtudo de notar, que estes ultimos corpos contêm a agua em dois estados: parte ligada por uma attracção especial ás suas moleculas; parte simplesmente interposta entre ellas.

A primeira tem um limite maximo dependente da natureza do corpo; a segunda não.

No protoplasma tambem a quantidade de agua retida pelas forças moleculares deve ter um limite determinado. Portanto a differença entre as duas classes de corpos reside em que a agua contida por interposição influe na constituição da materia viva, emquanto que não altera os corpos colloides.

Ora a agua de interposição não actua molecularmente, actua de um modo mechanico pela sua massa. Esta acção tem de produzir-se sobre uma outra massa. Conclue-se, pois, que no protoplasma as moleculas se dispõem, dando-lhe uma organisação interna. A massa protoplasmica tem uma estructura determinada; os corpos colloides pelo contrario são amorphos, as suas moleculas dispõem-se irregularmente.

Chegamos assim a uma conclusão, que tinhamos previsto no principio d'este paragrapho. Já Hugo de Mohl dizia que não é o apparente estado homogeneo e amorpho do protoplasma indicio sufficiente, para que lhe neguemos uma estructura complicada. A amplificação devida ao microscopio parecia-lhe impotente, para mostrar as delicadas disposições moleculares que previa.

Nestes ultimos annos os trabalhos de Bütschli, Strasburger, Heitzmann, etc., confirmaram as idêas de Mohl, verificando em muitos casos a estructura complexa do protoplasma.

Heitzmann concluiu de observações feitas sobre as amoebas e os globulos de sangue de animaes diversos, que o protoplasma possue uma estructura recticulada, sendo formado por granulações de uma substancia viva e contractil, reunidas entre si por filamentos delicados da mesma substancia, entre cujas malhas existe uma materia fluida não contractil. Pouco depois verificou a existencia muito geral d'esta disposição em rede.

Pelo seu lado Strasburger fez observações analogas nos vegetaes. O protoplasma do sacco embryonario da *Ephedra altissima* apresenta a estructura recticulada, logo que as cellulas, que ahi se produzem por formação livre, se cobrem de uma membrana. No *Phaseolus multiflorus* a disposição em rede apparece no sacco embryonario em seguida á fecundação. E como estes ha outros exemplos.

Em outros casos o protoplasma mostra-se dividido em grandes compartimentos polygonaes, cujas paredes são formadas por laminas delgadas de substancia proteica, mais ou menos nitidamente limitadas. Não se observa ahi directamente a estructura finamente recticulada, mas uma tal disposição presuppõe um arranjo interno diverso do das substancias amorphas. Encontram-se por vezes, adherentes ás laminas plasmaticas, numerosos granulos amylaceos.

Em outras circumstancias nenhum dos observadores citados pôde notar estructura alguma no protoplasma. Não se segue por isso que ella não exista; é mais provavel até que a falta resida nos meios de observação, o que de certo modo se comprova pelo facto seguinte. Estudando a producção dos sporos nas *Saprolegnias*, Strasburger notou que o protoplasma dos sporangios apresentava, com uma distribuição uniforme, a apparencia de uma substancia amorpha; mas as granulações affectavam em geral uma disposição recticulada. Ora, as granulações acham-se contidas na massa protoplasmica, de modo que os pontos, que esta occupa, são indicados pela disposição das primeiras. Sob aquella apparencia de estado amorpho deve pois existir uma estructura recticulada. E o que suspeitamos neste caso é de suppôr, pela communidade de caracteres de todos os protoplasmas, que se verifique constantemente.

A estructura complicada do protoplasma revela-se ainda nos phenomenos que experimenta o nucleo na divisão cellular. Os modernos estudos sobre esta funcção da cellula mostram que o nucleo (cuja natureza é protoplasmica) se modifica, tomando uma fórma alongada, em cujos dois polos accumula parte da sua substancia, ficando as duas porções ligadas por filamentos tenuissimos. Quando tractarmos da divisão veremos os phenomenos de movimento e differenciação que ahi se produzem, e que exigem, como funcções, uma complicação de estructura coherente com a que dá origem áquella distribuição da substancia nuclear.

Do conhecimento de todos os factos d'esta ordem resultou a *theoria plastidular*. O primeiro producto da aggregação das moleculas proteicas não é o protoplasma, é a *plastidula*, filamento tenuissimo, cujos variados agrupamentos com outros semelhantes construem a materia viva.

As plastidulas, segundo Haeckel, são as componentes elementares das moneras, dotadas de movimentos vibratorios e ondulatorios, das propriedades physicas das moleculas materiaes, e emfim de uma propriedade vital, a *memoria*, em virtude da qual conservam o seu movimento proprio.

Nesta theoria distinguiremos o facto da hypothese. Da existencia dos filamentos não é licito duvidar, admittem-na os mais habeis observadores. Mas desempenharão as plastidulas as funcções que se lhes attribuem? Não póde demonstrar-se, mas tambem não repugna á razão que assim seja. Pelo contrario, acceitamos temporariamente a theoria, porque as funcções do protoplasma só com este auxilio podem começar a perder a sua obscuridade.

A formação dos filamentos no seio do protoplasma está em harmonia com as idêas hoje mais generalisadas sobre as proprie-

dades das moleculas dos corpos organisados. Quando um grão de amido, uma membrana cellular, um cristalloide absorvem agua, as suas dimensões modificam-se desegualmente em direcções diversas. Os cristalloides, por exemplo, soffrem uma modificação nos seus angulos diedros, facto que, segundo Sachs, só se explica admittindo que «as forças moleculares, que actuam no interior das substancias organisadas, têm intensidades differentes em diversas direcções, o que leva a suppôr que a fórma da molecula não é espherica.»

Com a luz polarisada os cristalloides assemelham-se completamente aos cristaes pelo modo como se comportam. As membranas cellulares e os grãos de amido indicam, nas mesmas circumstancias, que a sua estructura interna é cristallina. Naegeli e Schwendener admittem dois eixos opticos nas moleculas d'estes corpos, attribuindo-lhes uma posição, em cada um d'elles, relacionada com as suas propriedades. Nos cristalloides devem ellas estar dispostas como em um verdadeiro cristal.

O protoplasma e os corpos chlorophyllinos não se prestam a observações d'esta natureza; mas como o phenomeno se verifica tanto em compostos do carbono, oxygeno e hydrogeno, como nos azotados proteicos que formam os cristalloides, Naegeli entendeu dever generalisal-o, e, aproximando-o da existencia constante da agua nos corpos organisados, formulou a sua theoria sobre a estructura molecular d'estas substancias. A todas suppoz formadas por moleculas cristallinas birefrangentes, sendo cada uma involvida por uma camada aquosa, cuja espessura varía em sentido opposto ás variações de volume da molecula.

A molecula protoplasmica, se não possue a fórma cristallina, deve pelo menos tender a affectal-a; nem d'outro modo se comprehende a formação do cristalloide. E sendo assim, deve actuar

com energias differentes em direcções diversas, isto é, manifestar uma polaridade determinada. Ora, durante a formação e a divisão cellulares, o protoplasma mostra na maioria dos casos uma disposição radiante em torno do nucleo, parecendo que as suas particulas se agrupam para formarem os raios d'uma esphera, como se obedecessem a uma força repulsiva ou attractiva. Strasburger, referindo-se a este phenomeno, diz: «De que natureza são as forças que assim manifestam a sua actividade? Não ouso formular uma hypothese a este respeito. São com certeza forças moleculares, mas no estado actual da sciencia ainda nos faltam os dados necessarios para as comprehendermos. A disposição radiante da massa de protoplasma em torno do nucleo falla, por outro lado, a favor de uma polaridade das moleculas protoplasmicas, opinião que se concilia muito bem com a hypothese de Naegeli, sobre a estructura molecular das substancias organisadas.»

Posto isto, é natural suppôr que a polaridade, de que são dotadas as moleculas, determine o seu agrupamento regular, quando se attrahem reciprocamente através das camadas aquosas involventes.

O producto de uma tal disposição será para o protoplasma o *filamento*, cuja existencia está verificada, e, mais geralmente, a *plastidula*.

Apontaremos ainda uma observação de Strasburger, que parece confirmar o que dizemos. Notando a distribuição radiante do protoplasma na vesicula embryonaria da *Picea vulgaris*, observou que os seus compartimentos se alongavam no sentido dos raios, facto que se comprehende bem como a consequencia da polaridade que preside aos agrupamentos moleculares.

A theoria plastidular dá a razão do phenomeno a que a prin-

cipio nos referimos, a formação dos vacuolos pela acção da agua. Hugo de Mohl observou os effeitos da entrada da agua nas fitas de chlorophylla do *Zignema nitidum:* incham irregularmente e emittem vesiculas incolores, cheias de liquido, formadas por uma materia mucilaginosa homogenea.

Como se produz esta acção da agua? Hugo de Mohl diz: «É claro que a endosmose não é aqui determinada por um conteúdo fluido, que se mistura com a agua introduzida, e fica separado d'ella por uma membrana; mas por uma substancia solida, insoluvel na agua, dotada da propriedade de formar, pela absorpção d'este liquido, vacuolos onde depois o recebe, e de determinar por si mesma a endosmose sem a intervenção d'uma membrana extranha.» E mais adeante: «a substancia interior, até então homogenea, transforma-se em uma materia, por assim dizer, espumosa, como acontece frequentemente com o protoplasma do conteúdo cellular.»

Vê-se que a formação dos vacuolos não foi ainda explicada, e que no protoplasma da cellula viva são originados por uma causa analoga á que os produziu artificialmente na experiencia.

Admittida a estructura recticulada, é evidente que a accumulação de agua em um ponto da massa protoplasmica produzirá nas malhas da sua rede uma ruptura, cujas dimensões devem augmentar á medida que a crescente quantidade do liquido exercer uma pressão maior sobre as malhas delicadas que o cercarem. Estas dispõem-se em torno da massa liquida, tomando a fórma regular mais propria para resistir á pressão.

Observou Strasburger que, se o protoplasma está dividido em compartimentos polygonaes, as paredes dos que estão contiguos ao liquido affectam a fórma de uma membrana contínua, com uma curvatura regular, que contrasta com os angulos formados

entre si pelas paredes dos compartimentos restantes. Notou, além d'isto, que ella tem um contorno mais nitido, de modo que o vacuolo parece estar involvido por uma camada membranosa propria.

O mesmo deve acontecer com o protoplasma recticulado. O liquido interposto cercar-se-ha d'uma membrana formada pelas paredes das malhas contiguas.

Os vacuolos distinguem-se, pois, dos compartimentos pela fórma e nitidez da sua membrana. Eis a razão, segundo o auctor citado: tanto os compartimentos, como os vacuolos, contêm um liquido interior; mas o dos primeiros é sensivelmente menos aquoso do que o dos segundos. «Por isso ha pouca cohesão e uma separação nitida entre o plasma e o conteúdo dos vacuolos, que por conseguinte são arredondados, emquanto que o contorno interior dos compartimentos não se destaca em geral tão completamente do seu conteúdo.»

Comtudo, e apesar d'esta differença, elles têm, como se vê, uma origem commum. Divergem em alguns caracteres accidentaes, dependentes da composição do liquido interior. Nós só comparamos dois estados extremos. Strasburger diz que entre estes encontrou estados intermediarios, que estabelecem uma transição nos seus caracteres, o que confirma plenamente tudo o que temos dito sobre a verdadeira natureza e origem dos vacuolos.

Aqui temos, pois, como a theoria plastidular, baseando-se na observação, se confirma não só pelas propriedades, que phenomenos de diversas ordens nos obrigam a attribuir ás moleculas proteicas, mas porque só ella explica um caracter geral do protoplasma: a faculdade de experimentar distribuições variadas na cellula.

III

Quando se examina uma cellula ao microscopio, o protoplasma não offerece em geral uma apparencia homogenea. Pelo contrario, contém quasi sempre pequenas granulações escuras, cuja natureza não está bem conhecida.

H. de Mohl cita um caso, em que, tractadas pelo iodo, tomaram a côr amarella, o que lhe fez suppôr que eram azotadas. Mas, como as suas dimensões são pequenissimas, é impossivel ter uma completa certeza das reacções que se effectuam. O que parece mais bem averiguado é que as granulações são constituidas por substancias gordas, ou outros corpos ternarios quaesquer: com effeito «entre os granulos mais pequenos e os maiores, nos quaes se reconhecem nitidamente os caracteres da materia gorda e do amido, ha todas as transições possiveis», diz J. Sachs.

Comtudo nas bacterias, além das granulações d'esta natureza, existem por vezes algumas, que são formadas por enxofre cristallino, pois que offerecem as suas reacções e são birefrangentes com a luz polarisada. Como as reacções do enxofre são bastante caracteristicas, é de crer que as causas d'erro tenham aqui desapparecido em parte.

Por isto se vê como variam os caracteres das granulações.

Quanto á sua origem, não é possivel estabelecel-a nitidamente. As que são formadas por uma substancia ternaria tanto podem attribuir-se a um facto de desassimilação, como a outro de synthese, e o mesmo se prevê com relação ás azotadas, se é que existem. As granulações cristallinas de enxofre, que appa-

recem em casos muito particulares, dependem de uma reducção operada sobre compostos d'esta substancia, absorvidos pela cellula; póde por conseguinte o seu apparecimento relacionar-se immediatamente com os phenomenos nutritivos.

Em qualquer d'estes casos as granulações dependem sempre da actividade do protoplasma.

Entre todas as substancias differenciadas ou elaboradas pela materia viva são ellas as que primeiro e mais universalmente apparecem; por isso devem considerar-se o signal mais evidente e constante do seu trabalho chimico. Basta dizer que o seu numero augmenta com a actividade da cellula.

Mas, além das granulações, o protoplasma contém ainda no estado de dissolução, como o demonstram as suas funcções chimicas, corpos azotados, substancias ternarias e uma pequena quantidade de materias mineraes. Todas estas substancias são indispensaveis para a vida da cellula, e, posto que não possam ser directamente observadas, deve prever-se a sua existencia, attendendo-se a que em certos casos o protoplasma é completamente homogeneo, hyalino e desprovido de granulações. J. Sachs refere um exemplo, em que as substancias contidas no protoplasma ora se condensam em granulos, ora se dissolvem de novo, passando repetidas vezes por estes dois estados de transição.

Como é certo que o protoplasma não póde viver sem estar associado a todos estes principios, pretendem alguns physiologistas que a materia viva é uma mistura complexa de substancias quaternarias, ternarias e corpos mineraes, que tanto podem ser colloides como cristalloides, ligadas estreitamente entre si. Entre outros pensam d'esta maneira Cl. Bernard e Robin.

Eis como a este respeito se exprime J. Sachs: «Todos os corpos protoplasmicos estão reunidos provavelmente por uma

substancia fundamental incolor, homogenea, desprovida de granulos visiveis. A ella só convem talvez o nome de protoplasma.»

Julgamos que é de necessidade estabelecer com precisão a individualidade do protoplasma. Esta substancia ficou caracterisada physicamente desde o momento em que lhe foi reconhecida a sua estructura recticulada. Então ella apparece como uma entidade especial, cuja organisação é a base da organisação da cellula. Os outros principios que esta contém contribuem para a vida do protoplasma, nada mais: são indispensaveis, porque elle não póde mostrar-se activo, sem materiaes proprios para exercer essa actividade, isto é, sem um meio em que se desinvolva.

É digna de notar-se a conclusão constante, que todos os observadores deduzem do estudo chimico do protoplasma, attribuindo-lhe invariavelmente uma natureza proteica. É coagulado pelo alcool e pelos acidos mineraes, tornando-se duro e resistente; a tinctura alcoolica de iodo coagula-o, dando-lhe a côr amarella; córa-se de amarello quando, depois de tractado pelo acido azotico e pela agua, é mergulhado no ammoniaco ou na potassa; este alkali e por vezes o ammoniaco dissolvem-no, se a sua acção se prolonga durante um certo tempo; o acido sulphurico concentrado dá-lhe uma côr de rosa avermelhada, até que o dissolve. São estas as reacções das materias albuminoides.

Finalmente um grupo particular de corpos, as materias córantes, caracterisam-no como substancia viva. O protoplasma raras vezes as absorve, emquanto conserva a sua actividade. O iodo córa-o de amarello só depois d'elle ser morto pelo alcool, ou por outro qualquer reagente. O mesmo se dá com as substancias córantes vegetaes; para que se fixem no protoplasma é necessario que elle tenha deixado de viver. Mas então são absorvidas tão energicamente, que a materia proteica as fica contendo em

maior proporção, do que aquella em que existiam na dissolução primitiva. Esta propriedade do protoplasma verifica-se nas cellulas que contêm vesiculas córadas, onde a materia córante existe no succo interno, emquanto que o protoplasma involvente é incolor.

Comtudo devemos mencionar algumas excepções. O protoplasma de certas cryptogamicas absorve directamente as materias córantes: Seynes, que observou isto no *Penicillium glaucum*, entende que é por um tal processo que muitas bacterias de côr vermelha, amarella, alaranjada, etc., fixam a materia córante das cellulas em que vivem, como parasitas. Além d'isto, em todos os vegetaes verdes, a chlorophylla, que lhes dá esta côr, está fixa no protoplasma; e o mesmo parece que se dá com alguns pigmentos vermelhos ou azues que a acompanham.

Portanto o protoplasma vivo não tem uma absoluta impossibilidade de absorver os corpos córados; mas raras vezes o faz. Pelo contrario, quando está morto, absorve-os com grande energia. Mas então deixa de ser protoplasma, para simplesmente constituir um corpo proteico; e se notarmos que ao mesmo tempo abandona a sua estructura especial, para revestir o caracter amorpho dos colloides, facil nos será concluir que na mistura complexa de corpos que existem na substancia mucilaginosa da cellula, um só, distincto de todos os outros pela sua organisação e pelas suas extranhas propriedades osmoticas em relação aos corpos córantes, póde resumir em si os caracteres necessarios para a manifestação da vida.

Pondo de parte as substancias córantes, nota-se que todos os outros corpos, que penetram na cellula em dissolução na agua, o fazem segundo as leis simples da osmose e da diffusão. É o que

se deduz com toda a evidencia dos trabalhos de Dehérain sobre a assimilação das substancias mineraes pelas plantas.

Veremos, quando tractarmos dos phenomenos de nutrição, que unicamente os corpos cristalloides são absorvidos pelo protoplasma. Por conseguinte, as acções chimicas que ahi se produzem, cuja resultante final é a formação e crescimento de todas as partes da cellula, acham-se ligadas á seguinte condição: *as substancias absorvidas diffundem-se no protoplasma, como os cristalloides se diffundem nos colloides.* E como os primeiros são dotados de um grande poder de diffusão, segue-se que, se em um ponto do protoplasma o seu equilibrio molecular for momentaneamente destruido, voltará logo depois ás suas primitivas condições. D'aqui resulta que a actividade d'aquella substancia tem a possibilidade de se exercer constantemente, pela constante renovação do meio.

Isto que dizemos exprime as condições mecanicas do trabalho interno da materia viva, dadas as quaes ella póde edificar a cellula.

Diz-se vulgarmente que as partes componentes da cellula procedem de uma differenciação do protoplasma. Com certeza não deve isto interpretar-se, admittindo que o protoplasma as produz a todas por uma modificação ou desdobramento molecular. Seria arvorar em theoria o que não é mais do que a expressão da dependencia que se dá entre a existencia de cada uma d'ellas e a d'aquella substancia.

Todas, por um processo chimico qualquer, de que agora não temos que occupar-nos, são geradas no seio da massa protoplasmica, e ahi crescem e se desinvolvem por uma acção intima de *intussuscepção.* Ás primeira moleculas formadas, que ficam involvidas pela substancia plasmatica, associam-se outras de nova

formação; e, ao passo que se agrupam em um todo organisado, continuam nos espaços intermoleculares a depositar-se novas particulas, resultantes das materias dissolvidas no plasma intersticial.

Evidentemente a condição physica da intussuscepção reside não só na semifluidez do protoplasma, como na propriedade, commum a todos os corpos organisados, de terem as suas moleculas involvidas em espheras aquosas.

Com relação ao protoplasma este modo de crescimento, além de concordar com o seu estado physico, harmonisa-se com a mobilidade que o distingue. Tanto o protoplasma das cellulas nuas, como o das que são revestidas por uma membrana cellulosica podem effectuar movimentos internos, já sob a fórma de correntes, já de deslocações irregulares de parte da sua massa, de uns para outros pontos da cellula. Quando não existe a membrana exterior, os movimentos determinam frequentemente a translação do pequeno organismo; os myxomicetos, que são formados por uma massa de protoplasma nu, caminham sobre os corpos solidos em que se apoiam, por meio de prolongamentos da sua substancia, que emittem em todas as direcções. Por isso as particulas plasmicas acham-se nas condições de mobilidade mais proprias para que entre ellas se introduzam novas particulas semelhantes. Demais, é sufficiente observar que os principios assimilaveis resultam sempre da elaboração que experimentam os elementos nutritivos introduzidos na cellula, para se concluir que a incorporação dos primeiros no protoplasma se não póde fazer por uma addição exterior.

Relativamente a cada uma das formações a que o protoplasma dá origem, veremos que só a propriedade da intussuscepção nos habilita a explicar as particularidades que se observam no crescimento e estructura das que têm uma organisação propria.

Antes de entrarmos no seu estudo mencionemol-as e digamos que especie de funcções desempenham na cellula.

Podem dividir-se em tres categorias: 1.ª—formações, cujo fim é contribuir directamente para a construcção da cellula—; 2.ª—substancias dotadas d'uma actividade determinada, agentes do protoplasma na sua elaboração chimica interior—; 3.ª—productos que ulteriormente são utilisados como elementos nutritivos, ou exercem funcções particulares, desconhecidas em certos casos.

Ao primeiro grupo pertencem—a camada membranosa, o nucleo e a membrana cellular—; ao segundo—os fermentos soluveis e a chlorophylla—; ao terceiro—os cristalloides, a aleurona o amido, a inulina, os assucares, os acidos, as materias córantes, etc.

Costuma mencionar-se tambem o succo cellular, nome dado ao liquido que enche os vacuolos do protoplasma.

A composição do succo cellular tem por base a agua absorvida pela cellula no meio exterior. Durante a sua primeira edade, o protoplasma enche completamente a cavidade cellular, involvendo quasi sempre um grande nucleo central; pouco depois a agua entra gradualmente, enchendo-o de pequenos vacuolos que vão crescendo até que se transformam em uma grande cavidade, ficando a massa peripherica do protoplasma ligada por cordões da mesma natureza á massa central que involve o nucleo. Como já tinhamos dito, acontece naturalmente na cellula o mesmo que póde realisar-se por um processo artificial.

Ora o liquido introduzido arrasta comsigo substancias em dissolução, que atravessam a membrana e a massa protoplasmica. Por outro lado absorve diversos principios soluveis, devidos ás acções chimicas da materia viva, Por isso o succo cellular é não só um vehiculo para os elementos nutritivos e para as substancias

desnecessarias á cellula, como um reservatorio para os principios soluveis de que ella carece. Portanto, sob este ponto de vista não nos referiremos especialmente a elle, mas sim, quando isso se tornar necessario, ás substancias que desejarmos mencionar.

Demais, o succo cellular está em continuidade com todas as camadas liquidas, que involvem as moleculas das formações organisadas da cellula. Vimos já as relações que o prendem ao liquido dos compartimentos do protoplasma. Finalmente contribue, por uma pressão hydrostatica exercida sobre a parede cellular, para manter inalteravel a fórma da cellula. Concluimos d'aqui que elle deve ser considerado de preferencia como representante do meio liquido em que vivem todas as cellulas, e não como uma formação caracterisada pela sua composição chimica.

CAPITULO II

Summario: I Camada membranosa. — II Nucleo. — III Membrana cellular.

I

Vimos que, comparando duas fórmas extremas, a parede dos vacuolos se distingue da dos compartimentos do protoplasma pela sua nitidez e regularidade. A origem d'estes dois caracteres reside na maior proporção d'agua, que em relação ao liquido dos compartimentos contém o succo cellular. Se isto tem logar no interior do protoplasma, com maior razão deve dar-se na massa peripherica, onde o contacto com o ar ou com a agua gera uma grande dessemelhança de condições. O protoplasma differencia-se, tornando-se mais denso em toda a superficie, e produz uma membrana nitidamente limitada que o involve. H. de Mohl, que a descobriu, chamou-lhe «utriculo primordial», porque suppoz (o que depois os factos não justificaram) que principalmente ao seu desinvolvimento estava ligada a divisão cellular. Hoje muitos botanicos a designam pelo nome de «camada membranosa», que preferimos ao primeiro.

Em virtude da sua tenuidade é difficil observal-a; mas, con-

trahindo o protoplasma, consegue-se vel-a muitas vezes, no momento em que se separa da membrana cellular, sob a fórma de uma camada hyalina tenuissima, encostada á parte granulosa.

Os trabalhos de Mohl levaram-no a concluir que a camada membranosa existe constantemente, quer nas cellulas nuas, quer nas que são revestidas pela membrana cellular. Actualmente ha quem supponha ainda que a sua existencia póde depender da edade da cellula, ou pelo menos que só é possivel observal-a num periodo avançado da vida da cellula.

Por outro lado no extenso trabalho de Strasburger, sobre a formação e divisão cellulares, este auctor verifica a sua existencia em todos os casos.

Numa questão d'esta ordem tornam-se necessarias as observações mais precisas e minuciosas, o que nem sempre se tem dado com todos os experimentadores. Para não nos demorarmos sobre este ponto, diremos que os factos mais bem estudados mostram que a camada membranosa existe geralmente.

Ha porém uma excepção, a *Protamoeba primitiva,* organismo rudimentar, onde Haeckel mostrou que não se dá uma differenciação de tal natureza.

A composição chimica da camada membranosa não é bem conhecida.

Harting achou que nas cellulas novas ella contém sempre protéina; notou comtudo que esta substancia existe em menor proporção na camada membranosa das cellulas de edade mais avançada, deixando até de se encontrar em alguns casos. Negou-lhe por isso a sua natureza proteica, opinião com que concorda H. de Mohl. Os trabalhos modernos levam a uma conclusão opposta, por quanto todos os botanicos a suppõem formada por uma substancia albuminoide.

Não está bem assente a relação que existe entre a sua constituição e a do protoplasma. Sachs entende que ella nada mais é do que o protoplasma hyalino, que pela sua homogeneidade se distingue da parte granulosa contigua, o que a seu ver é confirmado pelo que se passa durante os movimentos amiboides das plasmodias, cujos prolongamentos são a principio constituidos unicamente pela camada membranosa e só depois de crescerem apresentam as granulações, indicando assim a sua natureza proteica. Strasburger discorda d'esta opinião: a substancia da camada membranosa póde ser formada pelo protoplasma granuloso ou estar contida na sua massa, mas não é identica com o protoplasma hyalino. Assim, quando o protoplasma é ferido, tem a faculdade de se cobrir immediatamente de uma camada d'aquella natureza, facto que lhe parece inexplicavel na hypothese anterior e o faz admittir que o protoplasma segrega uma substancia especial.

Ora, como a camada membranosa é originada por uma differença de condições a que se acha sujeita a superficie do protoplasma, relativamente á parte interna, a hypothese de Strasburger é superflua e a de Sachs incompleta.

Vejamos. O protoplasma hyalino tem a propriedade de revestir uma fórma limitada e regular em presença da agua, como acontece nos vacuolos; mas os factos que passamos a referir mostram que na camada membranosa ha uma differenciação de ordem superior.

H. de Mohl notou que não só as suas duas faces estão bem limitadas, mas que nos esporos a face externa resiste de tal modo á entrada da agua, que só é desaggregada quando o liquido penetra no interior da cellula por uma fenda e a ataca interiormente. A camada membranosa póde apresentar estrias e bastonetes ra-

diaes, que indicam uma desegual distribuição da sua substancia em diversos pontos de um plano parallelo ao plano tangente. Finalmente é á sua superficie que se inserem as celhas vibrateis dos zoosporos e de outras cellulas moveis, havendo por vezes no ponto de inserção uma pequena nodosidade mais refrangente do que o resto da camada.

Tudo isto é indicio seguro de uma estructura mais complicada do que a do protoplasma, e um dos principaes caracteres, por que ella se distingue.

A uma tal diversidade de estructura deve corresponder uma alteração molecular; ainda que a acção do meio seja a causa da differenciação, esta é sempre a consequencia immediata de alguma variação da molecula organica. A camada membranosa, que a principio tem uma constituição pouco differente da do protoplasma, affasta-se d'elle progressivamente, á medida que se complica a sua estructura. As proprias observações d'Harting mostram que a proporção de protéina encontrada na camada membranosa diminue com a edade da cellula.

A natureza d'esta alteração é desconhecida; não póde attribuir-se a uma destruição do protoplasma, porque a camada membranosa desempenha funcções, em face das quaes deve ser considerada um orgão activo: sirva de exemplo a sua intervenção na formação da membrana cellular. Portanto devemos limitar-nos a suppôr, que o protoplasma peripherico se modifica progressivamente, de modo a tornar-se menos sensivel aos reagentes chimicos, experimentando talvez uma condensação, determinada pelo decrescimento do poder de attracção para a agua. É sabido que nas cellulas velhas o protoplasma não manifesta tão claramente como nas novas os seus caracteres chimicos, o que o mostra apto para ser alterado como dizemos.

Considerada d'esta maneira, a camada membranosa é um orgão protoplasmico; por conseguinte muitas vezes deixaremos de a mencionar, referindo-nos por commodidade de exposição ao protoplasma peripherico.

Apezar da sua estructura, a camada membranosa conserva uma fluidez interior, que, além de outros caracteres, a distingue da membrana cellular; por isso acompanha todas as variações que se succedem na fórma do protoplasma. Acontece muitas vezes que os zoosporos se dividem, por uma acção mechanica externa, em duas metades que continuam a viver separadamente, ligando-se entre si os bordos da fenda da camada membranosa. Com a membrana cellular nunca acontece o mesmo.

Esta fluidez, que facilita a fusão, é comtudo limitada, porque a camada membranosa não effectua movimentos como o protoplasma. Conserva-se immovel, emquanto que elle circula.

O seu crescimento faz-se por intussuscepção; com effeito ella cresce tanto em extensão, como por vezes em espessura, acompanhando o augmento de volume da cellula, e isto não póde explicar-se senão pela interposição de novas moleculas entre as que precedentemente se haviam formado. Demais a sua natureza chimica, assim como os outros caracteres que temos apontado, habilitam-nos a attribuir-lhe uma propriedade analoga á que se verifica no protoplasma.

Em muitos casos, tractando uma cellula por uma dissolução de assucar ou qualquer outro reagente neutro com attracção para a agua, a camada membranosa contrahe-se, affastando-se da parede cellular e perdendo a estructura radiante de estrias ou bastonetes. Isto demonstra não só que a agua involve todas as suas moleculas, mas que a differenciação em camadas de differente densidade depende da proporção d'este liquido. Deviamos pre-

vel-o pelo que já dissemos da theoria de Naegeli: a associação das moleculas organicas produz agrupamentos de grande ou pequena extensão, involtos os primeiros em camadas aquosas de pequena espessura, os segundos em camadas muito espessas. A aggregação dos agrupamentos semelhantes divide a camada membranosa em estratos radiaes, mais ou menos densos alternadamente, segundo contêm pequena proporção d'agua para uma grande quantidade de materia organica, ou vice-versa.

A razão por que os estratos se formam parece-nos ser a tendencia para a estabilidade, necessaria em um orgão protector, como o é a camada membranosa, e realisada por estructura regular e symetrica.

II

O nucleo é um producto da differenciação interna do protoplasma. Não podemos attribuir o seu apparecimento a causas tão simples, como as que produzem a camada membranosa. No seguimento d'este estudo veremos o que devemos pensar a este respeito.

O nucleo apresenta fórmas diversas; mas na grande generalidade dos casos é globular e contém granulações.

Harting attribuiu-lhe uma natureza chimica differente da do protoplasma. É certo, porém, que se lhe assemelha quasi totalmente nas suas reacções e que é formado por uma substancia muito analoga á d'elle. Mas, como veremos, o nucleo é especialmente destinado para desempenhar as funcções de reproducção,

o que, reunido á sua fórma bem caracterisada e a outras propriedades que o individualisam, faz prever que não deve ter uma composição chimica inteiramente identica á do protoplasma. Com effeito, o acido acetico, que dissolve este ultimo, não dissolve o nucleo; torna-o mais brilhante e dá-lhe contornos mais definidos. Strasburger observou que muitas vezes no logar onde deve apparecer o nucleo se agglomeram muitos grãos de amido, como se fosse necessario estabelecer uma differença chimica naquelle ponto da massa protoplasmica. Este facto é muito geral; dá-se na formação livre das cellulas, na divisão, na fecundação, etc.

O nucleo nem sempre existe nos vegetaes inferiores; mas observa-se constantemente nos vegetaes superiores, exceptuando os casos em que tem uma existencia transitoria, depois da qual se dissolve no protoplasma.

Até ha pouco tempo suppunha-se que cada cellula continha normalmente um só nucleo. Todavia já alguns botanicos tinham observado excepções a esta regra; conhecia-se mais do que um nucleo nas cellulas de algumas algas, nos grãos de pollen, em cellulas vegetativas das phanerogamicas, etc. Mas todos os factos d'esta ordem eram manifestamente anomalos e muitos d'elles correspondiam a um estado rudimentar de divisão. Pringsheim observou uma *Spirogyra jugalis* muito nova, que cresceu sem se dividir até adquirir o comprimento das plantas novas de cinco cellulas e que continha cinco nucleos a distancias normaes.

Ultimamente Treub concluiu do exame das fibras liberinas e dos laticiferos de muitas plantas, que ahi existem constantemente numerosos nucleos.

É importante, vel-o-hemos depois, uma tal descoberta, porque contribue para estreitar as relações que ligam entre si alguns dos processos de reproducção cellular.

Alguns botanicos têm attribuido ao nucleo uma natureza vesicular; no emtanto não só a observação directa vae contra semelhante hypothese, mas são incompativeis com ella os phenomenos que se observam durante a divisão cellular.

O nucleo das cellulas novas é sempre constituido por uma substancia homogenea, sem differenciação alguma, exceptuando as granulações. Depois soffre ordinariamente uma differenciação interna e produz um, dois ou muitos granulos volumosos, chamados nucleolos, cujas funcções são desconhecidas e talvez sem grande importancia; deixa-se penetrar pela agua, enche-se de vacuolos, tornando-se mais espessa e semelhante a uma camada membranosa a sua parte peripherica. Acontece até, segundo Weiss, que a sua substancia interna póde mover-se, produzindo uma circulação analoga á do protoplasma. Ao passo que isto se dá, o nucleo, vai perdendo a sua actividade; é neste estado, que tem sido observado mais commummente, e portanto não admira que alguns auctores, Trécul, Auerbach e outros, o tenham comparado a uma vesicula. Entretanto notaremos que nos zoosporangios, nos oosporos e zoosporos das *Saprolegniadas* não existe o nucleo, encontrando-se no logar que elle devia occupar uma pequena vesicula côr de rosa, cujas funcções desconhecidas Strasburger entende que podem ter algumas relações com as do nucleo.

O logar que este occupa depende com effeito principalmente da sua actividade propria; mas não é só a sua posição na cellula que o caracterisa, como veremos depois. Esta posição, que é central na maioria dos casos, durante o periodo de actividade do nucleo, póde variar muito quando posteriormente, tornando-se passivo, é arrastado pelos filamentos ligados á massa protoplasmica que o rodeia e vae occupar uma posição lateral, ou

soffre deslocações constantes, seguindo o movimento do protoplasma.

Pouco ou quasi nada se sabe, sobre o modo como elle se fórma no seio do protoplasma; a observação que a este respeito nos parece mais completa é uma de Strasburger, sobre a formação livre das cellulas no sacco embryonario do *Phaseolus multiflorus*. «Durante a sua evolução o nucleo apparece a principio como um simples ponto. Em torno d'este como centro desenha-se ao mesmo tempo uma zona transparente, que, apezar dos seus contornos delicados, affecta claramente a fórma de uma esphera.» «Os estados mais avançados d'esta formação provam que o contorno delicado de modo nenhum corresponde á peripheria de um nucleo espherico, nem o ponto central a um nucleolo. Vê-se, pelo contrario, o nucleo punctiforme crescer, augmentando ao mesmo tempo proporcionalmente a zona espherica de attracção que o cérca; muitas vezes se observa, que nesta ultima as partes do protoplasma tomam uma disposição manifestamente radiante.» «O contorno da esphera reveste pouco depois o aspecto de uma camada membranosa, notando-se, á medida que a cellula cresce, uma nova distribuição do conteúdo protoplasmico, que parece então recticulado.»

A maneira por que Strasburger se exprime não póde ser bem comprehendida sem o estudo previo da divisão cellular. Na experiencia referida o nucleo resulta da condensação do protoplasma sobre um ponto; a massa involvente toma uma fórma espherica, dispondo-se radialmente em torno d'elle, que parece actuar por forças attractivas e repulsivas eguaes em todas as direcções. Ora, em todos os phenomenos em que o nucleo manifesta a sua actividade e exerce uma acção preponderante sobre o protoplasma, que são os de genése cellular, nota-se sempre, e

com mais nitidez ainda, a mesma disposição radiante da substancia exterior. As funcções complicadas que desempenham durante a divisão cellular os dois nucleos das cellulas filhas accentuam melhor esta propriedade, porque não só exercem uma acção evidente sobre o protoplasma que os circumda, mas até em parte da substancia do nucleo primitivo, cujas particulas são umas attrahidas, outras repellidas. Inclusivamente entre elles mesmos parece que se dá uma acção d'esta ultima natureza. D'ahi a explicação da sua estructura complexa, a que já nos referimos, tractando do protoplasma.

Manifestando-se o nucleo em todas as suas acções, como um centro de forças attractivas e repulsivas, o seu modo de formação, interpretado pela experiencia de Strasburger, não só é coherente com os factos, mas a sua condição necessaria.

Dissemos já que são as funcções de genése cellular aquellas em que o nucleo tem uma acção preponderante sobre o protoplasma. Muitos negam-lhe esta importancia, entendendo que não é possivel distinguil-os physiologicamente um do outro. Effectivamente o nucleo vive, nutre-se, dá productos analogos aos do protoplasma, emfim é protoplasma tambem; demais não é indispensavel para a formação da cellula. Mas é certo que, como orgão activo, toda a sua evolução tem uma estreita e immediata relação com a genése cellular. Por isto elle em tal caso occupa o centro da cellula, posição de equilibrio que deve tomar em virtude da acção que exerce sobre a substancia que o circumda.

Dil-o-hemos desde já: o nucleo é um protoplasma especialisado em ordem a manifestar de preferencia as suas propriedades geneticas.

Faremos aqui a mesma observação que já fizemos no paragrapho precedente: referir-nos-hemos sempre ao protoplasma

em geral, mencionando o nucleo sómente quando isto se tornar necessario.

Não mencionamos a theoria plastidular em tudo o que dissemos da camada membranosa e do nucleo. Quanto a este ultimo, já lançámos mão da sua estructura para nos fundamentarmos, quando apresentámos a theoria; em relação á camada membranosa lembraremos que a differenciação da substancia que a fórma é um phenomeno de estructura, e por isso da natureza dos que produziram a theoria plastidular. Não vamos além d'isto, com quanto podessemos num campo especulativo imaginar para estes factos especiaes uma explicação, inutil pela falta de uma base experimental.

III

Além da camada membranosa, a maior parte das cellulas vegetaes possue um involucro mais externo, a membrana cellular, distincta chimica e physicamente das formações estudadas até aqui. A substancia que a constitue é a cellulosa, anhydrido dos alcooes polyglucosicos, em cuja fórmula—$n C^6 H^{10} O^5$—o valor de n, talvez egual ou superior a 4, é desconhecido. Segundo todas as probabilidades é o mais complexo entre os productos da condensação das glucosas, e mais que todos os outros manifesta uma tendencia para adquirir uma estructura organisada, ainda não revelada na dextrina, o primeiro anhydrido diglucosico, e caracteristica da materia amylacea, o primeiro anhydrido triglucosico.

Como o azoto não existe na sua molecula, tem uma estabili-

dade chimica incomparavelmente maior do que a dos compostos proteicos, e, ainda que dotada de grande attracção para a agua, possue uma mobilidade interior tão pequena, que o seu estado habitual é o estado solido. Comtudo póde algumas vezes apresentar o estado mucilaginoso.

Em breve teremos occasião de nos referirmos ás modificações que a composição chimica da membrana experimenta; entretanto é sufficiente deixar consignado, que, pelo menos durante um certo periodo da vida da cellula, é exclusivamente composta de cellulosa.

Como orgão protector, a membrana cellular resiste muito mais, do que a camada membranosa, a qualquer acção exterior, que tenda a modificar-lhe a fórma, ou a destruil-a mechanicamente. Não é dotada da mesma mobilidade interior, e por isso nem póde tornar a soldar-se no caso em que soffra uma ruptura, nem produzir celhas vibrateis. Distingue-se ainda, porque existe menos geralmente, do que a camada membranosa: commum a todos os vegetaes superiores, falta em alguns membros e até individuos inteiros do grupo das cryptogamicas.

Durante o crescimento da cellula é dotada de um crescimento correlativo em extensão, acompanhado, em um periodo mais ou menos avançado, de outro em espessura, affectando cada um já a totalidade, já uma parte da superficie da membrana.

O primeiro produz as variações nas dimensões e fórmas das cellulas, que podem ser esphericas, polyedricas, cylindricas, conicas, tabulares, estrelladas, e finalmente de fórmas muito irregulares. O segundo, correspondente á distribuição da massa em relação a um plano parallelo ao plano tangente, verifica-se tanto interior, como exteriormente. Se affecta a superficie total da membrana, determina unicamente o augmento da sua espes-

sura; se affecta partes limitadas da sua superficie, determina crescimentos parciaes da espessura, que exteriormente produzem tuberculos, espinhas, anneis, fitas espiraladas, redes, etc., e interiormente formações analogas e mais variadas. Notemos que, segundo a superficie interna que experimenta o crescimento é menor ou maior, do que a parte não modificada, os resultados são differentes. No primeiro caso são analogos aos que se verificam na parte externa: as proeminencias distinguem-se claramente do resto da superficie. No segundo são as partes menos espessas as que se observam, sob a fórma de pontuações, fendas, etc.; se é muito grande o augmento de espessura, a membrana fica atravessada por canaes, separados do meio exterior por um tenue dissipimento, que póde ainda ser absorvido, estabelecendo-se uma communicação do meio externo com o conteúdo cellular.

A substancia da membrana soffre uma differenciação, distribuindo-se em camadas de desegual densidade e dando logar a tres systemas de estratos, diversamente dispostos: 1.º, estratos parallelos á superficie tangencial; 2.º, estratos radiaes, que interceptam os primeiros, formando com elles um angulo egual, ou differente de 90°; 3.º, estratos radiaes cruzados com os dois systemas precedentes.

A observação d'estes systemas depende da quantidade de agua que a cellula contém. Desapparecem quando é maxima ou minima, exceptuando alguns casos, em que a differença de densidade é tão grande, que a subtracção da agua unicamente actua de um modo sensivel sobre os estratos menos densos e torna ainda mais clara a sua separação.

A camada membranosa não experimenta distribuições tão variadas da sua substancia, o que resulta da mobilidade das suas

moleculas, ao passo que a estabilidade das moleculas cellulosicas lhes permitte que se mantenham em equilibrio, realisando uma differenciação complicada.

A membrana cellular é devida á actividade do protoplasma, assim como muitas das granulações, que não têm uma natureza proteica.

Poderá considerar-se a substancia que a fórma, como produzida pela parte superficial do protoplasma sómente, ou por toda a sua massa? Não é possivel lançar mão de um criterio seguro em caso algum. A cellulosa não existe, segundo todas as probabilidades, no interior da cellula; mas é fóra de duvida, que as reacções, que antecedem a sua formação, se effectuam não só no protoplasma, mas tambem no nucleo, nos corpos chlorophyllinos, etc., o que mostra que todos estes orgãos cooperam para a sua producção. Quanto á transformação ultima, que dá a cellulosa, parece que só na peripheria do protoplasma póde verificar-se.

Admittiremos pois, que a membrana cellular resulta da acção da massa proteica superficial sobre uma substancia elaborada pela massa interior. Devemos, como o mais provavel, antever que esta substancia seja um corpo ternario complexo, derivado talvez da condensação das glucosas.

No caso que nos occupa é obvio que, referindo-nos á parte superficial do protoplasma, alludimos especialmente á camada membranosa.

Com effeito, é á superficie da camada membranosa que a membrana se fórma. Mohl attribuia ao «utriculo primordial» a propriedade exclusiva de ser o gerador da membrana cellular, mostrando que a antecede sempre no seu apparecimento, o que hoje é comprovado pelas experiencias mais exactas.

Para não repetirmos aqui todos os argumentos, que mostram

a dependencia d'estes dois orgãos, apontaremos sómente o facto seguinte. Naegeli observou em algumas cryptogamicas, que, fazendo contrahir a camada membranosa por meio de uma dissolução de assucar pouco concentrada, de modo que os movimentos do protoplasma não cessassem, o crescimento em espessura da membrana terminava, ao passo que a superficie da camada membranosa se cobria de uma nova camada cellulosica.

Se o que levamos dito não é uma mera hypothese, a existencia da membrana cellular só póde ser attribuida á acção do meio externo. A diversidade de condições, revelada em uma primeira differenciação proteica, gera outra differenciação mais profunda, em que á dessemelhança no estado physico se allia uma completa divergencia de constituição e propriedades chimicas.

Produzida a primeira camada cellulosica, o seu posterior desinvolvimento effectua-se por intussuscepção.

Supponhamos a membrana formada por um estrato unico; experimenta um crescimento, tanto em superficie, como em espessura, o que não é possivel attribuir-se senão á interposição de moleculas novas entre as preexistentes. Se estiver dividida em estratos concentricos de differente densidade, a distribuição da substancia explica-se, segundo a theoria de Naegeli, pela differenciação interna dos agrupamentos moleculares de diversas grandezas.

Hugo de Mohl que, em relação a um estrato isolado, admitte o crescimento por intussuscepção, nega-o no segundo caso apontado, suppondo que os novos estratos resultam de uma sobreposição successiva de camadas de fóra para dentro.

Não se comprehende por que razão haja de admittir-se a coexistencia dos dois modos de crescimento em uma só membrana. Sendo assim, dois estratos sobrepostos crescem individual-

mente por intussuscepção, achando-se ambos impregnados de um liquido, que conduz dissolvidos os materiaes para a sua formação. Os que se depositam no estrato exterior atravessam antecipadamente todo o estrato interno. Qual o motivo por que se não depositam entre os dois, formando um terceiro estrato intermediario?

Admittir que isto não possa ter logar é dar um caracter muito arbitrario á theoria da sobreposição.

Um dos argumentos dos defensores d'esta theoria, diz Millardet, é «a presença, na maior parte das paredes muito espessas, de linhas ordinariamente concentricas, que parecem indicar o ponto de contacto das differentes membranas, que as devem constituir.» Ora os estudos do mesmo auctor sobre o desinvolvimento em espessura das paredes cellulares mostraram, que estas podem ter estratificações muito irregulares, ser atravessadas por canaes não só radiaes, mas tambem parallelos ao plano tangente, e até obliquos, o que transforma completamente o plano de uma disposição concentrica.

Millardet observou ainda na parede cellular a formação de grandes lacunas, «cujo desinvolvimento mostra, que, na maxima parte dos casos, ou talvez sempre, são formações secundarias produzidas sobre os pontos menos densos dos tecidos, por uma especie de contracção, causada pela dessecação ou aggregação mais energica das moleculas nas partes mais densas, que as limitam.» A formação das lacunas effectua-se sómente depois differenciada a membrana em estratos; contêm a principio uma substancia dotada de propriedades physicas diversas das da cellulosa, mas que parece chimicamente identica, e finalmente transformam-se em verdadeiras cavidades, que ao microscopio são negras, como os canaliculos.

Estes factos dão uma prova bem convincente da differenciação interior operada na membrana.

Um outro obstaculo á theoria da sobreposição reside nas differentes densidades dos estratos contiguos. Em seguida a um estrato de grande densidade deve depositar-se outro mais aquoso e vice-versa, o que a experiencia não verifica, porquanto o estrato interno é sempre mais denso do que o immediato. Isto acha-se hoje comprovado pelas investigações mais exactas.

Finalmente só pela intussuscepção se póde comprehender a formação das protuberancias externas da membrana.

Comtudo, ainda que não deva considerar-se cada um dos estratos, como uma membrana independente, existem casos especiaes, em que parte das camadas se differenciam por tal modo das outras, que, em um certo periodo da vida da cellula, a membrana primitiva se acha dividida em dois ou mais involucros distinctos. Ao mesmo tempo as propriedades physicas e chimicas das camadas assim differenciadas tornam-se distinctas, e tanto, que alguns auctores affirmam que não é já a cellulosa a substancia que as constitue a todas.

Estas alterações podem comprehender-se nos tres casos seguintes: a *cuticularisação*, a *lenhificação* e a *transformação em mucilagem*.

A cuticularisação produz-se nas membranas, cuja funcção é sobretudo protectora, convertendo-se a camada externa em uma substancia muito elastica, impermeavel á agua e aos gazes. A lenhificação, propria das cellulas dos tecidos que constituem, póde dizer-se, o esqueleto do vegetal, torna a membrana mais dura, pouco extensivel e muito permeavel á agua, com augmento sensivel de volume. A transformação em mucilagem dá-se quando, apta para absorver grande quantidade d'agua, a membrana se

torna ao mesmo tempo gelatinosa, augmentando consideravelmente de volume.

É impossivel saber-se de um modo preciso que especie de alteração soffre a membrana em cada um d'estes casos. Alguns auctores, como H. de Mohl, entendem que a base commum de todas as membranas é a cellulosa, attribuindo aquellas propriedades, nos dois primeiros casos, á interposição, entre as moleculas d'este corpo, de outras de differentes substancias. Outros, como Frémy, sustentam que se dá uma verdadeira alteração na materia cellulosica primitiva, produzindo-se compostos isomericos, que ficam constituindo fundamentalmente a membrana.

Em todas as cellulas vegetaes novas a membrana é formada por cellulosa, apresentando todos os caracteres d'este corpo: dissolve-se no acido sulphurico concentrado; é insoluvel em todos os corpos neutros e nos alkalis, que se limitam a fazel-a inchar; dissolve-se, sem se alterar, no reagente de Schweizer, solução de oxido de cobre ammoniacal; córa-se de azul pela acção do acido sulphurico e do iodo, do chlorureto de zinco iodado e, por vezes, de uma simples solução iodada, etc.

Quasi todas estas propriedades deixam de verificar-se nas membranas, que offerecem as modificações apontadas.

A cellulosa cuticularisada, ou suberificada, propria das cellulas epidermicas ou suberosas, é insoluvel no acido sulphurico, soluvel na potassa, e torna-se amarella ou escura, quando tractada pelo iodo e o acido sulphurico. Comtudo se, antes de soffrer esta ultima acção, a membrana fôr tractada pela potassa ou por uma mistura de chlorato de potassio e acido sulphurico, manifesta depois com as preparações iodadas a côr azul propria da cellulosa.

Póde admittir-se neste caso a existencia de um isomero da

cellulosa, que affecta as suas propriedades, logo que seja submettido á acção dos reagentes indicados; mas é natural suppôr tambem, que a cellulosa não revela os seus caracteres, por se achar impregnada de uma substancia extranha, que se córa de amarello com o iodo e abandona a membrana, quando atacada pela potassa. É esta, já o dissemos, a opinião de Mohl, que a baseia, entre outras, na seguinte experiencia, repetida varias vezes em cellulas epidermicas de plantas diversas. Quando a acção da potassa é muito energica, observa-se ao microscopio uma exsudação de pequenas gotas de um liquido viscoso, que abandonam a camada cuticular, sem se misturarem com a solução alcalina, córando-se ao mesmo tempo de amarello pelo iodo. A substancia viscosa é, para aquelle auctor, a que se acha interposta entre as moleculas cellulosicas.

Antes da acção da potassa a membrana cuticularisada estendia-se continuamente sobre as cellulas epidermicas; depois, sendo tractada pelo acido sulphurico, apresentou estratos concentricos que não só se não estendiam sem interrupção sobre toda a epiderme, mas que se curvavam em frente do dissipimento que separava duas cellulas contiguas, constituindo parte das suas membranas. «Em geral, diz Mohl, nesta experiencia as cellulas da epiderme dilataram-se um pouco, e as *porções de cuticula* correspondentes separaram-se uma da outra mais ou menos completamente.» Em seguida as membranas manifestaram todas as reacções da cellulosa.

Em vista d'uma tal observação parece que, semelhantemente ao que se dá com as suas propriedades chimicas, a organisação propria da membrana foi desvanecida pela substancia interposta e se manifestou, logo que esta foi expulsa. Não se comprehende isto tão simplesmente, se se attribuir a cuticularisação á isome-

ria, caso em que tem de suppôr-se, que por meio dos reagentes chimicos é possivel alterar a estratificação de uma membrana, transformando a sua substancia fundamental em um isomero. Ora os reagentes podem tornar mais patente ou destruir a estratificação, mas nunca modifical-a.

Além da parede cuticularisada das cellulas epidermicas, existe uma camada muito tenue e mais externa, estendida continuamente sobre todas ellas; foi descoberta por Brogniart, que lhe deu o nome de *cuticula*. Na maior parte dos casos é impossivel encontrar nella vestigios de cellulosa, parecendo que a sua natureza diverge muito da d'esta substancia. Mostrou Frémy que ella contém uma substancia insoluvel no reagente de Schweizer e no acido sulphurico, que a torna amarella; analoga aos corpos gordos pela sua composição elementar, dá productos identicos, sendo tractada pelo acido azotico e pela potassa, que a saponifica. Affasta-se porém d'estes corpos, porque é insoluvel no ether e tem a propriedade de formar uma membrana organisada. Saponificada pela potassa, não dá, segundo este chimico, residuo algum insoluvel, e por isso admitte que ella constitue a base fundamental da cuticula, dando-lhe a designação de *cutina*. Sendo assim, deve considerar-se uma secreção especial do protoplasma; com effeito todos se inclinam mais ou menos para esta maneira de ver.

Notemos que isto presta um novo argumento a favor da opinião de Mohl sobre a cellulosa cuticularisada, porque neste caso é um facto constante a existencia da cellulosa, que fica constituindo a membrana, depois que a potassa lhe rouba a substancia que se suppõe impregnal-a. Na cuticula vemos o exemplo de um corpo excretado pelo protoplasma através da membrana; demais as acções, que sobre elle exercem o acido sulphurico e a potassa,

de algum modo o relacionam com as propriedades attribuidas áquella substancia.

A cellulosa lenhificada assemelha-se á cuticularisada em quasi todas as reacções que apontámos, mas já não é tão geral a acção da potassa; Hugo de Mohl verificou que, substituindo este reagente pelo acido azotico, a coloração azul com as soluções iodadas apparece quasi sempre. Em um pequeno numero de casos excepcionaes é preferivel a potassa; mas não é nosso intento expôr minuciosamente este assumpto, contentamo-nos com o que é essencial.

Basta por isso observar que é sempre possivel demonstrar a existencia da cellulosa, submettendo em geral á acção do acido azotico as membranas lenhificadas. A textura da membrana não soffre alteração, e além d'isto, segundo Mohl, a côr azul devida ao iodo torna-se mais fixa do que nos casos ordinarios, como se a cellulosa fosse então mais pura.

Em virtude de um grande numero de observações, que todas conduzem ao mesmo resultado, feitas sobre as cellulas da medulla, dos raios medullares, das camadas que cercam os fasciculos, sobre os diversos elementos prosenchimosos dos fasciculos lenhosos e liberinos, etc., Mohl concluiu que a cellulosa é a base de todas as suas membranas, cujos caracteres attribuiu á incrustação de materias extranhas.

Frémy impugnou estas idêas. Admittiu que as membranas chamadas lenhificadas são constituidas por diversos principios immediatos isomericos com a cellulosa: a medulla e os raios medullares pela *paracellulosa*, os vasos e as tracheas pela *vasculosa*, as fibras pela *fibrosa*.

A *paracellulosa* distingue-se da cellulosa pela sua insolubilidade no reagente de Schweizer; póde comtudo «sob influencias

variadas experimentar uma modificação isomerica e transformar-se em cellulosa immediatamente soluvel no reagente cuprico.» Esta modificação consiste, na opinião de Mohl, na perda da substancia que a impregna. Frémy não demonstra o contrario; tenta fazel-o nas seguintes linhas: «A impureza do corpo insoluvel no licor ammoniaco-cuprico não póde ser invocada para explicar as differenças de acção do reagente, porque a medulla convenientemente escolhida apresenta todos os caracteres de um principio immediato puro; não deixa pela calcinação senão quantidades insignificantes de cinzas, nem experimenta modificação alguma com os liquidos neutros que se empregam para purificar os principios immediatos.» Deve advertir-se que, se a substancia que impregna a cellulosa fôr um corpo ternario, não póde, quando calcinada, deixar um residuo. Quanto á sua solubilidade, é evidente que, se um liquido neutro a podesse dissolver, nunca ella faria parte da membrana vegetal, cuja existencia exige que a substancia, que a fórma, seja fixa em relação aos liquidos que mais probabilidades têm de se acharem em contacto com ella.

Frémy, depois de affirmar, no trabalho a que nos referimos, a divergencia de caracteres existente entre a cellulosa, a *fibrosa* e a *vasculosa*, dos quaes o principal é a insolubilidade d'estas duas ultimas substancias no reagente de Schweizer, publicou em collaboração com Terreil um trabalho posterior, em que mostra que podem tornar-se soluveis, pela acção do chloro ou outros agentes. Os dois chimicos deram por isso á *fibrosa* e á *vasculosa, quando já não contém uma substancia incrustada*, o nome commum de *materia cellulosica*, caracterisada pela propriedade de ser difficilmente atacada pela agua de chloro e o acido azotico, de desapparecer, quando pura, no acido sulphurico concentrado e de se dissolver no reagente cupro-ammoniacal.

Parece que Frémy é finalmente conduzido pelas suas proprias observações ás idêas de Mohl.

Aquelle chimico achou ainda em muitas cellulas vegetaes, principalmente nos fructos verdes e em algumas raizes, uma outra substancia, a *pectosa*, unida á cellulosa e como ella insoluvel nos liquidos neutros. Tractada pelo reagente cupro-ammoniacal fórma o pectato de cobre, emquanto que a cellulosa é dissolvida. Como não é possivel dissolver a *pectosa*, conservando intacto o resto da membrana, não póde verificar-se se esta substancia é acompanhada pela cellulosa.

Em conclusão, relativamente á causa da cuticularisação e da lenhificação da membrana, nenhuma das hypotheses, que temos apresentado, está sufficientemente justificada; achamos, porém, que é preferivel a opinião de Mohl á de Frémy.

É possivel ainda que haja um certo exclusivismo em ambos estes auctores e que, ao mesmo tempo que uma nova substancia se interpõe entre as moleculas cellulosicas, estas soffram uma pequena alteração isomerica.

Resta-nos fallar da terceira modificação da membrana, a transformação em mucilagem. Sob este estado é soluvel nos alkalis, insoluvel nos acidos, e nunca se córa de azul com as preparações iodadas, motivo pelo qual é impossivel relacional-a com a cellulosa por um processo analogo ao que temos seguido até aqui. Comtudo, num moderno trabalho sobre a fermentação cellulosica do assucar, Durin estabelece uma relação notavel entre estes dois estados da cellulosa. Mostrou com effeito que fazendo actuar a diastase, assim como um grande numero de fermentos soluveis, sobre o assucar cristallisavel, este se transforma em glucosa e outros productos, cuja composição e propriedades verificou serem identicas ás da cellulosa. Obtida por este

processo a cellulosa póde affectar dois estados: o de grumos organisados, esponjosos e absolutamente insoluveis na agua, e um estado amorpho e gelatinoso, analogo ao primeiro em muitas das suas propriedades chimicas, por exemplo, a de se dissolver no reagente de Schweizer.

A importancia d'estes resultados é grande não só para o estudo do trabalho chimico da cellula, mas para o caso especial que nos occupa. Na mesma experiencia a cellulosa póde obter-se no estado solido ou gelatinoso, e sob este ultimo estado é comparavel já com os involucros mucilaginosos das cellulas vegetaes. Durin aproximou a cellulosa obtida por fermentação da dos fucus e dos cogumelos: a primeira precipita pelo alcool, dando uma massa glutinosa, soluvel em parte no acido azotico monohydratado, e que nunca se córa de azul pelo iodo, mas conserva todos os outros caracteres da cellulosa.

Aquellas duas propriedades da materia glutinosa precipitada pelo alcool verificam-se tambem na cellulosa dos fucus e dos cogumelos.

O mesmo auctor cita um trabalho, sobre os lichens, de Koerber, o qual «verificou que o tecido d'estas plantas se compõe de uma gelêa amorpha, em que se acham espalhadas as cellulas, sendo a gelêa constituida por cellulosa.»

Uma das propriedades que melhor caracterisam a cellulosa no estado gelatinoso é a de absorver o carbonato de calcio em grande proporção. Durin compara-a a uma identica propriedade das substancias mucilaginosas dos tecidos das *Fucaceas*, a respeito das quaes diz J. Sachs: «Todas estas mucilagens parecem ter a faculdade de absorverem uma notavel quantidade de cal, que muitas vezes se deposita sob a fórma de oxalato de cal.»

Em todos os casos, em que as cellulas vegetaes se desinvol-

vem no seio de uma massa gelatinosa, a cellulosa, que na membrana affecta o estado solido, está constantemente em contacto com a que se acha convertida em mucilagem. É o que se dá com as cellulas das *Nostochineas*. Semelhantemente Durin verificou, que a producção dos grumos na fermentação cellulosica do assucar coincide com a da cellulosa que os involve. Parece, pois, que existe aqui uma analogia de condições.

Experimenta a cellulosa alguma modificação molecular quando affecta o estado mucilaginoso? É de suppôr que sim; mas pequena modificação deve ser essa, que lhe permitte experimentar a maior parte das transformações chimicas que a caracterisam no estado solido, entre as quaes podemos citar a producção do pyroxilo, pela acção de uma mistura dos acidos azotico e sulphurico.

Do que temos dito se conclue a grande possibilidade de relacionar em qualquer caso com a cellulosa a substancia que fórma a base da membrana; por conseguinte a producção da cellulosa é a condição essencial a attender no estudo da synthese d'este orgão protector.

A membrana cellular não exerce exclusivamente uma acção protectora. A par d'esta propriedade caracterisam-na as suas funcções osmoticas: é através da membrana que as substancias exteriores são introduzidas no interior da cellula. A pequenez dos seus poros intermoleculares de modo algum impede a constante troca de elementos entre o meio interno e o externo. Tudo leva a attribuir-lhe propriedades muito notaveis sob este ponto de vista, porque, além de funccionar simplesmente como membrana osmogenea, parece que favorece d'um modo excepcional o trans-

porte de substancias dissolvidas na agua. Dehérain verificou que nas fibras vegetaes embebidas em agua o transporte de certos corpos mineraes se faz com muito maior rapidez, do que sómente neste liquido.

Traube realisou artificialmente a formação de membranas osmogeneas, cujo crescimento se opera por intussuscepção; comparou-as ás das cellulas vegetaes. Referiremos a mais notavel das suas experiencias.

É sabido que os colloides, muito permeaveis para os corpos diffusiveis, se não deixam atravessar facilmente por outros colloides; d'aqui procede que, se um d'estes corpos for involvido por uma membrana de natureza analoga, não poderá atravessal-a senão em pequenissima proporção, emquanto que os elementos diffusiveis externos devem passar livremente para o seu interior. Traube levou isto a effeito. Na extremidade de uma vara de vidro, introduzida em gelatina tornada incoagulavel por uma ebullição prolongada, obtem uma gota d'esta substancia, que introduz, logo que começa a seccar, em uma solução de acido tannico. Á superficie do globulo fórma-se immediatamente uma camada contínua de tannato de gelatina, através da qual se produz uma corrente osmotica do liquido exterior para a gelatina contida na membrana. O augmento de volume do liquido interno determina um augmento de pressão que, reagindo sobre a camada de tannato de gelatina, a obriga a distender-se; os espaços intermoleculares tornam-se maiores, e as moleculas de acido tannico e gelatina, que os vão percorrendo, combinam-se, produzem novas moleculas do composto, que, introduzindo-se nos poros da membrana, a fazem crescer em extensão. Em uma das experiencias a gota de gelatina tinha 14,5 millimetros de diametro e 1,79 grammas de peso; foi mergulhada em uma solução

de tannino a 1,4 por 100. Decorridos treze dias media já 22 millim. e pesava 6,5 gr.

Dois factos importantes se verificam nesta experiencia. Em primeiro logar, a osmose effectua-se através de uma membrana perfeitamente unida; bastam para isso os poros intermoleculares: é o caso exacto da membrana da cellula vegetal. Em segundo logar, o crescimento da membrana produz-se pelo deposito, entre as moleculas antigas, d'outras recentemente formadas no proprio logar em que se depositam. As condições, que o acompanham, têm um ponto de contacto com as que se encontram na membrana cellular, porque aqui suppozemos que uma substancia contida no protoplasma intersticial se precipita, intercalando-se entre as moleculas cellulosicas.

Todavia entre a cellula artificial e a natural ha uma differença profunda. Na primeira o crescimento da membrana é determinado pela endosmose do liquido externo; um facto mechanico, a distensão da membrana, permitte que se formem as novas moleculas que a vão constituir. Na cellula vegetal as acções physicas e chimicas complicam-se de tal maneira, estão tão longe da simplicidade das da experiencia precedente, que é de todo impossivel estabelecer um parallelismo entre ellas.

Ainda assim isto não evita que a theoria da intussuscepção se ache mais bem consolidada e que as funcções osmoticas da membrana se mostrem intimamente ligadas á sua estructura.

CAPITULO III

Summario: I Fermentos soluveis.—II Chlorophylla.

I

Os fermentos soluveis e a chlorophylla são os dois agentes conhecidos, por meio dos quaes o protoplasma effectua o seu trabalho chimico.

Os fermentos são combinações complexas de carbono, azoto, oxygeno e hydrogeno, que se aproximam em parte das substancias albuminoides. Distinguem-se d'ellas por não conterem enxofre; não são além d'isto córadas pelo iodo nem pelo acido azotico, nem experimentam outras reacções proprias dos corpos proteicos.

Não foi ainda possivel produzir um fermento soluvel artificial; a sua unica origem é o protoplasma, d'onde parece que procedem por um desdobramento molecular. Só os processos chimicos os podem isolar da substancia proteica em que se acham dissolvidos, porque nunca affectam uma fórma organisada. Preparados chimicamente são incolores, solidos e amorphos; desconhecem-se as relações de composição que entre elles existem.

Além de certos caracteres communs, são dotados da propriedade geral de actuarem energicamente sobre um grande numero de compostos organicos, dando logar a desdobramentos moleculares de diversas ordens acompanhados de uma hydratação. D'esta propriedade derivam as funcções importantes que desempenham nos phenomenos de chimica biologica. Durante a sua acção a substancia do fermento não se altera, ou altera-se tão pouco, que uma pequena quantidade é sufficiente para modificar a materia fermentescivel, tomada em proporções quasi indefinidas, comtanto que d'esta ultima sejam isolados os productos da reacção, cuja presença muitas vezes impede que ella se effectue completamente.

A acção dos fermentos é comparavel á de muitas substancias inorganicas, que unicamente pela sua presença, e sem se alterarem, determinam reacções variadas. Em grande numero d'estes casos está hoje verificado que a substancia, cuja constituição se conserva invariavel, experimenta durante a reacção combinações e decomposições successivas, formando compostos especiaes com uma existencia transitoria, que são os que de um modo immediato produzem a transformação chimica. Assim deve acontecer com os fermentos, que pela sua constituição complexa estão aptos para realisarem facilmente acções d'esta ordem. Demais quasi todas as reacções devidas aos fermentos soluveis (chamadas *fermentações falsas* ou *indirectas*, em opposição ás *fermentações verdadeiras* ou *directas*, produzidas pelos organismos monocellulares) podem effectuar-se por meio dos acidos ou alkalis mineraes; assim se justifica melhor a interpretação que apontamos. Sabe-se que o acido sulphurico, como a diastase, hydrata o amido, transformando-o em glucosa e dextrina, a qual finalmente se converte em glucosa, etc. Por isso, se a origem dos fermentos se prende

á existencia das substancias vivas, a sua acção é regida sómente pelas leis da chimica. Assim se explica porque, precipitados das suas dissoluções, purificados e desseccados, conservam indefinidamente as suas propriedades.

Cl. Bernard empregava os anesthesicos como criterio do caracter vital de qualquer funcção organica. A experiencia levou-o a concluir que todas as funcções que pela acção dos anesthesicos deixam de produzir-se nos seres vivos estão dependentes das forças vitaes do organismo, ao passo que as que por esse motivo não são interrompidas estão sujeitas exclusivamente ás forças physico-chimicas. Ora a acção dos fermentos soluveis produz-se identicamente, quer elles sejam ou não anesthesiados.

Podemos pois dizer que estas substancias são verdadeiros reagentes chimicos.

Suppunha-se antigamente que os phenomenos de fermentação eram mais variados e frequentes no reino animal do que no vegetal. Os estudos modernos tendem a provar o contrario. Diz Eduardo Morren: «os phenomenos de fermentação são mais numerosos, mais variados nos vegetaes do que nos animaes.» Nos vegetaes existe a diastase, que actúa sobre as materias amylaceas; o fermento inversivo, que reage sobre a saccharosa; o fermento emulsivo e saponificante dos corpos gordos; o fermento albuminosico, que digere as substancias azotadas. E além d'estes, que effectuam as quatro digestões normaes dos animaes, outros que produzem digestões de differente natureza, todas importantes para a nutrição geral das plantas.

II

A chlorophylla é a substancia que dá a côr verde ás plantas. Producto do protoplasma, está sempre associada a uma parte da sua massa, apparecendo por vezes disseminada quasi homogeneamente em toda ella, ou constituindo grãos, fitas, laminas, com diversas disposições na cellula.

As propriedades do protoplasma que a contém, posto que communs ao resto do protoplasma cellular, manifestam-se com a independencia sufficiente, para que deva ser considerado uma differenciação d'este ultimo. Por isso as formações chlorophyllinas são caracterisadas não só pela substancia córada, mas pela porção plasmica que as acompanha. Designam-se pelo nome geral de *corpos chlorophyllinos*.

A materia verde existe ahi em pequena proporção: dissolvida pelo alcool, o ether, a benzina, etc., abandona a massa proteica, deixando-a descórada e com a fórma e volume primitivos. Segundo J. Sachs, a chlorophylla não affecta o estado solido nas cellulas vivas; as observações espectroscopicas de Kraus mostram que nestas circumstancias o espectro da chlorophylla é analogo ao das suas dissoluções, differindo apenas no deslocamento de todas as raias homologas na direcção da extremidade vermelha, o que aquelle physiologista interpreta pela regra geral, segundo a qual o deslocamento das raias na direcção indicada augmenta com a densidade do dissolvente, d'onde conclue que a distribuição da materia verde no protoplasma deve assemelhar-se á de um corpo em dissolução.

Affectam os corpos chlorophyllinos em geral a fórma granular,

sob a qual mais commummente têm sido estudados. Os grãos de chlorophylla crescem por intussuscepção, multiplicam-se por meio de bipartições successivas e effectuam movimentos da sua substancia interna. Possuem uma camada externa mais densa do que as partes interiores, nas quaes a agua se accumula em maior proporção, determinando a formação de vacuolos.

A genése dos corpos chlorophyllinos é comparada por Sachs á formação livre das cellulas: «Em torno de certos centros de formação, situados no interior do protoplasma, condensam-se pequenas particulas da sua substancia, formando massas nitidamente limitadas.» Da distancia dos centros de formação depende a maior ou menor aproximação dos grãos, que se tornam globulosos quando separados, ou polyedricos, se durante o seu crescimento chegam a comprimir-se reciprocamente.

Esta é na sua essencia a opinião de Hofmeister. Os trabalhos de Arthur Gris parecem justifical-a, porque elle conclue de todas as suas observações, que na maioria dos casos a chlorophylla se apresenta num estado amorpho transitorio, passado o qual se condensa affectando a fórma granular definitiva.

O apparecimento da chlorophylla na cellula não é, como o dos fermentos, uma consequencia necessaria da existencia do protoplasma: certas algas, o grupo inteiro dos cogumelos, assim como todas as plantas parasitas superiores não possuem a côr verde. Mais ainda, o numero de cellulas vegetaes, cujo protoplasma é incolor, é incomparavelmente maior do que o das cellulas chlorophyllinas, que só habitam os tecidos superficiaes.

A razão está em que a chlorophylla é um instrumento de synthese dos corpos ternarios; quasi sempre os grãos chlorophyllinos contêm, involvidos na materia verde, grãos de fecula em numero variavel e, menos vulgarmente, gotas de oleo, substancias que

fabricam pela sua actividade propria. Ora toda a cellula ou planta, que possa absorver os corpos ternarios de que carece, está desprovida da materia chlorophyllina, o que acontece em todas as que citámos.

A formação da chlorophylla depende da acção da luz, razão por que existe sómente nos tecidos superficiaes. Comtudo muitas vezes, sem o concurso d'aquelle agente, o protoplasma se differencia em grãos incolores, que depois, sob a influencia da luz, apresentam a côr verde. E ainda esta ultima phase não depende completamente da luz, porque nos cotyledones das coniferas e nas folhas dos fetos, quando a temperatura é sufficientemente elevada, a chlorophylla tanto apparece numa completa obscuridade, como debaixo da acção d'aquelle agente. Por isso J. Sachs entende que a causa immediata da sua producção não é a luz, mas o oxygeno activo, ou tornado activo pela sua influencia. Explica assim a propriedade que tem o acido sulphurico de dar a côr verde ás cellulas incolores que nos vegetaes a devem apresentar, quando expostas á luz, ao passo que não reage analogamente sobre aquellas, onde nunca existe a chlorophylla.

Apezar d'isto, é certo qne a luz é a principal condição physica necessaria para que esta substancia desempenhe as suas funcções de synthese chimica, reveladas em um phenomeno commum a todas as plantas verdes: a decomposição do anhydrido carbonico atmospherico, acompanhada da emissão de um volume de oxygeno egual ao do anhydrido decomposto.

A explicação d'esta importante funcção está dependente do conhecimento da constituição da chlorophylla; têm-se publicado trabalhos importantes a este respeito; comtudo não é possivel por emquanto estabelecer uma theoria sufficientemente justificada.

Verdeil admittia que a chlorophylla contém uma grande quan-

tidade de ferro num estado analogo áquelle em que existe nos globulos vermelhos do sangue. Mulder entendia que na sua molecula existe o azoto, o que Schützenberger não acha sufficientemente comprovado pela difficuldade que ha em desembaraçar a chlorophylla da substancia proteica.

Frémy foi o primeiro que seguiu um caminho diverso, conseguindo extrahir da chlorophylla duas substancias differentes, uma amarella, que denominou *phylloxantina*, outra azul, a que deu o nome de *phyllocyanina*. Obteve estes dois principios, servindo-se de uma mistura de ether, que dissolve o primeiro, e de acido chlorhydrico, que dissolve o segundo.

A *phylloxantina* e a *phyllocyanina* são pois, no entender de Frémy, as componentes da chlorophylla. Estudando as propriedades dos dois principios, conclue que certas alterações experimentadas pela chlorophylla se effectuam sómente sobre a materia azul. Assim a substancia amarella, mais fixa do que a azul, é a que durante o outomno persiste nas folhas que se descóram. Nas folhas estioladas a phyllocyanina existe ainda com uma pequena alteração que a transforma em *phyloxanthéina*, sustancia amarella, que pela acção dos acidos adquire de novo a côr azul, regenerando a chlorophylla.

Estas conclusões justifica-as Frémy não só pela acção dos reagentes acidos, mas porque, tractando as soluções alcoolicas das materias córantes das folhas estioladas e das folhas do outomno por uma mistura de ether e acido chlorhydrico, observou no primeiro caso uma pequena producção de materia azul, emquanto que no segundo a solução se conservou amarella.

Sem discutirmos o rigor d'estas hypotheses, aliás engenhosas, concluiremos do trabalho de Frémy a possibilidade de que na materia verde existam duas substancias differentes.

Stokes vae além d'isto e admitte que ella é constituida por quatro principios diversos, dois verdes e dois amarellos, caracterisados pelas suas propriedades opticas. Fichol admitte tambem quatro corpos componentes: um escuro azotado, um azul, e dois amarellos, o primeiro não azotado soluvel no alcool, e o segundo que é separado do corpo azul pelo ether. Ludwig e Kromayer concordam com Frémy. Pflaunder e Hlasiwetz attribuem as côres das plantas á mistura de principios complexos e variados.

Kraus notou que, agitando uma solução alcoolica de chlorophylla misturada com benzina, o liquido se separa pelo repouso em duas camadas: uma inferior alcoolica córada de amarello, outra superior de benzina com uma côr azul esverdeada. As substancias dissolvidas são, na opinião do mesmo auctor, as duas componentes da chlorophylla. Notou ainda que em uma solução alcoolica d'esta substancia o principio amarello e o azul esverdeado se distinguem pela sua differente solubilidade.

Para Kraus o espectro da chlorophylla resulta da sobreposição de dois espectros; parece effectivamente que é assim, pois que obteve separadamente o espectro de cada um dos principios componentes apontados, dissolvido no liquido proprio, assim como o da chlorophylla, sendo este ultimo, com pequenas alterações, egual ao que se obteria pela sobreposição dos dois primeiros. A constituição binaria da chlorophylla adquire, em virtude d'esta experiencia, um gráu de probabilidade ainda maior, do que pelos trabalhos de Frémy.

Além d'isto, Kraus mostrou que o espectro da componente amarella da matéria verde é identico ao das substancias córantes da maior parte das flores amarellas e ao da substancia da mesma côr dos fructos e das sementes; todos estes corpos soffrem modificações identicas, quando tractados pelos acidos chlorhydrico e

sulphurico. Portanto, a existencia d'aquelle principio na chlorophylla é um facto natural em harmonia com a experiencia, que o foi encontrar em tantas partes dos vegetaes.

O mesmo auctor entende que a materia córante das folhas estioladas é em tudo analoga ao principio amarello da chlorophylla; é a opinião de Frémy, a que a precedente observação presta um novo apoio.

Quanto á materia azul esverdeada, entende Kraus que apparece por uma simples formação sob a acção da luz. Vê-se que se affasta de Frémy, para o qual a phyllocyanina azul era devida á transformação de uma substancia amarella hypothetica, a phylloxanthéina.

As experiencias de Frémy e as de Kraus são entre todas as mais completas; encaram o problema debaixo de differentes aspectos, confrontando os resultados sempre concordantes. São as unicas que nos merecem confiança; as outras apenas attestam que nem todos pensam unanimemente sobre esta questão.

Frémy publicou modernamente um outro trabalho, no qual confirma a constituição binaria da chlorophylla e pretende estabelecer a composição de um dos seus principios constitutivos, a phyllocyanina.

Para Frémy a phyllocyanina é o *phyllocyanato de potassio*. Obteve este corpo, cuja côr é analoga á da chlorophylla [1], tractando o phyllocyanato de baryo pelo sulphato de potassio. Verificou que elle manifesta todas as reacções da chlorophylla, exceptuando o desdobramento em dois principios differentes. Demais

[1] Notar-se-ha que no seu primeiro trabalho Frémy attribue á phyllocyanina uma côr azul, emquanto que agora a equipara a uma substancia verde. Existe aqui uma contradicção; é possivel que seja devida á natureza do dissolvente empregado.

o seu espectro apresenta a raia negra de absorpção, situada no meio da parte vermelha e caracteristica da materia verde.

O mesmo chimico faz notar que, «quando as folhas perdem a sua chlorophylla e se tornam amarellas, perdem ao mesmo tempo uma grande parte da potassa que continham», o que explica pela constituição que attribue á materia verde.

Em contraposição a isto objectaremos que, se é certo que a potassa é indispensavel para que a chlorophylla effectue as suas funcções de synthese, a unica substancia hoje reconhecida como necessaria para a sua formação, isto é, para o seu apparecimento na planta, não é a potassa, é o ferro; por este motivo entendemos que só futuras experiencias poderão decidir o que ha de exacto na conclusão que Frémy deduz do seu trabalho: «*A materia córante das folhas é uma mistura de phylloxantina e de phyllocyanato de potassio.*»

Tudo o que temos exposto, ainda que em parte revele a confusão inherente a um assumpto tão obscuro como este, auctorisa-nos a acceitar a hypothese fundamental de Frémy e Kraus.

O que, porém, nenhum d'estes auctores tentou foi relacionar a constituição binaria da chlorophylla com as suas funcções. Se é necessaria e constante a existencia dos seus dois principios constitutivos, devem ambos intervir na decomposição do anhydrido carbonico.

Sachs, Frémy, Kraus e outros notaram que a substancia amarella componente da chlorophylla, assim como a de muitas flores, etc., se córa de verde pela acção dos acidos sulphurico e chlorhydrico, parecendo indicar que existe uma relação de derivação entre os dois principios da chlorophylla. Kraus, porém, demon-

strou que esta experiencia não auctorisa uma tal conclusão, porque o espectro da materia verde é differente do da substancia produzida pelos acidos.

Se com effeito existisse uma relação d'esta ordem, era natural ir buscar á modificação chimica, experimentada por cada uma das componentes da materia verde, a explicação da sua propriedade de reduzir o anhydrido carbonico.

Arm. Gautier tentou fazel-o, baseando-se na acção do hydrogeno nascente sobre a chlorophylla.

Esta substancia, submettida á acção do hydrogeno nascente, descóra-se; passado algum tempo readquire a sua primitiva côr. «Existe pois, diz Gautier, uma modificação da chlorophylla, mais pobre em oxygeno, ou antes, mais rica em hydrogeno, que chamaremos *chlorophylla branca,* dotada de uma aptidão singular para reduzir os corpos oxygenados.» Compara a chlorophylla incolor com a *hydroquinona,* que na maior parte dos casos existe nas mesmas cellulas, e é caracterisada pela propriedade de perder dois atomos de hydrogeno, reduzindo corpos oxygenados de bastante estabilidade, e transformando-se em *quinona.* A chlorophylla poderia ser caracterisada da mesma maneira.

Posto isto, Gautier entende, e aqui vae de accordo com muitos physiologistas distinctos, que a acção d'esta substancia se produz não só sobre o anhydrido carbonico, mas tambem sobre a agua. Mostraram as experiencias de Boussingault que muitas vezes o volume de oxygeno exhalado pela planta é superior ao do anhydrido absorvido. O oxygeno em excesso é geralmente attribuido á decomposição da agua; e, de facto, o mesmo auctor verificou que a quantidade de hydrogeno assimilado pelos vegetaes é sensivelmente superior á que seria necessaria para formar a agua com o oxygeno que contêm.

D'aqui a hypothese de Gautier. Dois corpos, o anhydrido carbonico e a agua, são decompostos nos seus elementos pela chlorophylla, sob a influencia da luz. Nesta reacção entram os dois principios: a *chlorophylla verde,* menos hydrogenada, e a *chlorophylla branca,* em que a proporção de hydrogeno é maior. A primeira decompõe a agua, absorve o seu hydrogeno e transforma-se em chlorophylla branca

$$\underset{\text{chlorophylla verde}}{Khl} + H^2O = \underset{\text{chlorophylla branca}}{Khl,H^2} + O.$$

A chlorophylla branca reage por seu turno sobre o anhydrido carbonico, reduzindo-o e transformando-se de novo em chlorophylla verde. E continuam indefinidamente os dois actos reductores, em que as duas chlorophyllas se alternam. A par d'isto, e á custa dos restos das decomposições operadas, produz-se a synthese de compostos ternarios superiores. Esta segunda parte não nos interessa agora.

Teremos occasião de indicar mais extensamente os factos que apoiam esta hypothese. Entendemos dever apresental-a neste logar não só para mostrar que é possivel explicar a funcção da chlorophylla em harmonia com a sua constituição binaria, mas por ser a primeira tentativa feita neste sentido.

Era natural que se procurasse harmonisar a hypothese de Gautier com a constituição que Frémy admitte para a phyllocyanina. Comtudo é impossivel fazel-o: este chimico foi o unico que estudou o phyllocyanato de potassio, corpo de difficil preparação, e as propriedades que lhe attribuiu sómente se referem á sua solubilidade em alguns liquidos, assim como á acção dos acidos e das bases.

CAPITULO IV

Summario: Productos de transsubstanciação.—I Cristalloides.—II Aleurona.—III Amido.

Produzindo a camada membranosa, o nucleo e a membrana cellular, o protoplasma construe a cellula vegetal; dando origem aos fermentos e á chlorophylla, fórma os agentes por meio dos quaes exerce o seu trabalho chimico. Além d'estas formações, que definem a cellula como entidade morphologica e funccional, contém ella outros productos da actividade do protoplasma, que ou constituem materiaes nutritivos, ou substancias elaboradas durante a formação d'estes ultimos e que não parecem ser destinadas para um fim semelhante. A todos estes principios damos o nome de—productos de *transsubstanciação*.

Não desejamos estudal-os todos neste logar, nem o permittiriam os limites a que temos de restringir-nos; e muito menos pretendemos classifical-os relativamente ás suas funcções.

Parte d'elles, as essencias, os acidos, os saes, os corpos neutros, os alcaloides, etc., têm uma evolução chimica quasi desconhecida. Pouco mais se sabe a respeito de substancias azotadas, como o gluten, a legumina, a asparagina, ou ternarias, como os

assucares e as gorduras. Demais, como a todas se liga um mero interesse chimico, limitamo-nos por emquanto a mencional-as.

Encontram-se com frequencia nas cellulas cristaes de carbonato e oxalato de calcio; podem occupar a sua parte interna, comtudo mais geralmente se depositam sobre prolongamentos da membrana cellular, ou em alguns dos seus estratos. Segundo a proporção em que se accumulam, assim impedem ou não o exercicio regular das funcções do protoplasma. Áparte esta influencia mechanica, a sua principal importancia procede das relações que os prendem aos phenomenos de nutrição.

Distinguem-se outras formações por certos caracteres anatomicos, dependentes da constituição e das forças internas do protoplasma; e por isso, não obstante desempenharem funcções ligadas aos phenomenos chimicos da cellula, diremos sobre cada uma o sufficiente para a caracterisar sob aquelle ponto de vista. São os cristalloides, a aleurona e o amido.

I

Os cristalloides são corpos de natureza analoga ao protoplasma, que revestem uma fórma cristallina e actuam sobre a luz polarisada, como verdadeiros cristaes; Naegeli admitte que entre estas duas classes de corpos ha uma completa analogia de estructura physica.

Os cristalloides podem encontrar-se no protoplasma, no nucleo, ou nos grãos de aleurona. Em geral só se formam nas cellulas onde se acham depositados materiaes para a subsequente nutrição do vegetal; comtudo apparecem, por vezes, nas petalas de

algumas flores, assim como em outros orgãos ou tecidos, num periodo de completa actividade vegetativa.

Assemelhando-se ainda aos cristaes pela propriedade de existirem isolados, ou formarem, como elles, varios agrupamentos, os cristalloides distinguem-se por dois caracteres importantes. Em primeiro logar, são constituidos por duas substancias desegualmente soluveis e tão intimamente misturadas, que, extrahindo a de maior solubilidade, a outra subsiste, conservando a fórma primitiva. Em segundo logar, os seus angulos solidos não são inalteraveis, como acontece nos cristaes; differem com frequencia de 2 ou 3 gráus na mesma cellula. Estas variações augmentam ainda com a acção dos reagentes, a potassa, por exemplo, que póde eleval-as até 15 ou 16 gráus.

É possivel que dependam da distribuição da agua em torno das moleculas proteicas: assim acontece que, dessecados e introduzidos neste liquido, podem experimentar nos seus angulos uma variação de alguns gráus.

A agua não dissolve os cristalloides, nem chega a desaggregal-os de modo que possam affectar um estado mucilagínoso, o que é notavel, porque ella impregna facilmente as massas protoplasmicas. Isto leva a crer que no cristalloide ha, em relação ao protoplasma gerador, uma leve modificação chimica, que lhe permitte effectuar uma condensação maior, expellindo a agua interposta molecularmente.

Esta formação proteica estabelece a passagem entre as substancias cristallisadas e as organisadas, parecendo que os dois grupos apenas differem no estado de aggregação molecular. O que dissemos, quando tractámos da theoria plastidular, mostra que a existencia da plastidula está em harmonia com a tendencia da molecula protoplasmica para affectar uma fórma cristal-

lina, isto é, para manifestar uma determinada polaridade. A formação do cristalloide dependeria portanto da desaggregação da plastidula nas suas moleculas elementares, acompanhada de uma deshydratação, em virtude do que ellas affectariam uma disposição regular e geometrica.

II

A aleurona é um producto do protoplasma, que reveste a fórma de grãos arredondados, algumas vezes irregulares e angulosos. Apparece nos reservatorios nutritivos do embryão, como são o albumen e os cotyledones.

Não acontece neste caso o mesmo que se dá com os cristalloides, cuja constituição, relativamente simples, é devida á união intima de duas materias proteicas. No grão de aleurona encontra-se, em primeiro logar, uma substancia albuminoide, differenciada externamente em uma membrana de natureza analoga. Esta parte exterior involve muitas vezes um cristalloide, frequentemente contém cristaes de oxalato de calcio, e quasi sempre corpos arredondados (*globoides*), isolados ou reunidos entre si, formados por um phosphato duplo de calcio e magnesio.

Nos grãos mais complicados encontra-se não só a parte albuminoide, como o cristalloide, os globoides em numero variavel, e os cristaes de oxalato de calcio, que ora tomam a configuração de maclas, de cristaes isolados, ou de agulhas. Todas estas partes estão encerradas na materia albuminoide, como em uma ganga, affectando uma disposição mais ou menos regular.

Os grãos d'uma cellula podem differir dos da cellula immediata e differir mesmo entre si, o que depende de que nem todos

contêm o mesmo numero de formações internas. Ha grãos sem cristalloides, sem cristaes, sem globoides, desprovidos inclusivamente alguns de qualquer d'estas partes.

O grão de aleurona não tem pois uma constituição definida; é um todo em que podem achar-se agglomeradas materias organicas e mineraes em proporções variaveis; as suas propriedades, como producto distincto e bem caracterisado entre todos os outros da cellula, referem-se exclusivamente ás da substancia albuminoide, que constitue a ganga interior e a parte superficial.

Confirma o que dizemos o seu modo de formação, conforme o observou Pfeffer no Ricino. Pouco tempo antes da completa maturação da semente apparecem simultaneamente no conteúdo granuloso da cellula os globoides e os cristalloides, tão proximos entre si, que quasi se acham em contacto, reunindo-se em geral ao lado d'um cristalloide um ou mais globoides. Logo que amadurece a semente, a massa proteica rodeia separadamente cada um d'estes agrupamentos e produz globulos, cujo contorno, mal limitado a principio, pouco a pouco se define melhor, até que da ganga albuminoide interior se differencía uma membrana peripherica da mesma natureza. E como nem sempre o cristalloide e os globoides se acham a tão pequena distancia, que todos fiquem necessariamente incluidos no mesmo globulo, succede que ao lado uns dos outros se formam grãos, dos quaes uns contêm só o cristalloide, emquanto que em outros associados ao cristalloide se encontram os globoides. Apparece emfim o caso extremo, em que na condensação proteica não é involvida outra formação extranha. Eis a razão porque os grãos de aleurona são diversamente compostos, e porque sómente á sua massa albuminoide se deve attribuir a propriedade de se differenciarem do resto do conteúdo cellular.

A formação da aleurona dá-se, como dissemos, durante a maturação da semente, isto é, quando esta é abandonada por toda a agua que impregna os seus elementos cellulares. É possivel que a differenciação do protoplasma dependa da dessecação que ao mesmo tempo experimenta. «A genése dos grãos de aleurona, diz J. Sachs, parece não ser mais do que uma simples dissociação produzida pela evaporação progressiva da agua da semente. Durante a germinação opéra-se de novo a reunião da massa fundamental com os grãos de aleurona, regenerando-se mais ou menos completamente o conteúdo cellular primitivo.»

Entre a *dissociação*, que J. Sachs admitte, e a hypothese que emittimos, relativamente aos cristalloides, existe uma analogia que torna mais acceitavel esta ultima; na hypothese de Sachs ha, pelo menos, uma nova prova da influencia da agua sobre a faculdade de aggregação molecular e de organisação do protoplasma.

III

Muitos botanicos chamam especialmente *amido* á substancia amylacea das sementes dos cereaes, e *fecula* á de todas as outras plantas; mas, como se acha demonstrada a analogia fundamental d'estes productos, adoptaremos indifferentemente qualquer das designações.

Todas as materias amylaceas têm a mesma composição elementar, correspondente á fórmula — $nC^6H^{10}O^5$ —. Dissemos, quando tractámos da membrana cellular, que o amido é o primeiro anhydrido triglucosico, o que equivale a considerar naquella fórmula $n=3$. Assim deve ser, porque, sob a influencia já apon-

tada da diastase, é desdobrado em glucosa e dextrina, anhydrido diglucosico, o que prova que no amido existem tres moleculas de glucosa condensadas. Comtudo as propriedades chimicas de certas feculas, ou dos seus derivados, differem sensivelmente umas das outras, e por isso alguns chimicos hesitam em attribuir a todas a mesma fórmula molecular, suppondo que as suas divergencias correspondem a outros tantos casos de isomeria.

Nós conservaremos, por ser a mais simples possivel, a fórmula —$C^{18}H^{30}O^{15}$—.

O amido affecta a fórma de grãos organisados, esphericos no começo da sua formação, mais ou menos irregulares depois; na maioria dos casos estão divididos em estratos concentricos, que, á semelhança do que se dá na membrana cellular, se alternam, seguindo-se a um menos aquoso outro que o é mais, e sendo os que occupam os logares extremos, tanto interior como exteriormente, mais densos e pobres em agua, do que os immediatos.

Todos se dispõem em torno d'uma parte central muito aquosa, o nucleo, desinvolvendo-se e multiplicando-se desegualmente em dois sentidos oppostos, o de maior e o de menor crescimento, que marcam a direcção seguida por uma linha, o eixo do grão, obrigada a passar pelo nucleo.

Estes são os grãos *simples*, porque contêm um só nucleo. A cellula produz outros em que o numero de nucleos é superior a um; resultam da divisão do nucleo primitivo e podem ser *compostos* ou *semi-compostos*, segundo derivam d'um grão novo em que a differenciação em estratos está apenas iniciada, ou de grãos em que é grande o numero de camadas concentricas, por se acharem num estado de desinvolvimento avançado.

No primeiro caso o nucleo divide-se em dois, que representam novos centros, em torno dos quaes se vão dispondo os estratos de

formação posterior; á medida que a espessura das camadas augmenta, produz-se uma tensão em algumas, que são communs aos dois grãos parciaes, e fórma-se uma fenda perpendicular á linha que liga os seus nucleos. Não sendo na parte central completa a bipartição, resulta d'ahi um grão composto de dois. Se o mesmo facto se repetir em cada um d'estes, cresce o numero de grãos parciaes, que, por um tal processo de multiplicação, póde elevar-se a 40 ou 50.

No segundo caso tudo se passa d'um modo analogo, advertindo sómente que os grãos parciaes ficam sempre involvidos pelos estratos primitivos; ainda que se produzam fendas divisorias, não se propagam em geral até ás camadas exteriores.

Existem nos grãos d'amido duas substancias que differem um pouco entre si. Uma, que se córa de azul pelo iodo e póde extrahir-se por meio de dissolventes proprios, a saliva, o acido chlorhydrico, o hypochlorito de calcio, offerece todos os caracteres da materia amylacea: é a *granulosa*. Outra, que resiste a estes reagentes, é córada de vermelho pelo iodo, necessitando, para tomar a côr azul, de ser ao mesmo tempo tractada pelo acido sulphurico: é a *cellulosa amylacea*. Em virtude d'esta reacção tem sido comparada á cellulosa; todavia Bleicher prefere aproximal-a da granulosa, considerando-a apenas uma especie distincta, porque, exceptuando aquelles caracteres differenciaes, as duas componentes do grão d'amido são analogas em todas as outras reacções.

A distribuição das duas substancias em toda a massa do grão não é identica. Tractando o amido por qualquer dos dissolventes da granulosa, os grãos conservam a sua fórma primitiva, tornando-se as estrias muito mais nitidas; no entender de Bleicher isto demonstra com toda a evidencia que, ao passo que a granulosa

se encontra em todos os estratos, a cellulosa amylacea occupa exclusivamente os estratos mais densos. Note-se ainda que 100 partes d'amido unicamente contêm de 2 a 6 partes de cellulosa amylacea.

A maior parte dos botanicos attribue á chlorophylla a producção de todo o amido que apparece nos vegetaes.

Entre os cogumelos, o grupo das *Amylobacterias* é o unico em que se tem verificado a existencia da fecula, que por vezes apparece tambem nas plantas parasitas. Em qualquer dos casos é devida a uma absorpção directa: as *Amylobacterias* só podem viver num liquido que contenha dissolvidos os elementos da fecula; os parasitas naturalmente os absorvem na planta que os alimenta.

As plantas verdes, exceptuando o *Allium Cepa*, em que o amido é substituido por uma substancia oleaginosa, todas o contêm; desde as algas inferiores até ás phanerogamicas multiplicam-se os orgãos em que tem sido observado: as folhas, os reservatorios nutritivos e um grande numero de tecidos dos eixos aerios.

Pois que o amido tanto apparece nas cellulas verdes como nas incolores, e não é um corpo soluvel que por endosmose possa ser transportado de umas para outras, é evidente que o protoplasma incolor realisa a sua formação, independentemente da chlorophylla. Com effeito, o amido encontra-se no protoplasma e no nucleo, onde em varios casos tem sido estudado o seu crescimento, desde as pequenas dimensões das granulações até ao seu volume normal.

Comtudo a sua producção no protoplasma incolor deve considerar-se, na evolução da planta, posterior á que se effectua nos corpos chlorophyllinos. Aqui é o amido formado por synthese, á

custa das mais simples combinações oxygenadas do carbono e do hydrogeno, ao passo que no protoplasma incolor é gerado por meio de principios hydrocarbonados complexos, corpos soluveis, produzidos pela transformação da materia amylacea das folhas, e que constituem a sua fórma de transporte através dos tecidos das plantas.

Os grãos d'amido formados nos corpos chlorophyllinos, assim como os das algas, não offerecem a divisão em estratos concentricos, acham-se num estado de organisação rudimentar; poderia portanto dizer-se que as phases por que passa a sua estructura acompanham as da sua evolução nas cellulas vegetaes.

Sómente no interior dos orgãos protoplasmicos se formam e desinvolvem os grãos d'amido; a sua primeira apparição é devida talvez á condensação das glucosas. As primeiras moleculas formadas agrupam-se e constituem um granulo, cujo crescimento posterior se faz por intussuscepção.

Verifica-se aqui o mesmo que notámos a respeito da differenciação da membrana cellular em estratos, em que a proporção d'agua deriva da espessura das camadas aquosas que cercam as particulas amylaceas.

Naegeli, o auctor d'esta theoria, funda-se sobretudo na acção que o alcool absoluto e a potassa exercem sobre o grão d'amido. O primeiro, roubando-lhe a agua, destróe a estratificação; a potassa, em solução diluida, conduz por um processo opposto ao mesmo resultado, porque satura egualmente pela agua todas as camadas do grão. Por conseguinte, a experiencia auctorisa-nos a ver na distribuição da agua a causa principal da differenciação interna; o crescimento do grão de fecula explica-se, como diz Bleicher, pela exfoliação do nucleo, que, nutrindo-se por intussuscepção, produz camadas mais densas do que elle, e que o

involvem e se succedem umas ás outras em direcção centripeta. Cada um dos estratos gerados differencía-se a seu turno em tres camadas, uma interior aquosa e duas lateraes menos aquosas.

O liquido nutritivo diffunde-se no grão d'amido, caminhando das camadas externas para as internas; a maior quantidade dos materiaes, que conduz dissolvidos, deve sobretudo depositar-se nas primeiras, cuja fluidez se conservará sempre menor do que a da parte central. Pondo de parte a discontinuidade devida á alternação das camadas desegualmente densas, a proporção da agua augmentará desde a peripheria até ao centro do grão. Effectivamente, durante a acção do alcool absoluto os grãos muitas vezes apresentam fendas radiantes, que partem do nucleo, onde são largas, e se dirigem para a peripheria, tornando-se progressivamente mais estreitas. Vê-se que, onde a agua existe em maior quantidade, ahi o affastamento das duas porções desaggregadas é mais sensivel.

Este modo de conceber o phenomeno refere-se aos grãos simples.

É facil agora explicar como se formam os grãos compostos. Neste caso a differenciação da substancia do nucleo não produz só uma camada involvente mais densa e um novo nucleo aquoso interior; se este ultimo, á maneira dos estratos, se differenciar em uma lamina densa interna e duas partes lateraes aquosas, ficarão assim formados os dois nucleos d'outros tantos grãos parciaes.

Além de Naegeli, outros têm explicado d'um modo diverso o crescimento dos grãos d'amido. Entre as theorias conhecidas tornam-se dignas de menção as duas seguintes.

Fritsche, Schleiden, etc., admittem que o crescimento é devido á sobreposição centrífuga de camadas concentricas sobre um nucleo solido. Trécul entende que o grão é primitivamente constituido por uma vesicula, na qual se introduz o liquido nutritivo, que por sobreposição interior, em direcção centripeta, fórma os seus estratos concentricos.

Entre muitos inconvenientes, cuja enumeração nos levaria muito longe, limitar-nos-hemos a observar que nenhuma d'estas theorias assenta em base solida. A primeira exige que o nucleo dos grãos amylaceos seja identico aos grãos novos, em que se não observa a estructura estratificada, o que se não verifica, porque estes são sempre menos aquosos do que a parte central dos grãos que apresentam uma completa differenciação em camadas.

A theoria de Trécul, partindo d'uma fórma vesicular, estabelece um postulado desmentido pela observação.

PARTE II

PHYSIOLOGIA DA CELLULA

Referimos toda a actividade da cellula ao protoplasma, unica substancia indispensavel para a manifestação dos phenomenos, a cujo conjuncto se chama *vida:—phenomenos chimicos—*, destinados á conservação do organismo, e caracterisados sobretudo pela constante elaboração interna do protoplasma;—*phenomenos de genése cellular—*, que devem considerar-se uma consequencia dos primeiros, e que, comprehendendo todos os actos de reproducção, tendem a perpetuar indefinidamente a existencia da cellula na dos seus descendentes;—*phenomenos de movimento—*, gerados sob a influencia do trabalho chimico da cellula, combinado em alguns casos com a acção do meio externo, e que por tal razão não só contribuem para a circulação da materia no inte-

rior do organismo, mas para o pôr em relação com o mundo exterior.

O seu estudo constituirá a segunda parte d'este trabalho.

Ser-nos-ha impossivel fazel-o d'uma maneira completa, porque só o conseguiriamos escrevendo toda a physiologia vegetal. Exporemos por conseguinte os pontos essenciaes.

CAPITULO I

Summario: Elementos nutritivos da cellula vegétal; sua absorpção. Phenomenos chimicos da cellula.—I Respiração; consiste na absorpção d'oxygeno e emissão d'anhydrido carbonico e agua. É a condição de todas as funcções vitaes. Producção de calor e luz. Theorias da respiração. A influencia vital do oxygeno resulta da sua acção directa sobre o protoplasma. Relações que ligam o acto respiratorio á propriedade geral da hereditariedade. Acção do oxygeno sobre as cellulas-fermentos. A distincção estabelecida por Pasteur entre os organismos *aérobios* e *anaérobios* deve ser abandonada. Condições physicas dos phenomenos vitaes.—II Nutrição. A sua consequencia immediata é o crescimento da cellula. Assimilação e transsubstanciação. Substancias plasticas. Estados de combinação em que os elementos nutritivos podem ser uteis ás cellulas incolores. O carbono é a unica substancia que tem de ser ministrada ao protoplasma incolor no estado de combinação organica. Funcção chlorophyllina; synthese dos compostos ternarios na materia verde. Trabalho chimico da nutrição no protoplasma incolor. Digestão vegetal. Papel dos fermentos soluveis nos phenomenos chimicos da cellula. Synthese dos albuminoides; factos que auxiliam o seu estudo. Productos intermediarios de transsubstanciação. Synthese da cellulosa.

Involvida como está pelo meio externo, a cellula absorve por via de diffusão e osmose, em varios estados de combinação, os elementos que a constituem. O protoplasma actua sobre elles, fabricando todos os productos complexos de que a cellula carece.

Algumas d'estas substancias—o carbono, o hydrogeno, o oxygeno, o azoto e o enxofre—entram directamente na construcção dos orgãos que formam a cellula, e por isso são absolutamente necessarias para a sua existencia. Outras—o ferro, o potassio,

o phosphoro, o calcio e o magnesio—indispensaveis para o desinvolvimento normal da cellula, parecem influir especialmente sobre funcções determinadas; comtudo é de suppôr, e emquanto ao phosphoro e ao potassio é até muito provavel, que concorram para a constituição d'algumas das suas partes.

Além d'estes, encontram-se muitos outros corpos nas cellulas vegetaes; mas não são, como os precedentes, indispensaveis para a sua formação, nem para que desempenhem as suas funcções. Existem ahi, porque a cellula absorve indistinctamente os elementos do meio em que se acha collocada, tendendo a estabelecer um equilibrio molecular entre o meio exterior e o interior. Se, depois de absorvida, a substancia não soffre alteração alguma, o equilibrio estabelece-se promptamente e nenhuma outra porção do mesmo corpo penetra na cellula; mas, se é modificada, transformando-se em productos differentes, a ruptura do equilibrio em todos os momentos successivos determina uma corrente ininterrompida das suas moleculas do meio externo para a cellula. Isto, que não é mais do que a theoria geral da diffusão, mostra qual é a origem do poder electivo que o protoplasma manifesta, retendo sómente uma parte dos elementos materiaes que o circumdam, muitos dos quaes não são essenciaes para a cellula. Neste caso estão o sodio, o manganez, o silicio e o chloro; menos frequentemente o bromo e o iodo, e outros, como o aluminio e o cobre, que raras vezes se encontram nas plantas.

De todos estes só incidentemente nos occuparemos.

Os primeiros que mencionamos são considerados os *elementos nutritivos essenciaes* da cellula. A um só d'entre elles, o oxygeno, cabe o nome de *elemento respiratorio*.

Os phenomenos chimicos a que a sua absorpção dá logar classificam-se em dois grupos: 1.º—a *respiração*, em virtude da

qual o protoplasma conserva e exerce a sua actividade propria; 2.º — a *nutrição*, que abrange todas as acções chimicas que contribuem para o crescimento da cellula.

I

A cellula vegetal, como a cellula animal, respira; absorve o oxygeno atmospherico, exhalando anhydrido carbonico e agua. A generalidade d'este phenomeno, reconhecida desde o principio do seculo actual em todos os vegetaes incolores, só numa epocha relativamente recente foi estabelecida pelas experiencias de Garreau.

Suppunha-se que as plantas verdes, contrariamente ao que succede com as incolores, respiravam, absorvendo anhydrido carbonico e emittindo oxygeno. Reconheceu-se depois que durante a noite manifestavam um phenomeno opposto, como acontece com as que não têm chlorophylla. Assim lhes foram attribuidas duas respirações, uma nocturna semelhante á dos animaes, outra diurna realisada por um processo inverso. Finalmente, o auctor que citámos demonstrou que junctamente com a chamada respiração diurna, que nada mais é do que a funcção chlorophyllina de synthese organica, as plantas continuam a respirar o oxygeno atmospherico.

Hoje a existencia d'esta funcção não póde ser duvidosa. Boehm deduz a seguinte consequencia das observações que fez sobre a respiração vegetal: «A formação immediata d'acido carbonico pelas plantas terrestres *frescas*, em uma atmosphera privada de

oxygeno, é de tal modo *constante*, que, quando o volume do gaz em que se encerram não soffre alteração, se deve concluir *necessariamente* que ou os gazes empregados contêm oxygeno, ou a planta está morta.» Com effeito a cellula morta, sujeita ao unico dominio das forças chimicas, continúa a emittir anhydrido carbonico pela sua decomposição interna.

Os effeitos da falta do oxygeno na atmosphera d'uma planta revelam-se na suspensão geral das suas funcções vitaes; a nutrição não se effectua, a chlorophylla torna-se incapaz de decompôr o anhydrido carbonico, os movimentos do protoplasma cessam e as cellulas, que eram moveis, immobilisam-se. Se a acção se prolonga, estes phenomenos transitorios tornam-se permanentes e a cellula morre.

Vê-se que a influencia do oxygeno se estende a todas as funcções cellulares. É difficil explicar como ella se produz; julgamos até que no estado actual da physiologia é impossivel conseguil-o.

Todos em geral admittem como uma das consequencias immediatas da respiração a producção de calor. Nem sempre é possivel observal-a, porque a evaporação da agua e a radiação nas plantas terrestres, assim como a conductibilidade do ambiente liquido nas plantas aquaticas, o impedem; comtudo estes obstaculos evitam-se por meio de disposições experimentaes apropriadas. Em alguns casos é muito notavel a elevação de temperatura: no spadice das Aroideas chega a exceder de 11 gráus a do ar ambiente, durante a fecundação, epocha em que os phenomenos chimicos se produzem com a maxima energia. O calor varía nas diversas partes da planta, no mesmo sentido em que varía a actividade chimica. É sensivel nas partes novas, emquanto que as cellulas da medulla, da cortiça, onde não existe protoplasma, e por isso não respiram, não o manifestam. Augmenta

quando a planta respira o oxygeno puro; é quasi nullo quando mergulhada no azoto e no anhydrido carbonico. A quantidade de oxygeno que uma flor consome varía, segundo Gavarret, na razão directa da sua temperatura. Emfim as experiencias de Sachs, Gavarret e outros, que julgamos desnecessario citar, provaram que onde ha um trabalho chimico, um crescimento energico, ahi o calor é mais intenso, e que só na presença do oxygeno isto póde ter logar.

Outro phenomeno depende da mesma causa: é o da *phosphorescencia,* que tem sido observado em um pequeno numero de vegetaes do grupo dos cogumelos. Assim como ha pouco a respiração produzia calor, agora produz luz. Com effeito a phosphorescencia desapparece no vasio, no hydrogeno e no anhydrido carbonico; a quantidade d'este gaz, que a planta expira durante a respiração, augmenta quando emitte luz.

D'aqui se deduziu a consequencia geral de que o phenomeno respiratorio é acompanhado d'uma oxydação. O oxygeno acha-se em presença de substancias quaternarias e ternarias muito complexas. Com certeza deve exercer sobre ellas alguma acção. Suppõe-se geralmente que se produz uma lenta combustão, que gradualmente as transforma em productos mais simples, até que de todo se resolvem em anhydrido carbonico e agua. As substancias albuminoides e as substancias gordas, por exemplo, comportar-se-hiam como nas experiencias em que são submettidas á acção de reagentes oxydantes, taes como o acido azotico e a mistura de bichromato de potassio e acido sulphurico. As materias amylaceas prestam-se ainda melhor do que as materias gordas a soffrerem uma combustão, o que se deprehende da producção de anhydrido carbonico, mais abundante nas sementes amylaceas do que nas oleaginosas. Os corpos gordos são pouco

oxygenados, e portanto oxydam-se, retendo parte do oxygeno absorvido.

O resultado de todos os phenomenos d'esta natureza deve ser uma grande perda de substancia: é o que succede ás sementes que germinam na obscuridade, cujo peso de materia secca póde reduzir-se á metade.

Não é possivel ir além d'esta previsão. A natureza precisa das reacções suppostas desconhece-se. Um facto unico relativo á oxydação dos albuminoides foi estudado por Pfeffer. Este auctor comparou a asparagina com a legumina, substancia proteica que existe nas sementes das Papilionaceas. A primeira contém menos hydrogeno e carbono e mais oxygeno do que a segunda. O mesmo deve acontecer em relação a todas as materias proteicas, cuja composição é quasi identica. Durante a germinação as materias albuminoides transformam-se em asparagina, o que não podem fazer sem perderem carbono e hydrogeno e absorverem oxygeno. A eliminação dos dois primeiros corpos poderia fazer-se debaixo da influencia do oxygeno inspirado, que em parte se transformaria em anhydrido carbonico e agua, e em parte se fixaria sobre a materia albuminoide. Comtudo Pfeffer accrescenta: «poderia dar-se tambem um desdobramento das materias proteicas, com absorpção de oxygeno, em asparagina mais azotada e um outro corpo não azotado.»

Aqui temos duas hypotheses para explicar um facto bem averiguado — a transformação dos albuminoides em asparagina, com perda de carbono e hydrogeno e absorpção de oxygeno —. Ambas reunem a mesmo numero de probabilidades. Na opinião do seu auctor, são tão obscuros os nossos conhecimentos chimicos sobre os corpos albuminoides, que não é possivel estabelecer d'um modo preciso as relações que os ligam á asparagina.

Todas as reacções que se produzem com estas substancias complicadas são de difficil interpretação. Cl. Bernard entende que os phenomenos chimicos dos seres vivos têm um caracter especial, que os distingue dos que se produzem nos nossos laboratorios. Estes auxiliam-nos, fazendo-nos comprehender a possibilidade de que os primeiros cheguem a realisar-se; ir além d'isto, transportar para a cellula as simples reacções da chimica é esquecer a sua composição complexa. A acção do oxygeno não póde comparar-se a uma oxydação directa, á combustão do carbono e do hydrogeno. Se fosse assim deviam encontrar-se no organismo os productos da combustão incompleta, como é o oxydo de carbono, o que nunca acontece. Nos animaes o anhydrido carbonico e a agua não podem considerar-se provenientes d'uma oxydação directa; os musculos contrahem-se em uma atmosphera de hydrogeno, emittindo anhydrido carbonico; o sangue venoso que sahe d'um musculo, contrahido muitas vezes, contém menos agua do que o sangue arterial que entra nos seus capillares. E menores são ainda as probabilidades a favor da hypothese d'uma oxydação *immediata;* durante a actividade d'um musculo nunca o anhydrido carbonico emittido é proporcional ao oxygeno que elle absorve.

Fundado em factos d'esta ordem, Cl. Bernard põe de parte a idêa d'uma oxygenação directa pela só intervenção do oxygeno, não admittindo até, como dissemos que a maioria dos physiologistas suppõem, que este gaz determine pela sua acção individual desdobramentos complicados, cujos ultimos termos sejam as mais simples combinações oxygenadas do carbono e do hydrogeno. Ha uma outra ordem de agentes que deve intervir em todos estes casos. São os fermentos, capazes de actuar conjunctamente sobre as substancias da cellula e o oxygeno absorvido, fazendo-

lhes experimentar a serie de desdobramentos, que sem duvida têm logar.

Os futuros trabalhos de chimica biologica darão o criterio d'esta hypothese, sobre uma funcção que para Cl. Bernard é completamente obscura. Somos incompetentes para discutir os argumentos que o celebre physiologista formúla; comtudo deve notar-se que já ha muito tempo Boussingault mencionou o oxydo de carbono entre os productos formados durante a germinação, e que em certas plantas monocellulares incolores, onde as causas d'erro são em menor numero, se observa frequentemente uma perfeita proporcionalidade entre o oxygeno absorvido e o anhydrido do carbonico exhalado. Ainda assim isto não invalída a hypothese de Cl. Bernard. Nos vegetaes ha phenomenos em que a acção dos fermentos é evidente: Boehm verificou que uma planta fresca, introduzida em uma atmosphera completamente privada de oxygeno, continúa a emittir anhydrido carbonico, o que attribuiu a uma fermentação effectuada na cellula morta; Dehérain e Landrin mostraram que, se durante a germinação de uma semente se evitar o seu contacto com o oxygeno, continúa a dar-se a producção de anhydrido carbonico, de modo que a quantidade total d'este gaz, no fim da experiencia, é muito superior á que seria produzida com a primitiva porção de oxygeno que foi ministrada á semente. Deve dar-se aqui tambem uma fermentação interior.

A corrente actual das idêas scientificas presta um certo auxilio á opinião de Cl. Bernard. Os modernos estudos sobre a fermentação têm mostrado a grande generalidade das acções d'esta natureza. Desde a fermentação alcoolica até á putrefacção está conhecido um grande numero de decomposições de diversas substancias, devidas a uma multidão de seres microscopios mono-

cellulares. Pasteur e muitos outros demonstraram que este poder de decomposição se estende ás cellulas dos vegetaes superiores, as quaes em condições convenientes actuam como verdadeiras cellulas de fermento.

Comtudo, ainda sem a consideração da completa semelhança que hoje tende a estabelecer-se entre as cellulas-fermentos e as dos tecidos dos vegetaes multicellulares, e que contribue para tornar mais natural e acceitavel a hypothese de Cl. Bernard, tem de attender-se de preferencia á classe dos fermentos soluveis, que, como já dissemos, acompanham sempre o protoplasma. A elles se referiu Cl. Bernard. Como já noutro ponto dissemos, podem produzir desdobramentos moleculares seguidos d'uma hydratação; é possivel portanto que influam directamente nos phenomenos chimicos que acompanham o acto respiratorio.

Esta serie complexa de reacções é concomitante com a propriedade caracteristica e exclusiva do oxygeno de ser o excitador dos phenomenos vitaes. Nenhum outro corpo a possue. Será a sua influencia vital uma consequencia d'aquelles phenomenos chimicos, ou dar-se-ha o contrario?

Todas as acções chimicas que o oxygeno determina devem produzir calor, origem da elevação de temperatura observada. Isto é evidente, quer supponhamos que elle produz oxydações directas, ou, o que é o mesmo, uma combustão interior na cellula, quer se ache necessaria a intervenção dos fermentos. «Estas fermentações, diz Cl. Bernard, são o equivalente dynamico das combustões....» O calor produzido communica-se ao protoplasma, a todas as substancias contidas na cellula, animando as suas moleculas da força viva, de que carecem para experimentarem a sua evolução chimica. Sob este ponto de vista é innegavel que os phenomenos chimicos são indispensaveis para que a cellula viva,

E para muitos physiologistas o papel do oxygeno é este sómente: determina pela sua acção directa decomposições successivas, a que correspondem outras tantas rupturas de equilibrio chimico, origem de todo o movimento interior da cellula.

Para Cl. Bernard a acção do oxygeno não depende dos phenomenos chimicos a que dá logar; deve explicar-se d'outra maneira. Abandonando a idêa de uma oxydação immediata, suppõe que elle actua simplesmente como agente excitador: o oxygeno determina a manifestação das propriedades vitaes do protoplasma, logo que se acha em contacto com elle. Assim, acontece que as celhas vibrateis se movem ou deixam de mover-se quando aquelle gaz existe ou não na sua atmosphera; neste caso suppõe Cl. Bernard que ha uma simples acção de contacto. Devemos porém observar que a causa do movimento, isto é, da contractilidade do protoplasma ainda não é bem conhecida; achamos por isso que uma hypothese não verificada não póde comprovar uma theoria, como a que propõe. É possivel até que nos phenomenos de movimento intervenham acções chimicas.

Comtudo a opinião de Cl. Bernard tem a vantagem de tornar mais preciso um ponto que a generalidade dos physiologistas deixa ficar obscuro. A acção primeira do oxygeno deve produzir-se sobre o protoplasma, e não sobre o conjuncto de todas as substancias contidas na cellula. Com effeito, o protoplasma é entre todas ellas a que possue a maior instabilidade molecular, e por isso aquella que mais rapidamente deve ser modificada pela acção do oxygeno. Demais, é o unico corpo que manifesta as propriedades vitaes, e o oxygeno o unico tambem que determina esta manifestação. Por isso a sua influencia directa sobre o protoplasma deve considerar-se a condição inicial para que este exerça a sua actividade.

Desconhece-se o modo como o oxygeno actua. Se adoptassemos a opinião de Cl. Bernard, podiamos admittir que os movimentos vibratorios dos atomos do oxygeno, communicando-se aos da molecula albuminoide, alteram continuamente o seu equilibrio tornando-a mais instavel e por conseguinte mais activa. Mas não comprehendemos o que sejam acções de contacto; preferimos suppôr que a molecula albuminoide é decomposta, communicando-se ás restantes moleculas não modificadas um augmento de força viva, proveniente do calor gerado na reacção. As modificações produzidas dependem essencialmente da natureza especial do oxygeno. Nenhum outro corpo se encontraria egualmente apto para desempenhar esta funcção. Dotado d'uma mobilidade molecular enorme e da propriedade de effectuar as mais variadas combinações, o oxygeno leva ao seio da cellula, associada a uma grande energia, uma affinidade chimica notavel para todos os elementos simples que ahi se encontram, exceptuando o azoto, origem do equilibrio pouco estavel da molecula protoplasmica.

Entrando em combinação o oxygeno póde formar parte integrante dos principaes orgãos da cellula. Por isso desempenha uma dupla funcção como agente respiratorio e elemento nutritivo. É possivel que as substancias que se suppõe resultarem da sua acção durante o acto da respiração contribuam em parte para a construcção da cellula; parece até que alguns dos corpos que nesta se encontram têm essa origem. Convem pois não confundir estas duas funcções, que são de distincta natureza.

Esta singular propriedade, em virtude da qual o protoplasma tem necessidade constante da excitação produzida pelo oxygeno para funccionar como substancia viva, e que constitue a condição chimica geral da existencia dos organismos, tanto animaes como vegetaes, coincide com um facto a que já nos temos referido: a

analogia de propriedades e composição de todas as materias proteicas. A atmosphera, que involve todos os organismos, contém um só elemento excitador, ao qual corresponde nos seres vivos um protoplasma de composição pouco variavel. Eis a razão por que esta substancia tão instavel, ao mesmo tempo que experimenta uma infinidade de pequenas variações, nunca ultrapassa certos limites, além dos quaes deixaria de responder á acção vivificadora do oxygeno. Se o protoplasma, para desempenhar as suas funcções, não necessitasse d'este estimulo, poderia variar de tal maneira que o parentesco existente entre todas as cellulas vivas desapparecesse inteiramente. Mas não só as cellulas comparadas entre si, uma cellula unica estaria sujeita a identicas variações. Tiraremos pois d'aqui uma consequencia importante: o phenomeno respiratorio é a condição da *hereditariedade*, a qual representa a faculdade, que possuem os organismos, de transmittirem por via de reproducção as suas qualidades aos seus descendentes.

Toda a importancia que temos dado a este phenomeno perderia o seu valor se chegasse a comprovar-se a seguinte opinião de Pasteur: *a fermentação é a consequencia da manifestação da vida, quando esta se effectua sem o contacto do oxygeno.*

Pasteur admitte que as cellulas-fermentos exercem a acção especial que as caracterisa, porque têm necessidade de absorverem o oxygeno existente na substancia fermentescivel para respirarem á sua custa. A levadura de cerveja, que decompõe o assucar em alcool, anhydrido carbonico, glycerina, acido succinico e oxygeno, respira á custa d'este gaz, tornando-se apta para nutrir-se, reproduzir-se, etc. O fermento póde exercer as suas funcções vitaes sem o contacto do oxygeno livre; e só neste caso

o considera Pasteur um verdadeiro fermento. Quando a cellula se acha em contacto do oxygeno vive tambem; mas então o seu *poder* como fermento diminue, pois que não é obrigada a roubar este corpo á substancia onde se encontra em combinação. Por isso a levadura vive indifferentemente ao contacto do ar, ou sem esse contacto. No primeiro caso é analoga a todas as cellulas que respiram o oxygeno livre; no segundo não, é exclusivamente fermento. E assim acontece com outros organismos que têm propriedades analogas, os quaes são *aérobios* ou *anaérobios*, segundo vivem ou não em contacto com o ar. Mas, além d'isto, admitte ainda Pasteur que muitos Vibriões, que se desinvolvem nas materias putresciveis, são exclusivamente anaérobios, porque não só podem viver sem oxygeno, mas são mortos por elle.

Desejamos evitar a confusão que involve a discussão d'estas idêas. Não se fundam ellas em factos irrefutaveis. Ainda ha pouco tempo Béchamp, estudando cuidadosamente a influencia do oxygeno sobre a fermentação pela levadura de cerveja, chegou á seguinte conclusão: «.... se é difficil demonstrar que a fermentação alcoolica póde começar, continuar e terminar sem o concurso effectivo do oxygeno livre, é pelo contrario muito facil provar que o oxygeno, no seu estado ordinario, é favoravel á producção regular do phenomeno....»

É sobre a levadura de cerveja que tem recahido o maior numero de investigações.

Para ser exacta a theoria de Pasteur necessita em primeiro logar de ser coherente com todas as leis physiologicas conhecidas, em segundo logar de ser coherente com os factos a que se refere.

Nenhuma das duas coisas acontece.

É um phenomeno geral o da respiração. Quando um orga-

nismo não respira, deixa de exercer as funcções vitaes; por outras palavras, a respiração é um phenomeno primario, condição de todos os outros. As cellulas da levadura, que é um cogumelo do genero *Saccharomyces*, são analogas pela sua composição e pelas suas funcções a todas as cellulas incolores. Distinguem-se apenas porque nas funcções de nutrição soffreram uma adaptação a uma determinada ordem de alimentos; comtudo não se affastam de tal maneira das cellulas dos vegetaes superiores, que estas não possam (as dos fructos, por exemplo) em muitos casos funccionar como cellulas de fermento. Tudo depende das variações que soffre o meio em que se acham. Ora, não se comprehende como é que as variações do meio, ainda que entre ellas se conte a falta do oxygeno, podem determinar tão grande mudança no protoplasma da cellula, que elle continue a viver sem o auxilio do oxygeno livre, invertendo-se completamente a importancia relativa das funcções. A levadura respira com grande actividade no oxygeno livre; manifesta então grande energia como fermento, decompondo o assucar que lhe fornece o alimento hydrocarbonado. Supponhamos que lhe é roubado completamente o oxygeno: então admitte Pasteur que ella continúa a viver decompondo o assucar para respirar á custa do oxygeno combinado. Neste caso a funcção nutritiva (decomposição do assucar) effectua-se antes do contacto directo com o oxygeno, e, ainda que se attribua á necessidade d'este contacto a decomposição da substancia hydrocarbonada, nem por isso deixa de ser evidente que esta se effectua em virtude d'uma actividade especial, independente do phenomeno respiratorio.

Mas nem os factos apoiam a explicação de Pasteur. Como diz Schützenberger, se tal fosse a causa da fermentação, nunca esta devia produzir-se, ou pelo menos devia ser quasi nulla em

presença do oxygeno. Acontece o contrario. O proprio Pasteur verificou que, sem o contacto d'este gaz, a *fermentação é muito lenta;* e que nas condições oppostas a *fermentação é muito rapida.* No primeiro caso a energia vital é muito menor do que no segundo. Como vimos a principio, Pasteur tem uma opinião contraria a esta. Distingue o *poder* do fermento da *actividade* vital que lhe é communicada pelo oxygeno. Mede o *poder* do fermento pela relação que existe entre o peso do assucar decomposto e o da levadura formada, independentemente do tempo decorrido. Sendo assim, o *poder* do fermento é maior sem o contacto do oxygeno, do que no caso opposto, porque naquellas condições é menor a quantidade de levadura que se fórma. Schützenberger attende de preferencia á quantidade de assucar decomposta na unidade de tempo, a qual augmenta com a actividade vital, manifestada pela actividade respiratoria e reproductora, e obtem d'este modo a *actividade* ou *energia da levadura como fermento.* Achamos que é indispensavel considerar o elemento tempo.

Torna-se bem evidente a influencia directa do oxygeno.

Como muito bem diz Schützenberger, a respiração e a fermentação são dois phenomenos de distincta natureza. Dependem um do outro, pela simples relação que liga entre si todos os phenomenos do organismo: a cellula nutre-se e reproduz-se com tanta maior energia, quanto mais facilmente respira; e, vice-versa, respira com tanto maior actividade, quanto mais favoraveis são para o seu desinvolvimento as condições do meio em que se acha. Para a cellula do *Saccharomyces* uma d'essas condições é a existencia do assucar, substancia indispensavel para o seu desinvolvimento normal.

A conclusão mais natural do que temos dito é que as cellulas da levadura não devem poder viver num meio que não contenha

oxygeno livre. É o que muitos physiologistas e chimicos hoje admittem.

Todavia, suppondo que se tem obtido o seu desenvolvimento naquellas condições, parece-nos que á interpretação de Pasteur se póde substituir outra em harmonia com a natureza do phenomeno respiratorio, como funcção inicial entre todas as acções vitaes. Nas experiencias que se têm realisado, o meio em que vive o *Saccharomyces* perde gradualmente o seu oxygeno, até que, segundo Pasteur, fica completamente desprovido d'elle. Sob a influencia d'este corpo tem a planta até então conservado a propriedade de decompôr o assucar. No momento em que o oxygeno tende a desapparecer, a ultima fracção que ainda resta actua sobre o protoplasma e obriga-o a decompôr parte da substancia hydrocarbonada. D'esta decomposição, que é ainda devida á acção do oxygeno livre, resulta uma pequena quantidade d'este corpo, que se acha em presença da levadura, sobre a qual necessariamente exerce a influencia propria do oxygeno. O fermento continúa a decompôr o assucar, mas deve fazel-o com muito menor energia, em virtude da pequena proporção do agente excitador. Concebe-se, pois, que a decomposição seja determinada sempre pelo contacto directo do oxygeno livre, e comprehende-se a diminuição de actividade que a levadura experimenta. E isto póde dar-se em condições taes que o oxygeno, absorvido logo depois de formado, se não torne sensivel á observação.

Da mesma maneira se explicariam outros casos de fermentação que se produzem já na presença, já na ausencia do oxygeno. Tudo se reduziria a uma verdadeira lucta pela existencia, como diz Cohn. Estes organismos ter-se-hiam adaptado a viver com pequenissima quantidade de oxygeno, constituindo então os seres impropriamente chamados *anaérobios*.

Apesar d'isto, note-se que Pasteur ainda admitte que ha individuos essencialmente anaérobios. Durante a putrefacção desinvolvem-se a principio algumas especies de bacterias, que absorvem todo o oxygeno dissolvido no liquido e se reunem depois á superficie, formando um espesso véu isolador. Apparecem depois no interior do liquido outras especies do genero dos Vibriões, que seriam mortos pelo oxygeno livre, mas que se desinvolvem naquellas circumstancias, roubando este corpo ás materias fermentesciveis que decompõem. Assim se produz a putrefacção. Estes ultimos organismos são para Pasteur completamente anaérobios. Não poderemos pois, se é verdade que morrem na presença do oxygeno livre, fazer a seu respeito a mesma hypothese que expozemos com relação á levadura.

Comtudo um grande numero de observadores actuaes oppõem-se ás idêas de Pasteur, admittindo que todos os generos de fermentos necessitam para viver da influencia d'aquelle gaz.

Béchamp, já vimos, acha que é difficil demonstral-as pela experiencia; Schützenberger, ainda que um pouco indeciso, entende que não têm uma base solida.

Hoffmann cita as suas experiencias, dizendo: «Estes pequenos seres não podem viver sem ar, isto é, sem oxygeno; se este gaz lhes falta, deixam de se mover e de se multiplicar.» E expõe os factos comprovativos que observou em muitas bacterias.

Grimm chegou á mesma conclusão: o ar atmospherico em pequena ou grande quantidade é sempre necessario á existencia das bacterias.

Cohn exprime-se assim: «É fóra de duvida que o desinvolvimento completo dos *Bacillus*, e sobretudo a sua reproducção por meio de sporos, não se produz sem a influencia do accesso livre do ar.»

Gunning, fundando-se nas suas experiencias, affirma que nenhum organismo póde viver sem oxygeno.

Finalmente Toussaint, num trabalho inedito citado por Magnin, confirmou os factos observados por Hoffmann: o oxygeno influe necessariamente determinando o crescimento e a reproducção d'estes pequenos organismos.

Portanto, tudo se encaminha a desmentir a theoria de Pasteur. A differença entre as diversas especies de bacterias consiste na faculdade de viver com grande ou pequena quantidade de oxygeno livre. Sem a acção d'este gaz morrem. Nas putrefacções os Vibriões são os organismos que melhor se adaptam ao meio interno, em que ha pouco oxygeno; avantajam-se pois ás outras bacterias que vêm buscar esse gaz á superficie. Eis duas fórmas que se differenciaram na lucta pela existencia.

Entendemos que estas idêas serão confirmadas. No entanto conservaremos, como um modo de ver intermediario entre a opinião de Pasteur e as que deixamos apontadas, a hypothese que ha pouco apresentámos: o ser anaérobio distingue-se do aérobio, porque, sob a influencia d'uma pequena proporção de oxygeno, adquire uma actividade que lhe permitte decompôr as substancias nutritivas, dando origem a uma quantidade d'este gaz, sufficiente para determinar a continuação d'essa actividade.

Apezar da influencia do oxygeno como excitador dos phenomenos vitaes, estes sómente se effectuam emquanto o protoplasma conserva a sua estructura e mobilidade, o que depende de duas condições physicas principaes — a agua e o calor.

A agua entra directamente na sua constituição, e tem por isso uma influencia directa em todas as suas funcções. O calor é na-

turalmente um agente que intervem em todos os phenomenos materiaes: não tem sobre o protoplasma uma acção diversa da que exerce sobre outros corpos; é uma condição da vida, como o é de todas as acções chimicas, quer se produzam nos organismos, quer nos laboratorios.

Agua.—O protoplasma das sementes não contém agua; conserva-se por isso inactivo. Logo que absorve o elemento liquido, a molecula proteica adquire a sua mobilidade propria, e a fluidez da massa torna-a sensivel aos agentes externos. Só então começa a semente a germinar.

Nos vegetaes superiores os effeitos devidos á privação ou demasiada quantidade d'agua absorvida são muito complexos, pelos phenomenos chimicos de destruição organica que os acompanham. Nas cellulas isoladas, ou, ainda melhor, nas plantas monocellulares são de mais facil observação. Necessaria para a construcção do protoplasma, a agua intervem em todas as suas funcções. A cellula de levadura não se nutre, nem se reproduz senão entre os limites da hydratação representados por 40 e 80 por cento d'agua. Fóra d'elles deixa de ser activa. Nenhuma cellula se move quando privada inteiramente d'este liquido. Como não desejamos estudar a sua influencia sobre phenomenos especiaes, basta que notemos que a vida da cellula nunca se realisa senão em certas condições de hydratação. Quando o protoplasma absorve grande quantidade d'agua, é destruido e toma o estado de corpo colloide. Se é artificialmente dessecado com precaução, perde temporariamente as suas propriedades vitaes, que readquire quando humedecido de novo. Póde perdel-as completamente, se a dessecação se prolongar durante certo tempo. Comtudo a resistencia á

dessecação varía com a natureza da cellula: muitos sporos tornam-se notaveis sob este ponto de vista.

Prende-se, em parte pelo menos, com a proporção d'agua necessaria para a cellula funccionar, a explicação da alteração que os anesthesicos produzem sobre os organismos. Citaremos Cl. Bernard: «Penso que esta modificação consiste numa especie de coagulação. O ether coagula o protoplasma do elemento nervoso; coagula o conteúdo da fibra muscular e produz uma rigidez analoga á rigidez cadaverica. No estado physiologico, os tecidos e os elementos dos tecidos não podem manifestar a sua actividade senão em condições de humidade e de semi-fluidez especiaes. Assim, durante a vida, a substancia muscular é semi-fluida; se este estado physico deixa de existir e se ha coagulação, a funcção suspende-se: como, por exemplo, quando a agua se congela, cessam as suas propriedades mechanicas até que readquira o seu estado fluido.»

Se o protoplasma, depois de anesthesiado, póde recobrar as suas propriedades, forçoso é admittir que a estructura da sua molecula não foi destruida; parece, em vista do que diz Cl. Bernard, que deve attribuir-se a sua modificação á subtracção da agua.

É de grande importancia esta opinião.

Nem todas as funcções da planta são anesthesiadas: está neste caso a da formação do assucar, assim como todas as que dependem dos fermentos soluveis. Estas são para Cl. Bernard puramente *chimicas;* continuam ainda depois de morto o protoplasma. Mas, por exemplo, a formação do amido, os movimentos do protoplasma, etc., deixam de produzir-se pela acção dos anesthesicos: são funcções *physiologicas.*

Se os anesthesicos actuam roubando a agua á substancia viva, é evidente a influencia directa d'aquelle liquido sobre as funcções que deixaram de effectuar-se. D'esta maneira obtem-se uma relação mais precisa entre a estructura particular do protoplasma e algumas das suas propriedades, sendo possivel que o differente caracter das funcções chimicas e das funcções physiologicas proceda de que estas ultimas se effectuam sómente em determinadas condições physicas, devidas á influencia da agua.

Calor.—Neste caso os nossos conhecimentos são mais exactos do que no anterior.

Todos os phenomenos da cellula se produzem dentro de certos limites de temperatura, passados os quaes deixam de realisar-se. O calor de que necessitam é devido não só ás acções chimicas que os precedem, entre as quaes occupam o principal logar as que dependem da influencia do oxygeno, mas sobretudo á temperatura do meio externo.

O que acontece para cada funcção particular, repete-se para o integral de todas ellas, a vida: existem sempre dois limites, maximo e minimo, além dos quaes a cellula deixa de viver. Ambos são muito variaveis, quer se considerem dois individuos isolados, quer se attenda a orgãos distinctos d'um só individuo pluricellular.

Uma temperatura muito elevada coagula o protoplasma, assim como todas as materias proteicas. A media extrema de calor a que todas as cellulas succumbem é de 50°; mas já a 45° é destruido o protoplasma de muitos pellos e algumas especies de bacterias. Pelo contrario, em certas aguas thermaes vegetam algumas plantas inferiores a altas temperaturas; em Carlsbad encontrou Cohn a *Leptothrix lamellosa* vivendo a 54°, e algumas

Oscillarias a 44°; em Ischia descobriu Ehrenberg as *Eunotia* e as *Oscillatoria* supportando 85 gráus de calor. As bacterias do genero *Bacillus* resistem á temperatura de 80°, com quanto não possam desempenhar então as suas funcções. Alguns sporos, ainda depois de soffrerem um calor de 100, 110 e 130°, conservam, dizem Schwann, Pasteur e Schrader, a propriedade de germinar.

A acção do calor depende da quantidade de agua que as cellulas encerram. Muitas sementes seccas, que a 70° conservam a propriedade de germinar, morrem, como mostrou J. Sachs, á mesma temperatura, quando embebidas em agua. O mesmo auctor verificou que as plantas morrem, em virtude da elevação de temperatura, mais rapidamente na agua do que no ar.

A influencia d'um grande abaixamento de temperatura varía particularmente segundo a rapidez com que se produz. A temperatura d'uma planta póde descer lentamente alguns gráus abaixo de zero, sem que a planta soffra com isso; quando depois volta ao seu primitivo estado, é necessario que seja gradual a elevação de temperatura, porque um augmento rapido mata-a.

O resultado do arrefecimento excessivo é geralmente a congelação do succo cellular. Certas plantas, tanto cryptogamicas como phanerogamicas, parece que nunca congelam; outras, sujeitas a temperaturas que podem variar entre —4.° e —25°, experimentam a congelação de todos os seus liquidos, continuando a viver, quando por uma elevação gradual de temperatura o degelo se produz lentamente. Entre as plantas monocellulares citaremos as bacterias, cujo poder de resistencia ao frio excessivo é enorme. Frisch fez descer a temperatura do liquido que as continha até —87°, sem destruir a sua vitalidade. Apezar d'isto, Schumacher mostrou que todas ellas morrem, se a varia-

ção de calor é rapida. Ch. Martins observou os liquidos congelados no interior das cellulas, e verificou como são inoffensivas as transições continuas e regulares para as baixas temperaturas, e inversamente. Diz a este respeito: «Observava a formação do gelo nas cellulas, sem que estas soffressem uma ruptura. O *Narcissus Tazetta,* no jardim de Montpellier, gelava todas as noites durante o inverno e degelava de manhã, mas continuava a florescer.»

Não são bem conhecidas as modificações que o frio faz experimentar ao protoplasma. Parece que umas vezes este se dissocia em pequenas massas distinctas, e outras conserva a sua fórma até que se decompõe. Mas o que sempre se dá, quando a temperatura desce, é a sahida de grande parte do succo cellular, que abandona a cellula por exosmose; foi o que observou Naegeli nas cellulas da *Spirogyra orthospira.*

É indubitavel que a agua influe notavelmente sobre todos os phenomenos devidos á acção dos extremos de temperatura. J. Sachs explica esta influencia para o caso d'um frio excessivo, suppondo que no momento da congelação as moleculas do protoplasma e as da membrana perdem a sua attracção para a agua, que é obrigada a separar-se, produzindo a desorganisação d'aquelles orgãos: a membrana torna-se menos densa, mais porosa, e deixa-se atravessar por grande parte do liquido interior, que se deposita em cristaes na sua face externa; a parte restante coagula-se no interior da cellula, se o frio é sufficientemente intenso. No momento do degelo tendem o protoplasma e a membrana a ligar-se moleculamente á agua, que á medida que se liquefaz penetra na cavidade cellular; para que a cellula não seja destruida é necessario que a proporção em que este liquido se accumula na membrana, no protoplasma e no succo cellular, seja

normal. Isto que é possivel quando o degelo é lento, nunca acontece quando elle se faz bruscamente.

Esta theoria explica não só a necessidade do degelo gradual, mas ainda a differença dos effeitos observados, quando varía a quantidade d'agua que nas cellulas existe. É evidente que, quanto menor esta fôr, menor é tambem a alteração que a cellula soffre a baixas temperaturas, e do mesmo modo varía a probabilidade de ser destruida. As sementes seccas resistem facilmente aos frios excessivos e ás bruscas variações de temperatura; as que são ricas em agua, não: existe a mesma differença entre duas partes d'uma planta, uma dura e secca e a outra aquosa.

Em todos estes casos a substancia que decide da conservação da cellula é o protoplasma.

Para J. Sachs a morte da cellula por excessivo calor depende em parte tambem d'uma alteração de propriedades physicas, devida á acção da agua.

Em conclusão: os factos que apontámos apresentam-nos uma variabilidade enorme na faculdade de adaptação do protoplasma ás condições thermicas. Desde o limite de—87° até 130°, a materia viva offerece exemplos de resistencia á destruição. A acção da agua é innegavel em todas as experiencias effectuadas; demais, sem attendermos ao protoplasma vegetal, basta considerar o que acontece com as substancias proteicas em geral: «As materias albuminoides soluveis na agua, diz Bouchardat, dessecadas, podem ser aquecidas até 100 gráus, sem perderem a propriedade de se dissolverem de novo, emquanto que uma temperatura de 80 gráus basta para as transformar em productos insoluveis, quando ficam em presença de vestigios de humidade.»

Mas sobretudo no caso d'um frio excessivo parece que a agua

actua mechanicamente. A necessidade do degelo lento indica que não só a agua deve distribuir-se por todas as partes da cellula em proporção normal, como diz Sachs, mas que é necessario que decorra algum tempo para que o agrupamento das moleculas protoplasmicas não seja destruido. Isto vae de accordo com a theoria plastidular, que admitte na materia viva uma estructura recticulada.

Além da agua e do calor, outros agentes actuam sobre a cellula, destruindo-a.

A electricidade, por exemplo: uma corrente electrica muito intensa mata o protoplasma; as correntes induzidas actuam mais energicamente do que as correntes constantes.

As cellulas aquosas succumbem muito mais depressa do que as cellulas seccas; nas primeiras a corrente electrica propaga-se facilmente, o que se não dá nas cellulas onde a agua não existe, ou existe em pequena quantidade.

Os effeitos produzidos pelas correntes electricas sobre o protoplasma são analogos aos que produz o calor ou o frio. O protoplasma, segundo Brücke, emitte prolongamentos, que, se a intensidade da corrente augmenta, se desaggregam, fraccionando-se toda a massa proteica, assim como a camada membranosa.

Exceptuando estes casos extremos em que a acção da electricidade é fatal para o organismo, a sua influencia póde indubitavelmente ser favoravel ao desinvolvimento da planta. Consegue-se, por exemplo, que certas sementes germinem mais cedo do que habitualmente acontece, electrisando-as; nestas condições a planta desinvolve-se rapidamente, tornando-se mais vigorosa. As correntes electricas podem ainda apressar a maturação dos fructos.

Nestes e noutros casos semelhantes a electricidade, como o calor, favorece a elaboração interior da cellula; comtudo, apezar da importante influencia que deve exercer nas funcções vitaes, está ainda muito pouco estudada sob este ponto de vista.

Referindo-nos á acção do calor, pudémos affirmar que todas as funcções das plantas se verificam exclusivamente entre dois limites de temperatura, variaveis com as funcções e a natureza do vegetal. Julgamos desnecessario dar exemplos justificativos; os dados numericos utilisamol-os sómente para estabelecer os limites em que a materia viva não é destruida. A acção dos agentes physicos sobre funcções particulares, mencional-a-hemos no seguimento d'este trabalho, quando isso se tornar necessario. Todos os outros agentes de que podiamos occupar-nos, por exemplo, os reagentes chimicos, exercem acções tão especiaes que nenhum interesse temos em referil-as.

Mencionaremos finalmente uma condição que influe na actividade do protoplasma; é a pressão atmospherica, e em geral os gazes comprimidos. Se se sujeitar um liquido em putrefacção á pressão de 24 atmospheras, a putrefacção cessa immediatamente. Se a atmosphera sómente for constituida por oxygeno, o augmento de pressão dá resultados analogos. As sementes perdem neste caso a propriedade de germinar, e podem até ser mortas, se o gaz for muito comprimido. No caso opposto, isto é, quando a pressão é muito fraca, nunca são totalmente destruidas; ficam apenas impossibilitadas de germinar, emquanto a pressão não augmenta.

II

Nutrição cellular é o conjuncto de phenomenos que contribuem para a formação do protoplasma e da membrana cellulosica. O protoplasma suppre pela constante elaboração de novos principios albuminoides as perdas materiaes que soffre durante o acto respiratorio; além d'isto a sua massa augmenta, experimentando um crescimento em todas as direcções. A membrana cellular experimenta outro crescimento correlativo com o do protoplasma que a construe e com o da cavidade cellular, quando esta se torna maior pela accumulação do liquido dos vacuolos.

O acto physiologico que immediatamente determina o phenomeno nutritivo chama-se *assimilação*, phenomeno em virtude do qual os principios immediatos elaborados pelo protoplasma se unem e tornam identicos aos das formações organisadas. Antes de se realisar esta ultima operação, os elementos nutritivos convertem-se em productos variados, resultantes d'uma serie de reacções que no seu conjuncto designaremos pelo nome geral de *transsubstanciação*.

J. Sachs designa exclusivamente pela palavra *assimilação* a producção das substancias organicas effectuada na chlorophylla «á custa da agua e do acido carbonico e com o auxilio d'outros compostos nutritivos»; para todas as outras metamorphoses que experimentam os corpos assim gerados reserva o nome de *transsubstanciação*. Nós seguimos o exemplo de Lanessan, dando áquelle primeiro termo a accepção em que primeiramente o tomámos e com que tem sido empregado pelos physiologistas. A funcção chlorophyllina é simplesmente um facto de synthese,

para o qual não julgamos necessaria uma denominação especial. Incluimol-o com todas as outras acções chimicas da cellula, anteriores ao acto da assimilação, no grupo dos phenomenos de transsubstanciação.

Esta palavra indica vagamente que os principios elaborados pelo protoplasma atravessam phases evolutivas que os transformam e tornam aptos para desempenharem as suas funcções. O estudo dos phenomenos nutritivos procura relacionar aquellas metamorphoses com o fim a que são destinados os principios que d'ahi derivam e levantar sobre estas bases a theoria geral da nutrição; mas está longe de o conseguir. Na cellula produzem-se combinações, decomposições, fermentações, tudo simultanea ou consecutivamente, d'uma maneira tão complicada, que não erraremos dizendo que na maioria dos casos os physiologistas se acham indecisos sobre a verdadeira explicação do phenomeno que procuram illucidar.

Nem todas as substancias fabricadas pelo protoplasma são reconhecidamente uteis para a nutrição cellular. J. Sachs denomina *substancias plasticas* as que gozam d'esta propriedade. Os outros productos de transsubstanciação desempenham, salvas raras excepções, funcções physiologicas desconhecidas; todavia os modernos estudos sobre as fermentações estão demonstrando que o numero de substancias plasticas é maior do que até aqui se suppunha.

Nesta parte do nosso trabalho tractaremos primeiramente de conhecer quaes são as fórmas de combinação dos elementos nutritivos que podem contribuir para o desinvolvimento das cellulas incolores. As consequencias a que chegarmos permittir-nos-hão determinar a necessidade da funcção chlorophyllina nos vegetaes. Finalmente, depois de termos reconhecido o estado em que os

alimentos podem ser absorvidos pelo protoplasma, tanto no meio externo como na granulação chlorophyllina, tractaremos dos processos pelos quaes se póde admittir que no seio da materia viva são elaborados os compostos albuminoides e a cellulosa.

O protoplasma incolor absorve o *carbono* em varios estados de combinação, entre os quaes são os corpos albuminoides os mais complexos; o *Saccharomyces cerevisiae* semeado num liquido albuminoso nutre-se e multiplica-se. Por outro lado, muitas bacterias se nutrem á custa dos acidos organicos mais simples, tartrico, succinico, acetico e lactico, ou dos seus saes; assim, desinvolvem-se perfeitamente numa solução de tartrato de ammoniaco com pequena quantidade de materias mineraes. Entre os quatro acidos mencionados parece que é o tartrico o mais nutritivo. Na fermentação acetica é o alcool que fornece o carbono ás cellulas do fermento. Exceptuando estes casos particulares, todas as cellulas vegetaes necessitam de que o carbono se ache no estado de compostos organicos complexos, principalmente hydrocarbonados ou gordos; grande numero de organismos monocellulares do grupo dos fermentos vive e reproduz-se nos liquidos assucarados; para alguns é o assucar o alimento hydrocarbonado mais efficaz; as Amylobacterias vivem nos liquidos que contém dissolvidos os elementos do amido. Além d'estes ultimos organismos que só atacam o amido soluvel, Van Tieghem descobriu um *Amylobacter* que reune a esta propriedade, assim como á de se nutrir á custa do assucar, da dextrina e da glucosa, a de dissolver e fazer fermentar a cellulosa das membranas vegetaes; annuncia tambem a existencia de diversos organismos da mesma natureza, adaptados a meios especiaes: «Ha um orga-

nismo que dissolve os grãos d'amido; outro que transforma e saponifica a materia gorda; ainda outro que ataca e torna soluveis as substancias albuminoides.» Cada um d'estes fermentos exerce com exclusão de todos os outros a funcção que lhe é attribuida e porque é caracterisado, mas todos os que atacam as materias hydrocarbonadas se approximam pela propriedade commum de decomporem previamente a substancia fermentescivel em outros productos mais simples, que em ultimo termo se acham sempre transformados em glucosa; de sorte que a cellula que vive num liquido assucarado, como as que fazem fermentar o amido, a cellulosa e as materias gordas, todas se nutrem realmente á custa da glucosa. A acção de cada fermento apresenta portanto duas phases distinctas: na primeira decompõe e dissolve a substancia que lhe fornece o alimento carbonado; na segunda exerce a sua actividade sobre as moleculas glucosicas e fabríca as substancias assimilaveis de que carece.

Nas cellulas incolores que habitam os tecidos dos vegetaes pluricellulares vamos encontrar factos completamente identicos aos que acabamos de citar. O assucar existe em grande numero de plantas; no *Allium Cepa* não existe o amido, que é substituido por um assucar do grupo das glucosas; o amido é a substancia amylacea mais disseminada no reino vegetal; a inulina caracterisa algumas especies; os corpos gordos encontram-se em todos os vegetaes, segundo o affirma J. Sachs; emfim o albumen da Tamareira e d'outras plantas é formado por cellulas, cujas paredes extremamente espessas contêm no estado de cellulosa os principios ternarios ahi accumulados. Estes compostos constituem substancias plasticas da membrana cellular; durante a germinação transformam-se em glucosa e, sob esta fórma soluvel, diffundem-se através dos tecidos da planta, de-

positando-se frequentemente nas cellulas em via de crescimento no estado de grãos d'amido, que ahi se accumulam transitoriamente. Á medida que os materiaes de reserva desapparecem dos reservatorios nutritivos, augmenta o numero de membranas formadas em tal proporção, que a formação da cellulosa não póde ser attribuida senão ás substancias carbonadas que existiam na semente ou outro qualquer reservatorio nutritivo, como são os bolbos e os tuberculos. Com respeito ao periodo posterior ao da germinação é sufficiente notar que das cellulas chlorophyllinas procedem todas as substancias plasticas hydrocarbonadas, diffundidas pelos tecidos conductores da planta, onde experimentam modificações identicas ás que deixámos mencionadas. Entre os dois casos ha apenas a differença de que no primeiro os materiaes se acham accumulados nos reservatorios nutritivos, emquanto que no segundo são constantemente formados de novo e transportados a toda a massa cellular pelas correntes de diffusão; mas não se altera o modo de desinvolvimento da cellula incolor, que em qualquer d'elles recebe o alimento hydrocarbonado no mesmo estado de combinação. As plantas parasitas e humicolas absorvem directamente no logar onde vegetam estas combinações complexas de carbono, quer seja nas plantas nutritivas, quer nos residuos da decomposição d'outros vegetaes.

O protoplasma que não produz chlorophylla nunca realisa a synthese dos orgãos cellulares por meio do anhydrido carbonico; é sempre necessario que o carbono faça parte d'algum composto organico. As glucosas constituem na grande maioria dos casos o ponto de partida para a construcção dos orgãos cellulosicos. Esta conclusão, deduzida dos factos que expuzemos, permittir-nos-ha attribuir funcções nutritivas a substancias que por muitos são consideradas inuteis para a cellula. O tannino, que

no entender de Sachs não tem relações conhecidas com as outras producções da cellula, transforma-se nos fructos em assucar; está pois apto para nutrir a membrana cellular. E, de facto, Van Tieghem observou que o tannino póde alimentar o mycelio de duas Mucedineas, o *Penicillium glaucum* e o *Aspergillus niger*, que o desdobram, hydratando-o, em acido gallico e glucosa; fornece-lhes a substancia hydrocarbonada no estado mais commum de glucosa. O que se verifica para o tannino é de presumir que se dê com relação a outros principios que na cellula são convertidos em materias assucaradas.

O protoplasma nutre-se de compostos do *azoto*, os mais variados pela sua complicação molecular. As plantas carnivoras absorvem directamente as substancias albuminoides nos pequenos organismos animaes que prendem nos seus orgãos exteriores de digestão. Nos reservatorios nutritivos dos vegetaes superiores encontram-se compostos azotados (cristalloides, grãos de aleurona, legumina, caséina, gluten, etc.), que durante a germinação se dissolvem e vão nutrir as cellulas que se formam e multiplicam em outras partes da planta. Em certos casos as materias nutritivas condensam-se sob a fórma de protoplasma. É de crer que para se tornarem diffusiveis soffram todos estes principios importantes modificações; a asparagina e outros corpos de analoga composição estão hoje reconhecidos como fórmas de transporte das materias albuminoides de muitas plantas. Devem ser geraes os factos d'esta natureza; com effeito, as cellulas da levadura, tão semelhantes ás cellulas incolores dos vegetaes superiores, vivem e reproduzem-se com a maxima energia nos liquidos que contêm substancias proteicas diffusiveis, analogas ás peptonas formadas durante a digestão albuminosica, emquanto que a albumina, a caséina e outros corpos colloides do mesmo grupo são

completamente destituidos de propriedades nutritivas. E se notarmos que os factos hoje conhecidos mostram que na digestão vegetal as substancias albuminoides são transformadas em productos peptonicos, como acontece na digestão animal, podemos induzir para todos os casos, admittindo que, assim como os principios hydrocarbonados, as materias azotadas mais complexas se transformam em compostos diffusiveis, que constituem a sua fórma de transporte através dos tecidos das plantas.

Passemos d'estas combinações complicadas para outras mais simples. O azoto póde ser utilisado pelas cellulas vegetaes no estado de urêa, acido urico, guanina, urato de calcio, tartrato e oxalato d'ammoniaco, etc. Cada uma d'estas substancias exerce uma acção mais ou menos efficaz; nenhuma se póde equiparar pelas suas propriedades nutritivas aos compostos peptonicos, o que não deve causar-nos estranheza, porque estes ultimos, muito proximos da constituição molecular dos orgãos protoplasmicos, são os que mais facilmente se tornam assimilaveis, sem exigirem syntheses importantes e perdas correlativas de energia.

Mas o protoplasma effectua syntheses complexas quando se nutre á custa de compostos azotados exclusivamente mineraes, os nitratos, os saes ammoniacaes e o ammoniaco. É bem conhecida a utilidade dos nitratos na vegetação; Cloëz affirma que todo o azoto absorvido pelas plantas se acha neste estado de combinação, e de facto os saes ammoniacaes existentes no solo devem facilmente transformar-se em nitratos. O mesmo auctor sustenta que os compostos, em que entra o ammoniaco, são prejudiciaes á vegetação. A este respeito refere, entre outros, o seguinte facto: Van Houtte, horticultor distincto, desejava apresentar numa grande exposição d'Horticultura uma Nympheacea muito rara; com o fim de a fazer crescer rapidamente, lançou na agua onde

ella vivia uma pequena porção de carbonato d'ammoniaco; decorridos poucos dias, a planta morreu. Não nos parece que d'este facto possa immediatamente concluir-se que são nocivos os saes ammoniacaes; é possivel que a morte da planta fosse devida a outra causa desconhecida. Mas se, com relação ás plantas superiores é impossivel demonstrar, attentas as condições de nitrificação que se acham reunidas no solo, que o azoto no estado d'ammoniaco ou de sal ammoniacal constitue necessariamente um dos seus alimentos, já não acontece o mesmo com as cellulas do *Saccharomyces*. Aqui, pelo contrario, ninguem nega a influencia benefica e directa dos saes ammoniacaes, ao passo que a utilidade dos nitratos é posta em duvida por muitos; segundo Mayer e Schaer o *Saccharomyces* vive com difficuldade nos meios que contêm nitratos; na opinião de Dubrunfaut, desinvolve-se então com grande actividade. Podiamos citar muitos exemplos da utilidade dos saes ammoniacaes para a nutrição dos organismos monocellulares do grupo dos fermentos. O *Micoderma aceti* reproduz-se com energia num meio constituido assim: acido acetico, ammoniaco, acido phosphorico, potassa, magnesia, agua pura e oxygeno.

Pretendem alguns auctores que o azoto é incorporado no protoplasma no estado livre; G. Ville sobretudo tem-se empenhado em demonstral-o, mas até hoje ainda o não conseguiu. Berthelot admitte que o azoto se fixa directamente, sob a influencia da electricidade atmospherica, nos principios immediatos da cellula vegetal. Notou que aquelle gaz é absorvido por algumas substancias organicas (papel e dextrina) quando se submettem á acção da electricidade; todavia as suas experiencias não provam directamente que o azoto seja absorvido no estado livre pelas plantas. Esta hypothese deve ser completamente abando-

nada, porque, não havendo obstaculo algum que obste a que o azoto atmospherico manifeste com toda a evidencia as propriedades nutritivas que lhe attribuem, nada ha de mais impossivel verificação.

O *oxygeno* e o *hydrogeno*, que entram na constituição das materias albuminoides e da cellulosa, existem conjunctamente em quasi todos os compostos nutritivos que temos mencionado; em todos se encontra pelo menos um d'aquelles corpos. O oxygeno é absorvido no estado livre durante a respiração; é muito possivel que alguns dos principios a que a sua influencia dá origem representem materiaes nutritivos dos orgãos cellulares. É no estado de combinação, formando a agua, que o oxygeno e o hydrogeno são absorvidos incessantemente pelo protoplasma incolor, produzindo as hydratações que acompanham os phenomenos de fermentação. Finalmente o oxygeno entra na composição da maior parte das substancias salinas mineraes que a cellula absorve.

Além dos quatro elementos a que nos temos referido, restanos fallar do *enxofre, ferro, phosphoro, potassio, calcio, magnesio, silicio*, etc., que são absorvidos pelas cellulas em combinações salinas, entre as quaes se contam sobretudo sulphatos, carbonatos, nitratos, phosphatos e chloruretos.

Algumas substancias mineraes que, em geral, têm importancia secundaria, actuam por vezes energicamente sobre plantas especiaes; assim, os saes de *zinco* têm uma influencia notavel sobre a reproducção e crescimento do *Aspergillus niger*, como o demonstrou Raulin. O mesmo auctor estudou a influencia que a composição mineral do meio exerce sobre o desinvolvimento d'esta *Mucedinea*, e estabeleceu com rigor um facto importante: um meio artificial, convenientemente preparado, póde ser tanto ou mais favoravel á vegetação do que o meio natural mais fertil.

Reconhecida a acção benefica d'estas substancias na vegetação, o que mais nos interessa saber é o seu papel physiologico. O enxofre faz parte integrante da molecula albuminoide; segundo Dehérain, o mesmo se dá com o phosphoro. Quasi todo o enxofre é absorvido no estado de sulphato de calcio, e parte do phosphoro no estado de phosphato do mesmo metal. Quanto ás funcções do calcio, está averiguado que se combina com o acido oxalico; parece que destroe a influencia nociva d'este corpo, desligando-se ao mesmo tempo dos acidos do enxofre e do phosphoro, que por tal motivo ficam aptos para exercerem a sua acção. Mas parece que o calcio intervem directamente na formação da membrana cellular; sendo assim, não só faz parte d'um producto secundario, sem influencia posterior nos phenomenos nutritivos, como é o oxalato de calcio, mas deve considerar-se um dos factores que contribuem para que a cellulosa adquira a estructura organisada. O potassio é, tanto como o phosphoro, de alta importancia para a cellula; o desinvolvimento da levadura depende necessariamente da absorpção do phosphato de potassio; para outros vegetaes é mais util o chlorureto ou o nitrato; para alguns o potassio chega a ser prejudicial, quando combinado com os acidos phosphorico ou sulphurico. Não podemos precisar a sua acção nas cellulas incolores; nas cellulas verdes está reconhecido que influe sobre a formação do amido de tal maneira, que a chlorophylla é completamente improductiva, se nos principios absorvidos pela planta não entrarem os saes de potassio. Outra substancia, o ferro, é essencial para a formação da chlorophylla; as folhas estioladas, mergulhadas numa solução d'um sal de ferro (chlorureto, sulphato ao minimo, etc.) readquirem promptamente a côr verde. Quando tractámos da chlorophylla vimos que, segundo Verdeil, o ferro existe em grande proporção na

materia verde; dissemos tambem que, no entender de Frémy, o potassio faz parte d'um dos seus principios constitutivos. As funcções physiologicas do magnesio desconhecem-se, apezar da sua importancia para a vida da cellula. Tanto a magnesia como a cal e a potassa combinam-se com o acido silicico que a cellula absorve directamente e depositam-se no interior da membrana. Aquella ultima substancia apparece em grande proporção em certas plantas, especialmente nas Diatomaceas, caracterisadas pelos seus esqueletos de silica. Estes depositos de substancias mineraes na membrana são devidos, segundo alguns auctores, a combinações que as materias inorganicas salinas effectuam com a cellulosa.

Vamos concluir. Representámos num rapido esboço os estados em que são absorvidos os elementos nutritivos; todos, á excepção do carbono, podem ser uteis para a vida da cellula incolor, quando incorporados em simples compostos inorganicos. O protoplasma que não produz chlorophylla faz a synthese dos principios mais complicados, servindo-se do ammoniaco, da agua, do alcool, etc., mas é impotente para condensar o anhydrido carbonico e transformal-o em compostos carbonados complexos; em summa, o carbono é o unico corpo que tem de ser dado ao protoplasma incolor no estado de combinação organica.

A differença entre as cellulas verdes e as que não contêm chlorophylla resume-se em que as primeiras supprem, pela sua actividade, a falta de principios hydrocarbonados complexos que a planta não encontra no meio onde vive.

A chlorophylla realisa a synthese completa dos corpos ternarios da cellula; para alguns physiologistas tem o poder de

fabricar tambem as substancias quaternarias azotadas. Não negamos este ultimo ponto, que todavia julgamos secundario.

Na funcção chlorophyllina cooperam dois factores principaes: a materia verde, caracterisada pelos seus dois principios constitutivos muito instaveis; a luz, que lhes transmitte a força viva das suas vibrações.

Na primeira parte d'este trabalho indicámos a hypothese, segundo a qual Gautier explica a acção reductora da chlorophylla sobre o anhydrido carbonico e a agua pelas transformações chimicas que naquella se effectuam.

É desnecessario lembrar aqui o enorme poder de que dispõem as radiações luminosas, quando determinam combinações e decomposições chimicas, oxydando as materias organicas, reduzindo muitos compostos salinos, produzindo syntheses importantes, como é a do acido chlorhydrico, etc. Um grupo especial de phenomenos, cuja observação se deve a um novo processo imaginado por Tyndall, mostra bem claramente como são delicadas, complexas e energicas as acções chimicas produzidas pela luz, e levanos directamente á comprehensão dos phenomenos que se passam nas cellulas verdes. Tyndall fez incidir um fasciculo de luz electrica sobre os vapores de alguns liquidos organicos (iodureto e azotato d'amylo, etc.) que introduzia, misturados com um gaz, num longo cylindro de vidro de grande base. Sob a acção da luz produzem-se reacções muito variadas, transformando-se a substancia organica em particulas solidas de tal tenuidade, que se conservam suspensas no gaz, diffundindo d'um modo particular a luz que sobre ellas incide. O phenomeno offerece diversos aspectos, que se succedem variando constantemente, indicio seguro de que as vibrações luminosas modificam de contínuo a substancia organica.

As experiencias de Tyndall são sufficientes para mostrar a variedade e delicadeza das reacções que a luz é capaz de originar; mas para o nosso caso têm mais importancia os resultados que Morren [1] obteve, tractando pelo mesmo processo alguns corpos inorganicos. É sobretudo notavel o seguinte: Morren sujeitou á influencia das vibrações luminosas o anhydrido sulphuroso; decorridos oito ou dez segundos o gaz desdobrou-se; parte do enxofre foi precipitado, fixando-se o oxygeno sobre a parte restante do composto primitivo, que ficou transformado em anhydrido sulphurico. «As moleculas de SO^2, diz Morren, não podem supportar o choque dos raios chimicos, cujas vibrações, unicas que sobre ellas actuam, destroem SO^2 para o transformar em S e SO^3.»

Nas plantas dá-se tambem um facto de reducção; CO^2 é transformado em CO. Os phenomenos posteriores affastam-se dos que apresentam os compostos do enxofre, não só pela diversa natureza dos corpos, como pelas complicadas condições que se encontram nas cellulas verdes. Seriam menos differentes se, como o aconselha o auctor que estamos citando, se misturassem ao anhydrido sulphuroso outros corpos, por exemplo o oxygeno e o hydrogeno; então deviam variar muito as reacções.

Ainda se não obteve directamente pela acção da luz a decomposição do anhydrido carbonico e da agua; mas ha outro meio, a platina aquecida á temperatura do rubro branco, que decompõe o primeiro corpo em oxydo de carbono e oxygeno, e o segundo nos seus dois elementos. Posto que neste caso tenham

[1] Este auctor não é o mesmo que citámos a respeito dos fermentos soluveis, Eduardo Morren. O primeiro já em 1873 tinha fallecido; o segundo ainda em 1876 publicou a sua memoria sobre a «Digestão vegetal».

de tomar-se em consideração as circumstancias de calor que acompanham o phenomeno, é certo que a decomposição se não produz sem que a platina emitta raios d'alta refrangibilidade, a mesma para a agua e o anhydrido carbonico.

Nos vegetaes o anhydrido carbonico e a agua soffrem desdobramentos identicos aos da experiencia anterior. As experiencias directas têm recahido sómente sobre a decomposição do gaz carbonico; divergem as opiniões ácerca da refrangibilidade dos raios luminosos que a determinam, não sendo possivel chegar a uma conclusão precisa. Ao passo que Sachs, com a maior parte dos physiologistas, affirma que são os raios vermelhos, alaranjados, amarellos e verdes, mas principalmente os amarellos, que actuam mais energicamente; outros, entre os quaes Bert e Wolkoff, attribuem esta propriedade á luz azul. No entender de Lanessan estas opiniões contradictorias procedem de se não distinguirem uns dos outros actos nutritivos diversos, cada um dos quaes deve effectuar-se em condições differentes.

Ora é para notar que sejam exactamente aquellas mesmas radiações as que sobretudo determinam a transpiração das plantas, como o demonstram os trabalhos de Dehérain e Wiesner. O primeiro observou que a quantidade d'agua evaporada pelas plantas augmenta com a do anhydrido carbonico decomposto, e que a evaporação mais intensa tem logar com a luz amarella ou vermelha: o segundo verificou que «a presença da chlorophylla augmenta consideravelmente a acção da luz sobre a transpiração; que são os raios correspondentes ás riscas d'absorpção do espectro chlorophyllino, e não os raios mais luminosos, os que tornam mais activa a transpiração; emfim que, depois de atravessar uma solução de chlorophylla, a luz exerce uma acção muito fraca sobre a evaporação da agua.» Wiesner, contrariamente a Dehérain,

acha que são os raios azues os mais energicos; mas, amarellos ou azues, os raios são sempre para cada um dos auctores os mesmos que determinam a decomposição do gaz carbonico. Além d'isto, notaram que a transpiração se effectua numa atmosphera saturada de vapor; «comprehende-se facilmente, diz Wiesner, que uma planta possa transpirar no ar saturado, mas unicamente sob a influencia da luz.»

Isto demonstra que as radiações *absorvidas pela materia verde* são as que de preferencia determinam a evaporação da agua. Portanto é natural suppôr que os raios luminosos não só podem ceder á agua certa quantidade de força viva, que se transforma em calor latente de vaporisação, mas, em virtude das condições particulares que se dão na chlorophylla, concorrem para a decomposição das moleculas aquosas. A chlorophylla em presença da luz decompõe a agua, o que em identicas condições acontece com o chloro e com o iodo; comprehende-se que um desdobramento molecular, impossivel sob a acção d'um agente isolado, se opere facilmente com o concurso d'outro agente que tenda tambem a produzil-o. A affinidade chimica da substancia verde substitue em parte as energicas radiações da platina na experiencia que precedentemente referimos.

Posto isto, vejamos como é possivel explicar a formação synthetica das substancias ternarias da cellula.

Em presença da chlorophylla encontram-se a agua e o anhydrido carbonico; por outro lado a experiencia mostra que a absorpção d'estes corpos coincide com a emissão do oxygeno e a formação de assucar, amido ou um corpo gordo; além d'isto, entre estes principios ternarios são as glucosas as que mais geralmente apparecem nas cellulas, como productos de transformação de todos os outros e como elementos para a sua reconsti-

tuição; por conseguinte o ponto a que temos de attender principalmente é a producção da molecula glucosica.

Schützenberger diz que, sempre que o carbono pudér ser momentaneamente posto em liberdade em presença da agua, deve tender a formar-se um corpo hydrocarbonado. Com effeito o mesmo auctor póde produzir «um verdadeiro hydrato de carbono definido, á custa de materias mineraes e por um processo analogo ao que empregam os vegetaes, pois que essencialmente consiste em pôr o carbono em liberdade na presença da agua.»

Nos vegetaes, já por mais d'uma vez o temos dito, o anhydrido carbonico não é decomposto em carbono e oxygeno; ainda assim o facto exposto por Schützenberger tem grande importancia para o estudo da funcção chlorophyllina, porque nada nos impede de attribuir ao oxydo de carbono a propriedade verificada para o carbono. A synthese dos corpos ternarios tantas mais probabilidades tem de realisar-se, quanto mais activo fôr o corpo que resultar da decomposição do gaz carbonico pela materia verde; ora o oxydo de carbono entra mais facilmente em combinação do que o carbono, como o faz notar Wurtz que cita a união directa d'aquelle corpo com o chloro á temperatura ordinaria, assim como a synthese, devida a Berthelot, do formiato de potassio, por meio do oxydo de carbono e da potassa.

Até aqui admittia-se com Liebig que, pela acção das bases mineraes, o anhydrido carbonico e a agua soffriam reducções incompletas, produzindo acidos organicos (formico, oxalico) os quaes, por uma desoxydação ulterior, se transformavam nos aldehydos correspondentes: da condensação d'estes ultimos resultavam os principios ternarios mais complicados. Os dois estados transitorios de acido e de aldehydo são ainda utilisados na nova hypothese de Gautier; a differença está na maneira de explicar o

seu apparecimento [1]. A influencia das bases, hypothese aliás muito justificada se se attender sómente á sua energia chimica, não satisfaz o espirito, porque nem liga as transformações que deve explicar á evolução dos agentes que as produzem, nem mesmo as relaciona entre si.

Na hypothese de Gautier a acção das bases é substituida pela do hydrogeno nascente, as transformações dos corpos ternarios coincidem com as modificações dos dois principios da materia verde; e por isso, ao passo que as radiações luminosas actuam pela sua energia, a chlorophylla estabelece, digamol-o assim, a marcha que devem seguir as reacções.

A chlorophylla verde decompõe a agua, hydrogenando-se:

$$\underset{\text{Chlorophylla verde}}{Khl} + H^2O = \underset{\text{Chlorophylla branca}}{Khl,H^2} + O.$$

A chlorophylla branca encontra «o acido carbonico no estado de hydrato CO^3H^2 e reage sobre elle como um poderoso reductor, dando, segundo todas as probabilidades, acido formico:

$$CO^3H^2 + Khl,H^2 = \underset{\text{Acido formico}}{CO^2H^2} + H^2O + Khl.»$$

Como se vê, Gautier admitte a existencia do hydrato CO^3H^2. Este corpo, se é que existe, deve ter grande instabilidade, porque um pequeno augmento de calor ou decrescimento de pressão o decompõem facilmente em anhydrido carbonico e agua.

[1] Gautier não se refere ao acido oxalico, que no estado livre é prejudicial á vida da cellula.

Ora, como nenhum facto nos auctorisa a admittir necessariamente a sua existencia, preferimos suppôr que os dois agrupamentos, CO^2 e H^2O, estão separados e que a chlorophylla hydrogenada actua directamente sobre o anhydrido carbonico. O hydrogeno nascente tende a combinar-se com o oxygeno para formar agua; mas como o phenomeno se passa em presença da luz, os atomos assim desaggregados precipitam-se uns sobre os outros e unem-se, constituindo uma molecula d'acido formico

$$CO^2 + Khl,H^2 = CO^2H^2 + Khl.$$

A formação do acido formico é facil de admittir, não só porque existe em muitas plantas, mas porque é possivel produzil-o fazendo actuar o hydrogeno nascente sobre o anhydrido carbonico em presença d'um metal alcalino. Assim, na reacção

$$2CO^2 + H^2O + K^2 = CHKO^2 + CO^3KH$$

formam-se o bicarbonato e o formiato de potassio, porque o hydrogeno posto em liberdade, quando o potassio decompõe a agua, ataca immediatamente o anhydrido carbonico.

O acido formico póde em seguida ser reduzido pela chlorophylla, dando aldehydo methylico,

$$CO^2H^2 + Khl,H^2 = \underset{\text{Aldehydo methylico}}{COH^2} + Khl + H^2O$$

ou, sob a influencia da luz, transformar-se neste aldehydo e anhydrido carbonico,

$$2CO^2H^2 = CO^2 + H^2O + COH^2.$$

Gautier inclina-se para este segundo processo, porque certos formiatos aquecidos produzem, entre outros corpos, o aldehydo methylico.

Notemos agora que muitas essencias vegetaes pertencem ao grupo dos aldehydos; comtudo nenhum dos aldehydos de mais simples composição existe nas plantas, o que deve attribuir-se ao grande numero de combinações em que são susceptiveis de entrar. Um dos caracteres que os distingue é a sua pronunciada tendencia para se polymerisarem; por exemplo, o aldehydo methylico triplica a sua molecula e converte-se em *trioxymethylena*. Por conseguinte é natural suppôr que pela acção das radiações luminosas a condensação polymerica se complica ainda mais, e que seis moleculas d'aldehydo se associam para formarem uma de glucosa,

$$6\,CH^2O = C^6H^{12}O^6.$$

Gautier entende tambem que a molecula glucosica procede d'uma condensação d'esta natureza. Mas, achando-se neste ponto, faz uma segunda hypothese, tendente a explicar a formação de grande numero de compostos ternarios que apparecem nas cellulas. Eil-a: Se se attender a que, segundo as experiencias de Boussingault, o volume d'oxygeno exhalado pela planta, inferior na maioria dos casos ao do anhydrido carbonico absorvido, é muitas vezes superior; se se observar além d'isto que, ainda no caso dos volumes serem eguaes, a coincidencia das duas funcções, respiratoria e chlorophyllina, tornaria incertas todas as consequencias que podessem deduzir-se d'esta egualdade; é forçoso admittir que a chlorophylla póde actuar sobre proporções diversas d'anhydrido carbonico e agua, reduzindo-os para dar origem a

compostos differentes. A proporção $\frac{n}{m}$ em que aquelles dois corpos se accumulam em pontos distinctos da massa protoplasmica não é constante; as quantidades d'agua e gaz carbonico reduzidas pela chlorophylla variam «proporcionalmente á quantidade de hydrogeno livre que o raio luminoso accumula num tempo determinado na massa de chlorophylla verde contida na cellula.»

D'um modo geral, a materia verde actua sobre a mistura $nCO^2 + mH^2O$. Dando a n e a m valores determinados, póde explicar-se a formação directa de muitos corpos ternarios por um processo geral de desoxydação. Não nos importamos dos corpos intermediarios que durante a reducção devem porventura produzir-se. Quer sejam unicamente factos de reducção, quer a chlorophylla transporte sobre os productos transitorios, que vae elaborando, o hydrogeno roubado ás moleculas aquosas, augmentando a proporção d'este corpo nas substancias recentemente formadas, quer se dê, emfim, uma successão complicada de transformações, cujo encadeamento se desconheça, attendemos á exclusiva relação entre os termos iniciaes e o resultado ultimo, ligando-os pelo signal de egualdade.

Assim, no caso da formação do aldehydo methylico, todas as equações que apresentamos podem resumir-se, referindo as fórmulas ao mesmo volume molecular, na seguinte:

$$CO^2 + H^2O = COH^2 + O.$$

Portanto a formação da glucosa, que suppozemos resultar da polymerisação do aldehydo, é representada por uma equação de-

rivada da precedente, pela multiplicação de todos os termos por 6:

$$6CO^2 + 6H^2O = C^6H^{12}O^6 + O^6.$$

Expressa d'esta maneira, vê-se que é um phenomeno de desoxydação. O mesmo acontece noutros casos formulados por Gautier. Tomemos $\frac{n}{m} = \frac{3}{4}$, ou $nCO^2 + mH^2O = 3CO^2 + 4H^2O$; neste caso podem theoricamente formar os seguintes corpos conhecidos:

$$3CO^2 + 4H^2O = \underset{\text{Glycol propylico}}{C^3H^8O} + O^9 = \underset{\text{Alcool propylico}}{C^3H^8O^2} + O^8 = \underset{\text{Glycerina}}{C^3H^8O^3} + O^7$$

$$= \underset{\text{Homologo da erytrita}}{C^3H^8O^4} + O^6 = \underset{\text{Homologo da mannita}}{C^3H^8O^6} + O^4.$$

Todos estes compostos se encontram nas cellulas vegetaes. Alterando os coefficientes do primeiro membro obtêm-se misturas differentes a que correspondem diversos alcooes, aldehydos e acidos da serie gorda, podendo até admittir-se, diz Gautier, «que muitos corpos da serie aromatica são produzidos sob a influencia da decomposição directa de $nCO^2 + mH^2O - pO$.»

Encarando d'este modo os factos de synthese realisados pela chlorophylla Gautier não faz mais do que dar nova fórma a outra hypothese formulada por William Gregory sobre o mesmo assumpto. Este chimico percorreu todas as classes de compostos ternarios que apparecem nos vegetaes, admittindo que é possivel concebel-os como formados directamente á custa do anhydrido

carbonico e da agua pelos processos de desoxydação; com effeito as fórmulas d'esses compostos representam exactamente a somma d'um certo numero de equivalentes de CO^2 e HO, menos uma quantidade determinada de oxygeno. A hypothese de Gregory estende-se ás duas series, gorda e aromatica, e comprehende os acidos, os corpos neutros, os oleos, as essencias, as resinas, as camphoras, e finalmente, como ultimo termo da desoxydação, os carburetos de hydrogeno, substancias binarias que o mencionado auctor suppõe devidas ao mesmo processo geral de formação.

Impossibilitados, pelo espaço que seriamos forçados a occupar, de exemplificar o que dizemos, cumpre-nos advertir que nenhuma das substancias ternarias da cellula contém tanto oxygeno, como o que se acha incorporado nas respectivas quantidades de anhydrido carbonico e agua d'onde se suppõe derivarem, e que por isso é sempre possivel represental-as como devidas a desoxydações. Deve todavia notar-se que d'esta possibilidade ao facto real vae uma enorme distancia; não entendemos, e aqui estamos completamente de accordo com Cl. Bernard, que seja logico admittir para essa immensidade de corpos differentes processos tão semelhantes de geração. É verdade que Gregory, como depois Gautier, suppoz que a passagem das substancias mais simples para as mais complicadas se faz gradual e não bruscamente; assim, se ao equivalente do acido citrico se junctarem 6 equivalentes d'agua, subtrahindo-se depois 6 d'oxygeno, obtem-se o equivalente da glucosa, que poderia derivar d'aquelle acido por um processo analogo; ora, apezar de se encontrarem nos vegetaes exemplos da transformação dos acidos em materias assucaradas, nada demonstra que isto se dê nas cellulas verdes. Em outros casos a falta de factos justificativos é absoluta. Por

conseguinte, não deixando de ter na devida conta estas hypotheses sempre proveitosas, porque illucidam os factos de desoxydação effectuados pela materia verde; não negando, além d'isto, que este orgão de synthese possa formar corpos muito mais variados do que os que ahi directamente se observam; restringir-nos-hemos a admittir a formação dos que se tornarem necessarios para explicar a geração do amido, das saccharosas e das materias gordas. É muito provavel que os outros derivem da actividade do protoplasma incolor, onde se não encontra um só e determinado agente, como é a chlorophylla, mas um numero consideravel de principios activos, os fermentos soluveis, que transformam as substancias recebidas pela planta, já directamente do solo, já da materia verde.

Ainda se não obteve a synthese artificial das saccharosas e do amido, mas é indubitavel, diz Berthelot, que todos os corpos hydrocarbonados complexos derivam dos assucares.

Sabe-se que são de diversas ordens os principios assucarados; as saccharosas, por exemplo, constituem um grupo distincto das glucosas. A molecula da saccharosa é formada pela condensação de duas de glucosa, com perda d'uma molecula d'agua:

$$C^{12}H^{22}O^{11} = 2C^{6}H^{12}O^{6} - H^{2}O.$$

É muito possivel que a synthese d'estes corpos se opere assim na chlorophylla.

O amido resultará da condensação de tres moleculas glucosicas com perda de egual numero de moleculas d'agua:

$$C^{18}H^{30}O^{15} = 3C^{6}H^{12}O^{6} - 3H^{2}O.$$

Quanto aos corpos gordos neutros, a sua synthese foi já realisada por meio da glycerina e dos acidos gordos, os mesmos principios em que são desdobrados pela saponificação. A este respeito diz Berthelot: «A precisão dos resultados que a synthese tem obtido depende d'ella se effectuar com methodos directos e com o auxilio do jogo regular das affinidades reciprocas entre os principios organicos. O unico elemento estranho que compensa a fraqueza d'estas affinidades é o tempo; mas é exactamente por este motivo que a formação artificial dos corpos gordos se aproxima ainda mais das condições compativeis com os meios organisados.» Admittindo, pois, que a chlorophylla possa formar a glycerina, assim como os acidos gordos, aproximamos a synthese natural dos corpos gordos neutros da synthese artificial. É possivel ainda que a formação d'estas substancias seja precedida pela da glucosa; no Ricino as folhas produzem amido, que, depois de se transformar num principio assucarado, caminha para os reservatorios nutritivos da semente, onde de novo se modifica convertendo-se em principios oleaginosos.

Nestes ultimos tempos Boehm tem negado á chlorophylla o papel importante que a maior parte dos physiologistas lhe attribue na synthese dos corpos ternarios. Não temos um conhecimento sufficientemente exacto dos factos adduzidos contra esta theoria para fundamentarmos seguramente a nossa opinião; póde ser até que a falta de fundamento proceda da pouca precisão das experiencias que vimos citadas.

Damos um exemplo. No extracto d'uma memoria de Boehm lê-se: «Boehm provou, pela experiencia directa, que as folhas que vivem na obscuridade, e que por isso perdem as materias

amylaceas, readquirem no fim de 10 ou 14 dias uma quantidade d'amido egual á que primeiramente continham, não sendo expostas á luz durante este tempo. Não foi pois sob a influencia d'este agente que o amido reappareceu no seu parenchima. Este facto (que sómente se observa nas folhas ainda novas) prova que o amido é produzido no proprio logar da sua apparição á custa de substancias já assimiladas.» Ora, em primeiro logar, isto não prova, como pretende Boehm, que a chlorophylla não fórma o amido por synthese directa. Demais, os corpos ternarios podem ser transportados d'umas para outras partes da planta, no estado de glucosa, transformando-se em amido nas partes que se acham em via de crescimento; é o que se dá no caso em que as folhas vivem em circumstancias anormaes; e de facto, isto comprova-se, porque o amido só apparece nas folhas *passados 10 ou 14 dias* depois de viverem na obscuridade, tempo necessario para que se estabeleça uma corrente nova de materiaes nutritivos na planta. Finalmente, o facto apontado só se verifica nas folhas novas; as folhas velhas não apresentam os grãos amylaceos quando privadas de luz. Isto explica-se facilmente: as folhas novas atravessam ainda um periodo de crescimento, as folhas velhas acham-se estacionarias relativamente aos factos de reproducção cellular; umas e outras produzem, sob a influencia da luz, principios hydrocarbonados; mas as primeiras não só os fornecem ás outras partes da planta, senão que parcialmente os consomem na fabricação de novas cellulas, o que se não dá com as folhas velhas; por isso, se forem privadas de luz, as folhas novas tenderão a consumir os elementos nutritivos dos tecidos visinhos, chamando a si o amido fabricado em outras partes da planta.

Vê-se, pois, que os argumentos d'esta natureza têm facil resposta.

Temos até aqui mostrado como são ministradas ao protoplasma as substancias proprias para a nutrição da cellula. Suppozemos que a chlorophylla fabríca, por meio do anhydrido carbonico e da agua, os principios ternarios que não existem no meio exterior; quanto ás substancias quaternarias dissemos que, apezar de não se lhe poder negar a faculdade de as produzir, isto nos parecia ter uma importancia secundaria. Effectivamente, nenhum facto demonstra que ellas se formem necessariamente na materia verde; por outro lado, desde que a observação mostra o protoplasma incolor apto para as fabricar, quando os principios azotados do meio em que vive são mineraes, torna-se superfluo crear uma nova hypothese, que transporte para a chlorophylla aquella propriedade, manifestada naturalmente pela materia viva.

As substancias soluveis são, logo depois de absorvidas, empregadas na formação de novos compostos; mas os corpos insoluveis, os albuminoides, a cellulosa, as materias amylaceas e gordas, etc., e ainda a saccharosa, apezar da sua solubilidade, necessitam, como já o temos dito, de se converterem em outros principios soluveis que possam ser absorvidos pelo protoplasma, isto é, necessitam de ser *digeridos*. Estas digestões são effectuadas pelos fermentos soluveis.

Os fermentos digestivos das materias amylaceas são as *diastases*, ou fermentos *glucosicos*, os quaes a principio as transformam em dextrina e glucosa, e emfim as convertem totalmente em glucosa. As diastases estão extremamente diffundidas em todos os orgãos das plantas. Baranetzky é um dos auctores que ultimamente, pelo estudo de muitas sementes, tuberculos, caules e folhas, o provou com mais evidencia, confirmando ao mesmo tempo a existencia de muitos fermentos glucosicos differentes.

A saccharosa é desdobrada pelos fermentos *inversivos* em glu-

cosa e levulosa. A levadura, a canna de assucar e a Beterraba empregam os fermentos inversivos para digerir o assucar. A diffusão d'esta ordem de fermentos nas plantas deprehende-se da grande diffusão da saccharosa, cuja existencia, muitas vezes transitoria, denuncia a presença d'aquellas substancias.

Não ha completa differença de propriedades entre os fermentos glucosicos e os inversivos; a mesma substancia póde desempenhar as duas funcções. É o que succede com dois fermentos descobertos por Kosmann nas folhas novas e nos gomos de algumas plantas; um d'elles reune ainda a ambas as propriedades indicadas outra de decompôr um glucosido, a digitalina, em glucosa e digitaliterina.

É desconhecido o fermento que digere a cellulosa. Van Tieghem suppõe que deve ser uma diastase mais energica do que a que ataca as substancias feculentas. Mostrou este auctor que a digestão do albumen farinaceo é operada por uma diastase excretada pelo embryão e diffundida através da massa nutritiva: o albumen isolado não experimenta nenhuma fermentação interior por lhe faltar o fermento proprio. Analogamente, o albumen cellulosico sómente em contacto com o embryão é digerido. «Mas neste caso, ao passo que as cellulas se dissolvem totalmente, membranas e conteúdos, o cotylédon experimenta um crescimento proporcional, o que lhe permitte manter-se sempre em contacto com as cellulas nutritivas, ou pelo menos a uma pequena distancia, o que talvez se explique pela grande resistencia da substancia que deve ser digerida. Parece com effeito que a digestão da fecula e a da cellulosa differem em poder a primeira operar-se a grande distancia da superficie digestiva, e a segunda sómente ao seu contacto.»

Os fermentos *emulsivos* e *saponificantes* exercem, como o in-

dica o seu nome, duas acções distinctas sobre os corpos gordos, fraccionando-os primeiramente em particulas tenuissimas, que depois saponificam, desdobrando-as por hydratação em glycerina e acidos gordos. Encontram-se estes fermentos nas mesmas cellulas que encerram as substancias sobre que actuam. «Não sei, diz E. Morren, se a chimica pôde já seguir as transformações ulteriores das materias gordas, até se tornarem uteis para a assimilação, ou para a respiração.» É certo que, durante a germinação, se convertem em amido ou glucosa, e isto indica seguramente que as fermentações se não produzem na cellula com a simplicidade que fóra d'ella apresentam.

Nas plantas, como nos animaes, são os fermentos *albuminosicos* que convertem as materias proteicas em principios peptonicos diffusiveis. Estes fermentos encontram-se não só no succo digestivo das plantas carnivoras, mas no nectar de certas flores, o qual digere a albumina coagulada, no latex da *Carica Papaya*, que, segundo Wittmack, actua com extraordinaria energia sobre as substancias azotadas, e devem encontrar-se, como é de prever, em todas as partes das plantas, onde existem materiaes nutritivos proteicos, que, depois de dissolvidos, se dirigem para os pontos onde se effectua o crescimento. De facto, Gorup-Besanez e H. Will descobriram já nas sementes d'uma Leguminosa, a *Vicia sativa*, um fermento d'esta natureza. Como diz E. Morren, os resultados a que estes auctores chegaram são decisivos; é na realidade este o fermento que dissolve as substancias proteicas da semente; e accrescenta: «Está pois estabelecida nos vegetaes a existencia d'um fermento pepsina.» É possivel que brevemente outros factos bem averiguados se reunam ao precedente; assim como o fermento albuminosico existe nas sementes, deve existir em todas as partes dos vegetaes, onde os albuminoides são dis-

solvidos. Quanto ás verdadeiras transformações que estes soffrem durante a digestão, desconhecem-se, tanto nos animaes como nos vegetaes. Nestes ultimos sabe-se que as materias proteicas se transformam em asparagina, além da qual Gorup-Besanez menciona, com relação ás Leguminosas, a leucina, e Schultze, com relação a diversas sementes, numerosos productos, entre os quaes a lavaína, a tyrosina, a glutamina, etc. Todos em geral têm existencias transitorias, exceptuando a asparagina, que em certos casos se accumula lentamente nas cellulas.

Exceptuando a fermentação dos albuminoides, podemos caracterisar as dos quatro primeiros grupos pela producção constante da glucosa. Nos vegetaes outras fermentações produzem ainda glucosa; são ellas a dos *glucosidos*, a *alizarica* e a *sinapica*. As substancias fermentesciveis não se acham nestes tres casos tão diffundidas nas plantas como nos casos anteriores, comtudo os seus desdobramentos constituem factos de digestão de importancia egual aos que citámos.

Os *glucosidos*, a que Berthelot chama *saccharidos*, por serem analogos aos compostos que derivam da acção dos acidos sobre os assucares, as materias amylaceas, etc., são decompostos por diversos fermentos, cujo typo é a *emulsina*, em glucosa e outro corpo, que não pertence ao grupo dos hydratos de carbono, e varía com a constituição do glucosido decomposto. Nos vegetaes os glucosidos apparecem muito frequentemente; nos animaes o unico que se conhece é a *chitina*.

Assim como as cellulas dos vegetaes superiores, tambem os organismos monocellulares podem digerir os glucosidos; o *Saccharomyces*, por exemplo, que os decompõe com grande energia.

Mencionaremos neste logar a fermentação do tannino, que muitos auctores consideram um glucosido. Nota-se que durante

a maturação dos fructos decresce a proporção do tannino que elles contêm, augmentando a do assucar. É possivel que isto corresponda a uma digestão analoga á que o tannino experimenta quando nutre os mycelios do *Penicillium glaucum* e do *Aspergillus niger*, os quaes o desdobram em glucosa e acido gallico. Decompõe-se da mesma maneira o tannino da noz de Galha, pela acção d'um fermento que ahi existe, um pouco analogo á pectase.

Chamamos, com E. Morren, fermentação *alizarica* á de algumas materias córantes vegetaes, que sob a influencia d'um fermento, a *erythrosima*, se decompõem em glucosa e outra substancia córante, a alizarina, ou a purpurina. Segundo Naegeli, as bacterias decompõem certas materias córantes.

A fermentação *sinapica* tem logar nas sementes da Mostarda e d'outras Cruciferas; consiste no desdobramento, produzido pela *myrosina*, do myronato de potassio em glucosa, sulfocyanureto d'allylo (essencia de mostarda) e bisulphato de potassio.

Para completar a enumeração das digestões mais conhecidas das plantas resta-nos fallar da digestão *pectica*, assim como da fermentação da urêa. Sobre esta ultima brevemente diremos algumas palavras. A fermentação pectica dá-se nos fructos. Durante a maturação dos fructos, a pectosa, que, unida á cellulosa, fórma os estratos interiores da membrana e é insoluvel nos reagentes neutros, converte-se pela acção dos acidos vegetaes (citrico, malico, etc.) em um principio gelatinoso soluvel, a pectina, a qual em seguida é desdobrada por um fermento, a *pectase*, nos acidos pectosico e pectico.

Ponhamos de parte esta ultima fermentação exclusivamente relacionada com a maturação dos fructos, e que, pelo seu caracter particular, não póde interessar-nos como as outras. Nestas incluimos não só as dos principios albuminoides e as dos terna-

rios mais diffundidos nas plantas, corpos que em geral são considerados *substancias plasticas* do protoplasma e da membrana cellular, mas as d'outros principios, que, pela natureza dos productos em que se decompõem, devem, numa classificação rigorosa, ser considerados da mesma maneira. Ficou ao mesmo tempo bem assente a influencia dos fermentos em todos os actos digestivos, bem como o parentesco que, em relação aos materiaes nutritivos, liga as cellulas-fermentos, ou, adoptando uma expressão dos auctores francezes, os *fermentos figurados* ás cellulas dos vegetaes superiores.

Este parentesco revelar-se-ha mais profundamente, se compararmos as suas funcções. Já dissemos em outro logar que as cellulas dos vegetaes superiores funccionam em determinadas circumstancias como os fermentos figurados. As raizes d'algumas plantas d'Africa produzem alcool, como as cellulas da levadura quando vivem nos liquidos assucarados. Lechartier e Bellamy verificaram que o assucar dos fructos collocados numa atmosphera de anhydrido carbonico é parcialmente transformado em alcool. Certas folhas, nas mesmas circumstancias, experimentaram interiormente duas fermentações, alcoolica e acetica (de Luca). Passando ás plantas inferiores, encontram-se alguns cogumelos, o *Mucor racemosus*, o *Mycoderma vini*, o *Penicillium glaucum*, que, em soluções assucaradas, produzem alcool e anhydrido carbonico; estabelecem, pois, a passagem para as plantas superiores. Estes e outros factos analogos tinham já feito suspeitar a Pasteur a estreita relação physiologica existente entre os fermentos figurados e os vegetaes pluricellulares. Muntz chegou a deduzir d'uma serie numerosa de experiencias a seguinte consequencia: «nos vegetaes superiores a cellula viva póde, quando se não acha na presença do oxygeno livre, funccionar como as cellulas dos

cogumelos, produzindo uma verdadeira fermentação alcoolica.» Estas acções interiores prendem-se tambem com o phenomeno que apresenta a levadura, quando se lhe não fornecem alimentos carbonados e azotados; nota-se então que continúa a produzir alcool, o que por todos é attribuido á decomposição dos seus proprios principios ternarios.

Os fermentos figurados são organismos que experimentaram adaptações especiaes; exercem com a maxima energia certas funcções, que, embora communs a todos os protoplasmas, podem achar-se dissimuladas nas cellulas dos vegetaes superiores. É pois de grande vantagem o estudo physiologico dos fermentos. Entre as suas propriedades notaremos as duas seguintes: Ha fermentos, cujas funcções são principalmente oxydantes; existem outros, cujas funcções são principalmente reductoras. Um liquido organico exposto ao ar soffre estas duas fermentações: na parte superior o oxygeno dissolvido no liquido é absorvido com tal energia, que as substancias organicas são quasi totalmente transformadas em agua e anhydrido carbonico; na parte inferior a proporção de oxygeno é quasi nulla, opera-se ahi uma reducção por tal fórma activa, que o hydrogeno é posto em liberdade. O acto da oxydação, assim como o da reducção, representam o ultimo termo das acções nutritivas dos organismos, que respectivamente os desempenham: cada um d'elles resulta de phenomenos parciaes, cujo maior numero deve em ambos os casos ser de natureza identica á da resultante final. Por conseguinte no seio do protoplasma incolor dão-se duas ordens de reacções bem caracterisadas de oxydação e reducção. Com ellas devem coincidir os phenomenos de synthese e de decomposição que ahi se realisam, e que contribuem para que se effectue o acto nutritivo essencial, a formação e a assimilação da materia albuminoide.

Não é possivel, em virtude do atrazo em que se acham os estudos de chimica biologica, estabelecer uma theoria precisa ácerca da synthese das substancias proteicas. Limitar-nos-hemos portanto ás previsões que mais se harmonisarem com os factos conhecidos.

Nos phenomenos de oxydação, reducção, hydratação, e geralmente em todas as acções chimicas da cellula, não podem deixar de intervir mais ou menos directamente os fermentos soluveis. Os acidos mineraes, capazes de produzir desdobramentos analogos aos que produzem os fermentos soluveis, determinam em outras circumstancias syntheses e transformações moleculares que estão longe de obedecer á norma invariavel a que as acções dos fermentos se suppõem estar sujeitas. Não nos parece rigoroso affirmar-se que os fermentos soluveis unicamente dão origem a desdobramentos moleculares acompanhados de hydratações. Assim a fermentação da urêa produz-se sem desdobramento molecular; um fermento soluvel transforma esta substancia em carbonato d'ammonio,

$$\underset{\text{Urêa}}{COAz^2H^4} + 2H^2O = CO^3, (AzH^4)^2$$

dando assim origem a uma verdadeira addição molecular. Um outro facto que em breve citaremos demonstra, a nosso ver, que os fermentos podem effectuar syntheses importantes. Note-se ainda que na mesma planta se encontram fermentos differentes; se actuarem sobre substancias diversas, decompondo-as, não é possivel que dois corpos resultantes de desdobramentos distinctos reajam entre si e gerem um composto mais complexo?

Accresce a isto que as descobertas recentes elevam de dia

para dia o numero dos fermentos vegetaes conhecidos; tudo indica a extrema diffusão d'estas substancias nas plantas; com a sua multiplicidade amplia-se a divergencia dos seus caracteres, e por isso o numero de substancias sobre que actuam.

Discute-se actualmente se as funcções das cellulas-fermentos se reduzem em ultimo termo a funcções de fermentos soluveis, hypothese que, segundo Schüzenberger, não tem nenhum facto que se lhe opponha. O *Saccharomyces* e o *Micrococcus ureae* actuam respectivamente sobre o assucar e a urêa por meio de fermentos soluveis. Desconhece-se o que se dá em outros casos, mas é evidente que se esta hypothese fôr geralmente demonstrada, a chimica biologica receberá um grande impulso da physiologia comparada das cellulas dos vegetaes superiores e das cellulas-fermentos.

A glucosa, cuja importancia nos phenomenos chimicos do protoplasma é capital, transforma-se sob a influencia dos fermentos figurados em varios compostos, d'entre os quaes se encontram nas plantas superiores os alcooes ethylico e propylico, a glycerina, a mannita, e os acidos acetico, propylico, butyrico, lactico e succinico. Estas transformações da glucosa dependem, como parece mais provavel, das acções combinadas dos fermentos soluveis existentes no interior das cellulas-fermentos. Em virtude do parentesco que liga as cellulas-fermentos ás dos vegetaes superiores, concluimos que nestes ultimos é tambem da glucosa que um grande numero de substancias neutras e acidas derivam. O exemplo seguinte é uma applicação d'este principio. Nas cellulas dos gomos da primavera o tannino acha-se sempre associado á glucosa. Gautier imaginou que aquella substancia podia proceder da materia assucarada por intermedio dos acidos. Para estabelecer esta hypothese partiu d'uma experiencia que parece comproval-a;

tendo aquecido o assucar a 200° obteve por deshydratação o acido pyrogallico:

$$C^6H^{12}O^6 - 3H^2O = \underset{\text{Acido pyrogallico}}{C^6H^6O^3}.$$

É possivel que nas plantas superiores se dê um identico desdobramento. A fixação d'uma molecula d'anhydrido carbonico produziria o acido gallico

$$C^6H^{12}O^6 + CO^2 - 3H^2O = \underset{\text{Acido gallico}}{C^7H^6O^5}$$

o qual deshydratando-se se converteria em tannino:

$$2C^7H^6O^5 - H^2O = \underset{\text{Tannino}}{C^{14}H^{10}O^9}.$$

É o tannino que depois, noutra phase da vida da cellula, se converte de novo em assucar e acido gallico sob a acção dos fermentos soluveis. Os periodos que passamos a transcrever encerram alguns dados importantes para a hypothese que adoptamos. «Estas reacções inversas, diz Gautier, que assim fazem passar o assucar ao estado d'acidos vegetaes, e estes ao estado de assucar, sob a influencia da vida das cellulas incolores d'outras porções da planta, as quaes, á maneira dos fermentos ordinarios, decompõem os acidos complexos roubando-lhes acido carbonico, parecem ser geraes nos vegetaes. Berard e Buignet e mais recentemente Beyer notaram que nos fructos não só o tannino, mas a acidez total diminue notavelmente, ao passo que o assucar au-

gmenta, sem que augmente a quantidade de bases que saturavam os acidos. É forçoso pois que estes se tenham transformado, com perda d'acido carbonico e absorpção d'oxygeno (porque o fructo respira sem cessar), em substancias neutras, que são com toda a probabilidade assucaradas. Fez-se a este respeito, nestes ultimos tempos, uma observação muito curiosa. A sorbina, que Boussingault filho extrahiu do succo da Sorveira, não existe, segundo Delfs, no succo fresco d'estes fructos. Encontram-se ahi sobretudo os acidos citrico e malico. Sob a influencia da fermentação que este succo experimenta desapparecem os acidos pouco a pouco, emquanto que se fórma a sorbina com desinvolvimento d'acido carbonico. Estes diversos corpos ligam-se com effeito entre si por uma equação muito simples. Temos:

$$\underset{\text{Acido citrico}}{3C^6H^8O^7} + 2H^2O + O = \underset{\text{Sorbina}}{2C^6H^{14}O^6} + 6CO^2$$

$$\underset{\text{Acido malico}}{3C^4H^6O^5} = \underset{\text{Sorbina}}{C^6H^{14}O^6} + 6CO^2 + 2H^2O.»$$

Lembraremos que a fórmula da sorbina é identica á da mannita, um dos productos em que é transformada a glucosa pelos fermentos figurados. Se a formação da sorbina tem logar como a representa Gautier nestas equações, devemos necessariamente concluir que no segundo caso, relativo ao acido malico, os fermentos soluveis operam a sua synthese.

Temos visto como os alcooes e os acidos derivam dos assucares, e como estes podem reconstruir-se por uma acção inversa. Quando as materias proteicas se formam por synthese completa nas cellulas-fermentos, cujo elemento nutritivo azotado é um sal

ammoniacal, a substancia hydrocarbonada que as nutre póde ser um acido organico, ou o alcool ordinario, ou uma glucosa. Por isso alguma d'estas fórmas de combinação do carbono deve ser directamente utilisada na synthese dos albuminoides; e como reciprocamente se convertem umas nas outras, preferiremos a que nos indicarem as considerações theoricas. Não vamos, repetimol-o, tentar a explicação impossivel da synthese do protoplasma; damos apenas vagas indicações relativas aos compostos que parecem concorrer para a formação da molecula proteica.

A synthese completa das materias albuminoides é necessariamente realisada pelas algas monocellulares e pelos fermentos figurados. Á medida que a estructura das plantas se complica, differenciam-se gradualmente as suas funcções; os tecidos experimentam outra differenciação correspondente, e d'esta maneira a communidade vegetal fica constituida por individuos com aptidões distinctas. O systema fascicular desinvolve-se facilitando a circulação dos liquidos nutritivos; por isso as cellulas verdes do tecido tegumentar, para onde a seiva ascendente transporta as substancias absorvidas no solo pela raiz, concentram a sua actividade na fabricação de novos principios alimenticios, ao passo que as dos tecidos subjacentes, nomeadamente as cellulas cambiaes, são principalmente reproductoras. Nas primeiras o corpusculo chlorophyllino fabrica as substancias ternarias, que se diffundem no protoplasma incolor sob a fórma de glucosa; o protoplasma incolor, onde se reunem os principios ternarios, os compostos azotados mineraes (azotatos ou saes ammoniacaes) e os sulphatos, fabríca a materia proteica.

A molecula albuminoide resulta, segundo Schützenberger, da associação do agrupamento da urêa com os acidos amidados das series da leucina e do acido aspartico, com a tyrosina, acido

amidado da serie aromatica, etc. A chimica tem já effectuado a synthese de muitos acidos amidados, combinando por diversos processos o ammoniaco com os acidos gordos e aromaticos. A leucina, por exemplo, fórma-se quando sobre o valerylureto d'ammoniaco actuam os acidos chlorhydrico e cyanhydrico. O acido aspartico obtem-se aquecendo e tractando pelo acido chlorhydrico o malato d'ammonio. Portanto, como o protoplasma incolor póde nutrir-se directamente d'acidos organicos, occorre ao espirito admittir que na cellula se devem produzir as syntheses d'aquelles ou ainda d'outros compostos amidados mais complexos. No caso em que o alimento hydrocarbonado é uma glucosa, a sua transformação fornece as substancias acidas, que por dupla decomposição, ou por outro processo qualquer desconhecido, se combinam já com o ammoniaco dos saes ammoniacaes, já com o azoto dos azotatos que são reduzidos com energia.

Quanto á urêa, tem ella sido obtida syntheticamente por tantos processos, que, sob o ponto de vista chimico, a possibilidade da sua synthese na cellula não póde offerecer duvida alguma. Um d'esses processos consiste na deshydratação do carbamato d'ammonio pelo calor:

$$CO\begin{cases}AzH^2\\OAzH^4\end{cases} = H^2O + CO\begin{cases}AzH^2\\AzH^2\end{cases}$$

Carbamato d'ammonio — Urêa

Ora o carbamato d'ammonio fórma-se pela combinação directa do anhydrido carbonico com o ammoniaco. A simplicidade d'estas reacções mostra que na cellula não deveriam ser muito complicadas as que tivessem de concorrer para a formação da urêa. Mas é mais provavel que esta seja produzida sómente no mo-

mento em que tende a formar-se a molecula albuminoide; se não fôr assim, é impossivel explicar a ausencia completa da urêa em todos os succos vegetaes. Por conseguinte, o que consideramos essencial é a producção dos acidos amidados.

Formadas as moleculas de cuja aggregação deve resultar a molecula albuminoide, associam-se umas com outras e com o enxofre. Este corpo procede dos sulphatos absorvidos pela planta, geralmente o sulphato de calcio; admitte-se que o sal é decomposto, combinando-se o calcio com o acido oxalico, e formando-se cristaes de oxalato de calcio que se depositam na parede cellular. Não sabemos o modo como o enxofre está incorporado no agrupamento proteico, onde entra em diminuta proporção. É possivel que esteja inteiramente ligado aos acidos amidados. Conhece-se um composto, que se fórma na fermentação alcoolica, a pseudo-leucina, cuja fórmula parece ser $C^{36}H^{78}Az^{6}O^{12}S$, isto é, contém um atomo de enxofre com seis moleculas de leucina $C^{6}H^{13}AzO^{2}$; cristallisa em laminas brilhantes, funde a 210° e póde ser sublimado sem se decompôr. Parece pois que é uma combinação definida, caracter que, reunido á sua complexa estructura, sem equivalente entre os outros compostos conhecidos da leucina, o torna proprio para mostrar como é que uma tão pequena quantidade d'enxofre póde fazer parte integrante da molecula albuminoide. Na pseudo-leucina o acido amidado polymerisou-se para se combinar com o enxofre; é talvez a phenomenos analogos de polymerisação determinados pelo enxofre que a molecula albuminoide deve em parte a sua complicada constituição.

O modo como todos os corpos geradores do protoplasma se ligam entre si, para darem a molecula proteica, assim como o acto pelo qual esta se torna identica á molecula protoplasmica, ou, o que é o mesmo, o acto da assimilação, são factos total-

mente obscuros, que temos de pôr de parte. Simplesmente nos é dado prever que o agrupamento dos acidos amidados deve ser acompanhado d'uma deshydratação geral. Effectivamente todos foram obtidos por Schützenberger, hydratando as materias albuminoides.

Fabricados os principios albuminoides nas cellulas chlorophyllinas, são transportados pela seiva descendente, ou elaborada, a todas as partes da planta. Com quanto as cellulas dos tecidos interiores possam effectuar a synthese completa dos albuminoides, o que se demonstra, segundo Sachs, com relação aos tecidos dos peciolos e dos entre-nós, pelos depositos de oxalato de calcio que ahi apparecem, é evidente tambem que a differenciação das funcções na planta arrasta como resultado a adaptação dos protoplasmas das cellulas de membros ou tecidos differentes a meios especiaes. Assim o protoplasma das cellulas do cambio, apezar do seu pronunciado poder de reproducção, é um parasita que vive á custa dos principios nutritivos fabricados pelas folhas; o mesmo diremos das cellulas dos gomos durante o primeiro periodo do seu desinvolvimento, do tubo polinico, quando caminha através do tecido conductor do stylo nutrindo-se dos principios que ahi encontra, etc. Nestes casos o protoplasma, habituado numa longa serie de gerações a ser nutrido de principios complexos, não poderia impunemente passar a nutrir-se de substancias mineraes.

Os processos por que se formam os compostos albuminoides simplificam-se á medida que a constituição dos principios azotados geradores se complica. A este respeito referiremos as conclusões a que Borodin foi levado pelas suas observações. Encontram-se reunidas em muitas cellulas vegetaes a materia amylacea e a asparagina, e nota-se que as proporções d'estas substancias tendem

sempre a variar em sentido opposto; as cellulas em que a fecula é abundante não contêm asparagina, e vice-versa a proporção da asparagina cresce quando as materias amylaceas desapparecem. Isto mostra, segundo o mesmo auctor, que a asparagina, uma das fórmas de transporte das materias albuminoides, as reproduz quando se acha ao contacto d'aquelles principios ternarios. Ora a fórmula da asparagina (acido monobasico), $C^2H^3\left\{\begin{matrix}CO^2H\\COAzH^2\\AzH^2\end{matrix}\right.$, differe da do acido aspartico (acido bibasico), $C^2H^3\left\{\begin{matrix}CO^2H\\CO^2H\\AzH^2\end{matrix}\right.$, por conter o radical AzH^2 no logar em que neste ultimo está um oxhydrilo. A regeneração das materias albuminoides exige a conversão da asparagina em acido aspartico e nos outros acidos que fazem parte d'aquellas substancias. Para isto basta admittir que a materia amylacea, ou a glucosa, resultante da sua digestão pelos fermentos, se converte em principios acidos, que, combinando-se com o grupo AzH^2, transformam a molecula da asparagina, que ao mesmo tempo soffre uma hydratação, em duas moleculas de acidos amidados. Vê-se que neste caso o trabalho chimico é muito menor do que no anterior.

Relativamente ás outras substancias, leucina, tyrosina, glutamina, etc., que, conjunctamente com a asparagina, constituem fórmas de transporte dos albuminoides, apenas conhecemos as indicações já citadas de Gorup-Besanez e Schultze. Todos aquelles compostos pertencem ao grupo dos acidos amidados. Alguns, a leucina e a tyrosina, fazem parte da molecula albuminoide; outros, a asparagina e a glutamina, têm estreitas relações respectivamente com os acidos aspartico e glutamico, que entram

tambem na constituição da mesma molecula. Portanto é um verdadeiro phenomeno de reconstituição o que tem logar quando estas substancias, reunindo-se na mesma cellula, se agrupam para formarem a materia proteica.

Constituido o protoplasma, a organisação da maior parte das cellulas vegetaes depende ainda da formação do involucro exterior cellulosico. Antes de tractarmos d'este ponto, diremos algumas palavras sobre os productos intermediarios de transsubstanciação.

As substancias ternarias, como os compostos azotados e os hydrocarburetos, formam-se, não em resultado de reacções isoladas de que cada uma derive directamente, mas por modificações successivas que filiam entre si os corpos d'um certo grupo. Está neste caso a transformação das glucosas em acidos, que posteriormente reproduzem os assucares; d'estes derivam tambem, segundo todas as probabilidades, o tannino, os glucosidos e talvez certas materias córantes. Podiamos ainda conceber theoricamente a formação d'alguns productos de transsubstanciação, tendo em vista os resultados obtidos pela synthese organica; os alcaloides fixos, por exemplo, são analogos aos principios produzidos por meio dos alcooes e do ammoniaco; muitas substancias aromaticas pertencem á classe dos etheres e dos aldehydos. Todavia estas considerações devem abandonar-se, emquanto a experiencia não estabelecer a verdadeira evolução dos productos de transsubstanciação, porque os phenomenos chimicos da cellula podem offerecer particularidades completamente estranhas aos que se produzem nos laboratorios. Assim a transformação dos acidos citrico e malico em sorbina é um facto bem averiguado

em chimica biologica ao qual não corresponde outro analogo em chimica organica; é que no primeiro caso não só as condições em que elle se dá são muito complexas, mas na reacção interveem agentes especiaes, como são os fermentos soluveis.

J. Sachs divide os productos de transsubstanciação em tres classes: 1.° *substancias plasticas*, materiaes nutritivos que contribuem para a formação do protoplasma, dos grãos chlorophyllinos e da membrana cellular; 2.° *productos de degradação*, que se formam «pela transformação ulterior da substancia dos corpos organisados e que mais tarde não são empregados na producção de novas membranas cellulares ou novos orgãos protoplasmicos»; 3.° *productos secundarios de transsubstanciação*, substancias fabricadas durante a transsubstanciação que «ficam inactivas no proprio logar onde são produzidas.» Sachs comprehende na primeira divisão um numero muito limitado de substancias: «As substancias plasticas da membrana cellular são o amido, as diversas especies de assucar, a inulina e a gordura; as substancias plasticas do protoplasma e dos grãos de chlorophylla são as materias albuminoides.» Na segunda divisão menciona os principios que produzem a lenhificação, a suberificação e a cutilarisação das membranas, algumas materias córantes (as das folhas que morrem no outomno, por exemplo), as mucilagens de certas sementes, etc. No ultimo grupo estão incluidos os acidos, os alcaloides, o tannino e compostos analogos, as materias córantes, exceptuando a chlorophylla e as comprehendidas na divisão anterior, as essencias, as resinas, as gommas, o caoutchout, a pectina, o oxalato de calcio, etc.

Esta classificação, que estamos longe de achar correcta, apenas representa um estado transitorio dos conhecimentos sobre a evolução das substancias mencionadas. Assim, ao primeiro grupo

deve addicionar-se a cellulosa e os glucosidos; o tannino, os acidos e certas materias córantes, substancias comprehendidas na ultima divisão; emfim, todos os corpos que possam transformar-se em glucosa na cellula vegetal, porque isto habilita-os a contribuirem para a formação da membrana ou do protoplasma. É de crer que no futuro a maxima parte das substancias contidas nos dois ultimos grupos sejam consideradas principios nutritivos.

Cumpre-nos observar que, quando dizemos d'um corpo que elle constitue um principio nutritivo da cellula vegetal, não affirmamos a sua applicação necessaria á formação dos orgãos da cellula que o produz; attribuimos-lhe simplesmente uma propriedade—a de nutrir a cellula. Tomemos para exemplo o liquido dos nectarios, cuja utilidade J. Sachs entende que é exclusivamente a de attrahir os insectos, que por diversos actos mechanicos contribuem para a fecundação da planta. O nectar contém principios assucarados; poderá affirmar-se que não contribue para a nutrição cellular? Com certeza que não. Mas, como as suas funcções se ligam muito directamente aos phenomenos de reproducção, e como, além d'isto, é depositado em apparelhos especiaes, attende-se de preferencia a estas condições, suppondo-se que é um producto inutil para a cellula que o elabora. Ora, é necessario ter bem presente que a vida da cellula está sujeita não só ás condições geraes da existencia de todos os organismos, mas ás condições especiaes que determinam a sua differenciação e adaptação; os actos pelos quaes ella satisfaz a estas ultimas condições, e lhe dão a sua individualidade propria, não correspondem nunca a propriedades physiologicas estranhas ás d'outro qualquer protoplasma, são meramente o producto do aperfeiçoamento e da differenciação das suas funcções, em harmonia com as circumstancias exteriores. No nosso caso as cellu-

las que têm de construir os nectarios produzem, como todos os organismos, certos principios assucarados necessarios para a sua edificação; mas, como fazem parte d'uma communidade vegetal, desinvolvem-se em harmonia com os interesses d'essa communidade, e experimentam por isso uma evolução que as leva a formar apparelhos glandulares, caracterisados pela excessiva producção d'aquelles principios nutritivos. Posto isto, as cellulas nutrem-se ainda de parte das materias assucaradas que elaboram, e excretam outra parte; portanto a formação do nectar não constitue uma funcção sem utilidade para ellas; ao contrario, é originada sempre pela necessidade que ellas têm de effectuar um acto nutritivo.

Isto que acontece com o liquido dos nectarios dá-se tambem com outros productos de transsubstanciação, alguns dos quaes são inclusivamente substancias plasticas. A maior parte do amido produzido por uma cellula chlorophyllina vae alimentar differentes tecidos da planta, tornando-se inutil para a cellula d'onde procede. O mesmo podemos dizer de todos os compostos nutritivos, se fôrmos buscar as suas cellulas productoras aos vegetaes pluricellulares.

O latex, que para muitos auctores é um producto excrementicio, contém substancias albuminoides, principios hydrocarbonados e outros que existem no succo cellular e são considerados substancias plasticas da cellula; póde nelle existir tambem um fermento albuminosico. A par d'estas substancias, que lhe communicam propriedades nutritivas, encontra-se em muitos casos o caoutchout e certas resinas, corpos cujo papel physiologico se ignora, mas que, attendendo á natureza dos principios que os acompanham, não devem ser classificados definitivamente como inuteis para a nutrição vegetal.

Como se vê, achamo-nos impossibilitados de estabelecer com rigor a importancia da maior parte dos productos de transsubstanciação, o que não póde causar estranhesa, porque a solução d'este problema importa o conhecimento completo dos phenomenos de nutrição.

Passaremos pois ao estudo da synthese da cellulosa.

Quando tractámos da membrana cellular dissemos que Durin transformou o assucar de canna em glucosa e cellulosa por meio da diastase. Durante a fermentação o assucar converte-se integralmente naquelles dois productos. A cellulosa póde affectar o estado viscoso ou o de grumos organisados. O assucar invertido (mistura de glucosa e levulosa), tractado pela diastase, não fermenta como a saccharosa; portanto a transformação d'este corpo em cellulosa resulta immediatamente da acção que sobre elle exerce a diastase. Durin admitte que a reacção consiste num desdobramento, expresso pela equação

$$\underset{\text{Saccharosa}}{2\,(C^{12}H^{22}O^{11})} = \underset{\text{Cellulosa}}{C^{12}H^{20}O^{10}} + \underset{\text{Glucosa}}{C^{12}H^{24}O^{12}}$$

na qual suppõe a fórmula da cellulosa mais simples do que a da saccharosa, e esta mais simples do que a da glucosa. Todavia os estudos modernos assignam a estes compostos relações de composição oppostas ás que lhe attribue Durin. As glucosas são universalmente consideradas os principios geradores que por condensações moleculares produzem os hydratos de carbono, taes como a saccharosa, a dextrina, o amido e a cellulosa: pelo menos esta é a opinião d'um mestre em assumptos de synthese chimica, Berthelot. Por outro lado é certo que a propriedade de

adquirir uma organisação é correlativa com um augmento de complicação molecular; a fórmula da cellulosa deve pois ser mais complicada do que a do amido, e corresponder talvez ao primeiro anhydrido tetraglucosico; e assim ficará aquella equação transforma na seguinte:

$$\underset{\text{Saccharosa}}{4C^{12}H^{22}O^{11}} = \underset{\text{Cellulosa}}{C^{24}H^{40}O^{20}} + \underset{\text{Glucosa}}{4C^{6}H^{12}O^{6}}.$$

D'esta maneira a formação da cellulosa é uma synthese operada pela diastase.

Durin applicou os resultados que obteve á nutrição vegetal; de facto é muito possivel que nas plantas a cellulosa seja produzida pela acção dos fermentos sobre a saccharosa. Com o fim de confirmar esta opinião, o auctor fez fermentar o assucar, não directamente por meio da diastase, mas lançando mão das sementes de varias plantas, em que a existencia da saccharosa estava indicando a do fermento proprio para a transformar em cellulosa; obteve com effeito essa transformação. Chegou ao mesmo resultado fazendo actuar sobre o assucar a substancia gelatinosa de algumas algas. Para completar a sua demonstração experimental, tentou produzir a fermentação cellulosica no interior d'uma Beterraba. Serviu-se para isso d'um engenhoso artificio. Nota o auctor em primeiro logar que, embora a cellulosa seja produzida pela fermentação do assucar, isto não obsta a que o assucar se deposite em determinados tecidos da planta, por quanto o fermento que o deve transformar não está uniformemente diffundido em todo o vegetal. E continúa: «Se fosse possivel misturar todos os liquidos da Beterraba, determinando a ruptura

das paredes cellulares, sem que as reacções fossem perturbadas pelas causas exteriores, deveriam talvez effectuar-se estas reacções.» Tomou pois uma Beterraba sem fendas exteriores, que submetteu a um grande abaixamento de temperatura, deixando-a em seguida aquecer lentamente. A epiderme ficou intacta, portanto os liquidos da Beterraba não foram atacados por substancias estranhas á planta. O succo da planta tornou-se viscoso; a proporção d'assucar de canna diminuiu, formando-se glucosa; finalmente tractando o succo pelo alcool formou-se um precipitado de cellulosa.

Durin notou que para se formar a cellulosa organisada em grumos é de extrema utilidade o emprego dos saes de calcio d'acidos fracos, sobretudo o carbonato de calcio. Este sal determina a transformação completa do assucar em cellulosa organisada, sem producção de materia viscosa; ignora-se a natureza verdadeira da sua acção, mas, como dizemos, influe d'um modo decisivo sobre a organisação da cellulosa. «É muito possivel, diz Durin, que a cellulosa no estado nascente possa combinar-se com a cal.» A acção d'este corpo na fermentação cellulosica condiz com a sua influencia nas plantas, como passamos a mostrar. A cal encontra-se principalmente nas paredes cellulares; Vesque tractou fragmentos de cuticula por um acido energico e notou que se produzia uma effervescencia. Outros auctores tinham já observado a influencia exercida pela cal sobre a formação da cellulosa. «Sabemos agora, diz Boehm, que a cal é indispensavel para transformar, por exemplo, o amido, o assucar, etc., em cellulosa; a cal é tão indispensavel ás plantas como aos animaes para transformarem a cartilagem em osso. Constitue o esqueleto da parede cellular.» Knop e Dworzak estudaram tambem a acção da cal sobre as plantas; a quantidade de materia secca augmenta

ou diminue com a quantidade de cal d'um modo tão sensivel que estes dois auctores concluem: «A cal desempenha pois, segundo parece, um papel essencial na producção da materia secca.» Boehm verificou ainda que o chlorureto de calcio é um pouco prejudicial á vegetação; o mesmo corpo empregado por Durin durante a fermentação cellulosica não produziu resultados apreciaveis.

A acção do carbonato de calcio sobre a vegetação é a consequencia directa dos factos estudados por Durin e conjunctamente uma confirmação da hypothese d'este auctor. Assim como a cal determina a completa transformação da cellulosa viscosa em cellulosa organisada, assim nas plantas auxilia a formação das membranas cellulares.

Os phenomenos descobertos por Durin não podem deixar o espirito perplexo: se a diastase produz a fermentação cellulosica; se da mesma maneira actuam certas sementes, em que a existencia do assucar denuncía a do fermento cellulosico; se a transformação póde effectuar-se no interior do proprio vegetal; se, emfim, a influencia do carbonato de calcio coincide com a que elle exerce na producção da materia secca das plantas, como havemos de negar-nos a acceitar a consequencia necessaria que de tudo isto deriva?

A synthese da cellulosa é portanto devida á acção de certos fermentos soluveis sobre as saccharosas; a sua organisação auxiliada, senão completamente determinada pelos saes calcareos.

CAPITULO II

Summario: Phenomenos de genése cellular. Processos que comprehendem. — I Divisão. Suas relações com os outros processos de reproducção. Theoria geral da divisão; crescimento da massa protoplasmica; seu equilibrio interior. Divisão binaria. Cellulas sem nucleo. Cellulas com nucleo. Processo typico de divisão. Processos abreviados. Funcções do nucleo; resumo dos factos que confirmam a theoria da divisão. Nucleo rudimentar. Reproducção por gomos. Divisão pluricellular. Reducção ao processo anterior. — II Formação livre. Casos intermediarios que a ligam á divisão normal. — III Renovação. É reductivel aos processos de bipartição. — IV Conjugação e fecundação. Sexualidade. Fusão das massas protoplasmicas. Acção dos nucleos. Actividade reproductora da cellula fecundada. Theoria geral da conjugação e da fecundação.

Não tractamos neste capitulo da questão tão debatida das gerações espontaneas. Tomamos a cellula já formada e estudamos os processos geraes por que ella é capaz de produzir novos organismos monocellulares. Esses processos podem classificar-se em dois grupos: o primeiro (*geração asexual*) comprehende os casos em que na formação da cellula entra um protoplasma unico; o segundo (*geração sexual*) abrange aquelles em que na formação da cellula entram dois protoplasmas distinctos. Estão incluidas no primeiro grupo a *divisão*, a *formação livre* e a *renovação;* pertencem ao segundo a *conjugação* e a *fecundação*.

I

A divisão é o processo pelo qual mais vulgarmente as cellulas vegetaes se reproduzem. Muitas algas e cogumelos inferiores multiplicam-se exclusivamente por divisão. É da divisão cellular que em todas as plantas «depende, como diz Sachs, o desinvolvimento do systema vegetativo; isto é, a producção do tecido cellular.» Todos os outros processos estão limitados a determinados grupos de plantas, ou a pequeno numero de cellulas d'uma planta.

Na divisão o protoplasma da cellula geradora é totalmente transformado em novas cellulas filhas, cujo numero póde ser egual ou superior a dois. Assim, distinguiremos a divisão *binaria* da divisão *pluricellular*. Entre estas duas fórmas de reproducção é a primeira a mais geral nas cellulas vegetaes; por isso mesmo podemos desde já prever que é a divisão binaria o processo primitivo da reproducção cellular.

Entre os processos de divisão e os outros modos de reproducção ha estreitos laços, que ligam os ultimos aos primeiros. Tractaremos de mostrar, com os elementos de que pudérmos dispôr, que a divisão pluricellular se reduz phylogeneticamente á divisão binaria; que a formação livre, bem como a renovação das cellulas, representam casos abreviados dos processos de divisão; e emfim que os factos de fecundação se relacionam, por intermedio dos de conjugação, com alguns dos processos anteriores.

Para conseguirmos este resultado necessitamos desde já de

expôr algumas idêas theoricas, que, posto tenham de ser mais adeante comprovadas, são indispensaveis para a boa comprehensão dos factos de que agora nos occupamos.

Para nós a divisão é a consequencia immediata do crescimento da cellula. O protoplasma tende, em virtude das acções de nutrição, a crescer indefinidamente em todos os sentidos; ao mesmo tempo a sua massa dispõe-se regularmente, mantendo-se em equilibrio em torno d'um ponto central. Ora, o equilibrio em torno d'este ponto só é possivel emquanto a massa que o rodeia não ultrapassa um certo limite maximo de crescimento; além d'este limite, a massa protoplasmica, incapaz de conservar a sua distribuição regular em torno d'um só ponto, divide-se em duas ou mais porções, cuja menor massa lhes permitte affectar distribuições semelhantes á do protoplasma primitivo em torno de dois ou mais pontos. As leis que regem o equilibrio do protoplasma são absolutamente desconhecidas; comtudo os estudos modernos, especialmente os bellos trabalhos de Strasburger sobre a formação e divisão das cellulas, mostram que em muitos casos a materia viva, para se dividir ou dar origem a novas cellulas por formação livre, se dispõe symetricamente sob a fórma de linhas radiantes em torno de certos pontos. Parece que nestes residem forças attractivas e repulsivas, que obrigam a materia plasmatica a formar raios convergentes.

A distribuição radiante do protoplasma foi pela primeira vez observada por Fol; é a este auctor que se deve a hypothese da existencia de *centros de attracção* nos pontos para onde, durante a divisão, convergem os raios de substancia proteica. Outros auctores observaram factos analogos nos animaes. Strasburger desinvolveu com toda a generalidade a hypothese de Fol, applicando-a ao reino vegetal.

Divisão binaria.—Verifica-se este processo tanto nas cellulas que não contêm nucleo, como nas que o encerram. O primeiro caso é naturalmente o mais simples, e comtudo o menos estudado, talvez por ser pequeno o numero de organismos vegetaes a cujas cellulas falta o nucleo. Em qualquer dos casos variam ainda algumas phases da divisão, segundo o protoplasma é ou não cavado por grandes vacuolos.

Tomemos primeiramente uma cellula sem nucleo e sem grandes vacuolos.

As moneras reproduzem-se por bipartição; a massa protoplasmica que as constitue alonga-se, diminuindo pouco a pouco de diametro na sua parte central, e divide-se em duas massas eguaes que continuam a nutrir-se e a crescer individualmente, até que um novo desequilibrio interno determine outra bipartição. Isto que se dá nos organismos mais rudimentares observa-se entre os vegetaes, segundo Hoffmann, nas bacterias que geralmente para se dividirem se alongam e dilatam nas extremidades, em virtude da accumulação de protoplasma que ahi tem logar; na parte interior mais delgada fórma-se a membrana cellular divisoria, a qual, depois de se differenciar em dois estratos, permitte ás duas cellulas separarem-se uma da outra.

Estes factos pela sua difficil observação não nos mostram como se distribue interiormente o protoplasma. Unicamente sabemos, attendendo ás configurações successivas da cellula, que o protoplasma se accumula gradualmente em torno de dois centros distinctos. A divisão produz-se como se a massa proteica fosse attrahida por dois pontos situados a certa distancia um do outro, e caminhasse para elles, agglomerando-se symetricamente em relação a cada um.

Para produzir a membrana divisoria o protoplasma das bacte-

rias torna-se mais transparente na secção em que ella deve apparecer; a membrana precipita-se depois, por vezes tão rapidamente que a differenciação em estratos não póde effectuar-se e as novas cellulas ficam ligadas entre si, formando um rosario. A secção hyalina deve representar as duas camadas membranosas das cellulas-filhas.

Em algumas bacterias, nas Nostochineas, etc., a divisão effectua-se sem que o protoplasma se accumule previamente nas duas extremidades da cellula; a membrana fórma-se com rapidez, como anteriormente. Neste caso só pela disposição interior da massa proteica poderia verificar-se se á divisão corresponde o agrupamento symetrico em torno de dois centros distinctos de attracção; faltam-nos provas directas, mas somos levados a admittil-o pelo conhecimento que temos d'outros factos de formação cellular. É comparavel este modo de reproducção á divisão dos grãos de chlorophylla, que com effeito parece ser precedida pela distribuição regular do protoplasma em torno de novos centros. «Supponho, diz Strasburger, que as estrias radiantes observadas por Rosanoff nos grãos de chlorophylla da *Bryopsis plumosa* resultam d'um arranjo da materia em torno de taes centros de attracção.»

Quando o protoplasma não occupa toda ou quasi toda a cavidade da cellula, mas está cavado por grandes vacuolos, a divisão opera-se um pouco differentemente. Em geral não é instantanea a formação da membrana; segue o crescimento progressivo da camada membranosa para o centro da cellula; comtudo a divisão é iniciada sempre no protoplasma, e não, como alguns querem, devida á sua segmentação pela membrana cellulosica.

Strasburger estudou este caso em algumas algas do genero *Cladophora*. Na *Cladophora fracta* a camada granulosa emitte

para o interior da cellula placas tenues de protoplasma, que ahi formam uma especie de rede. No plano transversal, onde tem de operar-se a divisão, apparece a principio uma agglomeração annular de protoplasma, encostada ás paredes da cellula, e logo depois um annel de cellulosa de cujo crescimento deve resultar a membrana divisoria; tanto esta como a parede da cellula-mãe, que está com ella em perfeita continuidade, acham-se em contacto com a camada membranosa que fórma uma especie de goteira onde se aloja o bordo interior da membrana divisoria. A camada membranosa, que assim adhere á nova membrana, caminha para o centro da cellula, conservando-se em communicação com o protoplasma parietal por meio de filamentos, onde se observam correntes de granulos, que á medida que attingem a secção media, são convertidos em novas moleculas organicas. Em virtude d'esta constante affluencia de novos materiaes a parede de separação cresce pouco a pouco, até que divide completamente a cellula.

Neste caso o protoplasma apparentemente só manifesta a sua actividade na construcção da nova membrana. Os grandes vacuolos impedem a sua distribuição symetrica em torno dos centros das cellulas-filhas; todavia nada prova que a divisão não seja originada por essa propriedade inherente á materia viva; ao contrario, a maior parte dos casos de divisão que passamos a mencionar demonstram-no claramente.

Tomemos uma cellula com nucleo e sem vacuolos. Ao processo de bipartição empregado nestas circumstancias chamaremos com Strasburger—processo typico de divisão. É neste caso que as relações de todas as partes do protoplasma entre si e com a parte central occupada pelo nucleo se manifestam mais nitidamente. Escolheremos o primeiro exemplo citado por Strasburger,

a divisão das cellulas, que depois da fecundação apparecem por formação livre no vertice organico da vesicula embryonaria da *Picea vulgaris*. Cada cellula contém um grande nucleo central que exerce sobre o protoplasma uma acção evidente; o protoplasma fórma estrias radiantes que convergem sobre o nucleo e podem suppôr-se produzidas pela polarisação das moleculas proteicas, sob a influencia das forças attractivas e repulsivas da massa nuclear.

Todas as cellulas se dividem simultaneamente. Para isso os nucleos tornam-se completamente homogeneos, alongam-se e affectam a fórma de ellipsoides; as mesmas acções attractivas e repulsivas que se manifestam entre os nucleos e os protoplasmas involventes, manifestam-se tambem entre os dois pólos de cada nucleo, situados nas extremidades do maior diametro, por quanto toda a massa do nucleo se distribue em estrias estendidas d'um pólo ao outro. Na parte de cada estria situada na região equatorial do nucleo accumula-se uma substancia, que torna a estria mais espessa e a faz tomar nesse ponto a fórma de bastonete; da reunião de todos os bastonetes resulta uma placa equatorial a que Strasburger chama *placa nuclear*. A placa nuclear não é pois contínua, póde comparar-se ao agrupamento de pequenos cylindros cujas bases assentam sobre a area d'um circulo, e cujos eixos se conservam parallelos. «Pouco tempo depois a placa nuclear divide-se em duas metades; as extremidades de cada bastonete começam a affastar-se uma da outra em sentido opposto, ao passo que a parte central diminue de espessura, convertendo-se em fios delgados. Como todos os bastonetes executam este movimento ao mesmo tempo, a placa primaria fica dividida em duas placas secundarias de menor espessura, que, affastando-se uma da outra, deixam estendidos entre si numerosos fios.» E

como o diametro das secções transversaes é maximo no equador e minimo nos pólos, as duas placas vão diminuindo de superficie e os bastonetes aproximando-se entre si. Cada uma das placas secundarias attinge emfim o pólo para onde se dirigia, e accumula ahi parte da substancia do primitivo nucleo, formando uma agglomeração proteica, rudimento do nucleo da cellula-filha. Segundo Strasburger, os movimentos das duas metades da placa nuclear são devidos á attracção exercida pelos dois pólos sobre a substancia do nucleo primitivo.

Este é o primeiro periodo da divisão, caracterisado pela formação dos dois nucleos rudimentares. É durante o periodo seguinte, em que os nucleos secundarios crescem e se desinvolvem, que se formam as camadas membranosas e a membrana divisoria.

Os dois nucleos ficaram ligados por fios de materia proteica, *fios nucleares*. Todos se tornam mais espessos na sua parte equatorial, formando assim uma nova placa situada no equador, a *placa cellular*. Neste momento os novos nucleos rodeiam-se completamente de protoplasma, desprendendo-se da massa de fios que os ligam. Os fios nucleares, dispostos d'um e d'outro lado da placa cellular, affastam-se uns dos outros, aproximando-se muito das paredes da cellula e formando uma especie de lente biconvexa. A placa cellular, que divide esta lente em duas metades, conservando-se perpendicular á linha que passa pelos centros dos dois nucleos, transforma-se num disco contínuo, pela união das partes dilatadas dos fios nucleares; experimenta depois uma lenta differenciação interior e divide-se em duas metades, que representam as camadas membranosas das cellulas-filhas.

Antes de se differenciarem completamente as camadas membranosas, apparecem nas suas proximidades grãos de fecula que devem ser empregados na producção da membrana cellulosica.

Com effeito á differenciação d'aquellas duas membranas protoplasmicas segue-se immediatamente a apparição da cellulosa, sob a fórma d'uma camada interna contínua. Na *Picea vulgaris* os fios nucleares não chegam a tocar as paredes da cellula-mãe; a membrana é completada pelo protoplasma interposto entre os fios nucleares e a parede, o qual se apresenta dividido em estrias parallelas á direcção dos fios.

Em resumo, a divisão póde caracterisar-se pelas seguintes phases: 1.° alongamento do nucleo que se torna ellipsoidal; 2.° differenciação da substancia do nucleo em estrias estendidas de pólo a pólo na direcção do eixo maior do ellipsoide; 3.° formação da placa nuclear na região equatorial; 4.° bipartição da placa nuclear em duas metades que se movem na direcção dos pólos; 5.° como resultado do facto anterior, formação dos fios nucleares e dos nucleos das cellulas filhas; 6.° producção da placa cellular; 7.° differenciação d'esta ultima nas duas camadas membranosas; 8.° precipitação, entre as camadas membranosas, da membrana cellulosica divisoria, que se completa com a cooperação do protoplasma ambiente.

A maior parte d'estas acções produzem-se no nucleo primitivo; as duas ultimas em parte da sua substancia, representada pelos fios nucleares: é portanto indiscutivel a completa preponderancia que neste caso cabe ao nucleo em todos os phenomenos da divisão.

Nas cellulas animaes, exceptuando a formação da placa cellular, da qual sómente em alguns casos se têm observado os rudimentos, todas as phases anteriores da divisão são identicas ás que acabamos de descrever na cellula vegetal; manifestam-se até, salvas raras excepções, com maior nitidez, porque as membranas cellulares vegetaes são mais opacas do que as animaes.

Assim, a influencia do nucleo revela-se com evidencia nas seguintes palavras de Strasburger: «Nos ovos das Ascidias foi-nos facil seguir o crescimento da esphera d'actividade dos novos nucleos, manifestada pelo augmento dos raios que os cercavam. Causou-nos o maior interesse poder estabelecer para estas cellulas typicas, onde nada perturba a nitidez do phenomeno, que a fórma da cellula inteira não começa a ser modificada pelas suas evoluções interiores senão quando os raios nucleares attingem a sua peripheria, e ao mesmo tempo começam a encontrar-se no plano equatorial.»

A divisão typica binaria observa-se em cellulas vegetaes de naturezas muito variadas. Citaremos particularmente a divisão da cellula-mãe das cellulas dos stomas da *Iris pumila* e a das cellulas-mães do pollen do *Allium narcissiflorum* e dos sporos do *Equisetum limosum*. Esta ultima planta forneceu a Strasburger o melhor exemplo da divisão da placa nuclear e da formação dos nucleos secundarios á custa das duas metades da substancia do nucleo primitivo. Nos tres exemplos referidos, e em muitos outros, a placa cellular e a membrana cellulosica formam-se sem que os nucleos das cellulas filhas se desprendam dos fios nucleares. Mas o que sobretudo é digno de notar-se na *Iris pumila* e no *Allium narcissiflorum* é que os fios nucleares se affastam por vezes tanto uns dos outros que chegam a tocar a parede da cellula-mãe, e então a membrana divisoria é totalmente constituida sob a exclusiva influencia do nucleo.

A acção do nucleo exerce-se mais facilmente sobre o protoplasma em contacto immediato com elle, do que sobre o que se acha a maior distancia; prova-o a extensão gradual das linhas radiantes nos ovos das Ascidias. Prevê-se pois que o processo typico da divisão deixará de apresentar a nitidez dos casos ante-

riores quando o protoplasma se encher de vacuolos e, pelo augmento de volume da cellula, a camada granulosa se affastar do nucleo; a falta de protoplasma nas proximidades d'este orgão equivale ao decrescimento da sua esphera d'actividade.

Das modificações que, por este motivo, o processo typico experimenta acha-se o primeiro indicio na divisão das cellulas do endosperma do *Phaseolus multiflorus*. Nestas cellulas o nucleo, ligado á camada granulosa por alguns filamentos protoplasmicos que limitam os grandes vacuolos da cavidade cellular, divide-se normalmente; logo que tem de formar a placa cellular, todo o systema dos fios nucleares se dilata e occupa quasi toda a secção onde tem de apparecer a membrana divisoria, que é completada pelo protoplasma parietal. Mas aqui o protoplasma não fórma instantaneamente o resto da membrana, fabrica-a com lentidão, começando por uma protuberancia annular e caminhando da parede primitiva para o interior da cellula, como succedia nas cellulas da *Cladophora fracta*. No momento em que o annel toca a placa cellular, esta produz simultaneamente em toda a sua extensão a membrana divisoria. «A formação da placa cellular e da parede cellulosica comprehende pois aqui duas phases, numa das quaes apparece simultaneamente, e na outra successivamente. O primeiro processo é o primitivo, o segundo é uma adaptação ás condições da cavidade cellular, adaptação que não deve considerar-se como uma acção mechanica immediata dos nucleos, mas antes como resultado d'um estado anterior formado sob a acção dos nucleos, que depois se fixa por hereditariedade, e emfim se modifica em virtude de novas influencias.»

Nas cellulas do endosperma do *Phaseolus* póde encontrar-se ainda outra modificação mais profunda do processo typico da divisão. Em alguns casos o nucleo não é central, está collocado

proximo da parede da cellula; os fios nucleares não se affastam uns dos outros, como antecedentemente, a extensão da placa cellular é muito limitada, e por conseguinte a membrana cellulosica tem de ser completada através de grande parte da cavidade cellular.

Isto leva-nos directamente á divisão cellular na *Spirogyra orthospira* na qual o processo hereditario da formação da parede divisoria cede completamente o logar ao que deriva da adaptação ás condições da cellula, cujo protoplasma se reduz á camada granulosa e a tenues filamentos que suspendem o nucleo central. Na *Spirogyra* a divisão do nucleo faz-se normalmente; todavia a placa cellular sómente attinge uma phase rudimentar, passada a qual desapparece, assim como os fios nucleares interiores. De toda a massa dos fios nucleares restam por fim apenas os externos que dilatando-se vão fixar-se no protoplasma parietal; a parede divisoria fórma-se integralmente á custa do protoplasma peripherico, dirigindo-se perpendicularmente da parede primitiva para o centro. Neste caso as funcções do protoplasma peripherico tornam-se, terminado o primeiro periodo da divisão, quasi completamente independentes das do nucleo, independencia que é um novo resultado da adaptação ás condições da cavidade cellular. As verdadeiras relações do protoplasma com o nucleo durante a divisão traduzem-nas os phenomenos que acompanham a bipartição das cellulas sem vacuolos. Mas, quando o succo cellular desaggrega a massa proteica roubando-lhe a sua continuidade com o nucleo, os dois orgãos ficam impossibilitados de reagir tão facilmente um sobre o outro. Note-se, porém, que o protoplasma parietal não se divide sem que a iniciativa parta do nucleo.

Em condições normaes este orgão actua sobre o protoplasma como um centro de forças attractivas e repulsivas. Temos dito

por mais d'uma vez que, se as estrias radiantes que revelam a existencia d'estas forças interiores na materia proteica não têm ainda sido observadas nas cellulas sem nucleo, isto póde resultar da difficuldade da observação, mas não de propriedades diversas do protoplasma, que o dispensem de affectar disposições symetricas em torno de pontos centraes. E, de facto, a analogia que existe entre certas phases da divisão das cellulas com nucleo e das cellulas sem nucleo leva-nos a concluir que os seus protoplasmas obedecem á mesma lei de distribuição. Assim, em ambos os casos a formação da membrana é instantanea se as cellulas não têm vacuolos, progressiva da parede para o centro nas condições oppostas. Num caso a producção instantanea da membrana tem logar no seio do protoplasma, onde previamente parece differenciar-se a camada membranosa divisoria; no outro a mesma producção chega a realisar-se sob a inteira dependencia do nucleo, que então condensa em si as propriedades manifestadas anteriormente pelo protoplasma, mostrando que a acção d'este ultimo se effectuou como se obedecesse a uma massa central de attracção não individualisada.

Demais a divisão sem nucleo como a effectuam as bacterias é originada visivelmente pelo crescimento da cellula e pela accumulação do protoplasma nas suas duas extremidades dilatadas em torno de dois centros distinctos de concentração. Em geral podemos dizer que a divisão binaria é preparada pelo alongamento da cellula, o que é exacto quer haja nucleo, quer não, tenha ou não tenha vacuolos o protoplasma. Depois de experimentar um certo alongamento é que o protoplasma se desequilibra interiormente e se biparte para tomar fórmas de equilibrio mais estavel.

Embora não seja possivel achar reunidos em cada facto par-

ticular de divisão os caracteres disseminados em todos, é certo que estes são outras tantas manifestações da mesma propriedade do protoplasma. Em summa, a accumulação da materia proteica nas duas extremidades da cellula, cujo alongamento na grande maioria dos casos precede a divisão; as estrias protoplasmicas radiantes; a posição central do nucleo; a posição da membrana divisoria na secção media em relação á qual se effectuam symetricamente as alterações de fórma e distribuição dos orgãos proteicos, etc., tudo revela a necessidade do equilibrio interior. Ainda em muitos casos de hereditariedade abreviada em que a influencia do nucleo se não estende a todas as phases do processo, ou em que o protoplasma não enche a totalidade da cavidade cellular, se verifica a disposição symetrica, relativamente pelo menos ao plano medio onde se opera a divisão.

A individualisação do nucleo é evidentemente vantajosa para a cellula. As funcções da materia viva differenciam-se; emquanto aquella massa central preside aos principaes actos mechanicos da divisão, o protoplasma exerce mais livremente a sua actividade chimica. O nucleo tende pois a fixar-se por hereditariedade. Vel-o-hemos desempenhar funcções importantes em muitos casos de reproducção.

Mas nem sempre as suas propriedades se manifestam com a mesma nitidez. A adaptação da cellula ás condições variadissimas em que é obrigada a desinvolver-se arrasta comsigo a adaptação do nucleo e por conseguinte, como já em parte o mostrámos, a sua menor influencia no acto da bipartição. É possivel comtudo nesses casos, limitados a cellulas muito especiaes onde a adaptação tem sido levada ao extremo, ligal-os ao processo typico por outros intermediarios. Para o comprovar aproveitaremos entre os muitos factos citados por Strasburger um caso notavel em

que o nucleo se torna inutil e passa ao estado de orgão rudimentar, do que se encontram exemplos nas cellulas-mães dos sporos do *Anthoceros laevis*, nas cellulas-mães dos sporos de alguns musgos e nas dos macrosporos do *Isoetes Durieui*. A este respeito observa o mesmo auctor: «as mesmas cellulas-mães, que aqui não empregam o seu nucleo primario, mostram-no em bipartição typica nos seus mais proximos parentes.» No *Isoetes* a transição verifica-se na propria planta; ahi as cellulas-mães dos microsporos, não obstante serem identicas pela sua origem ás cellulas-mães dos macrosporos, dividem-se normalmente. Nesta planta e no *Anthoceros* succede até accumular-se sobre o nucleo rudimentar uma substancia que contém fecula, cujas funcções durante a divisão se assemelham muito ás do nucleo. É certo pois que, apezar do nucleo se tornar inutil, «o phenomeno da divisão não póde emancipar-se d'uma massa central de attracção.» Como se vê ainda neste caso extremo é facil a reducção ao processo fundamental.

Alguns auctores classificam a reproducção cellular por *gomos* como processo distincto do de divisão. A formação do gomo consiste no crescimento devido á accumulação do protoplasma numa parte limitada da cellula, accumulação a que se segue o crescimento terminal da membrana. Fórma-se assim uma protuberancia que se separa da cellula primitiva por uma parede divisoria. Reproduzem-se d'este modo o *Saccharomyces cerevisiae*, as cellulas dos filamentos dos cogumelos e de muitas algas, etc.

Strasburger entende que a reproducção por gomos é reductivel á divisão binaria das cellulas com nucleo. Isto póde acceitar-se no caso em que a cellula-mãe contenha um nucleo onde se supponha iniciada a divisão; mas não é admissivel quando, como acontece no *Saccharomyces*, não ha nucleo. Neste caso a

reproducção por gomos é uma fórma particular da divisão das cellulas sem nucleo. A formação do gomo é um resultado do crescimento do protoplasma perfeitamente comparavel ao alongamento das bacterias antes da divisão; a differença resume-se em que neste ultimo caso o crescimento é total e na cellula do *Saccharomyces* parcial.

Divisão pluricellular. — A divisão pluricellular representa uma phase abreviada do processo de divisão binaria, isto é, equivale a uma somma de bipartições realisadas tão rapidamente, que nos casos mais affastados do processo primitivo são simultaneas. Foram estes ultimos casos de divisão pluricellular simultanea os que fizeram considerar a divisão pluricellular como processo inteiramente distincto da divisão binaria. No exemplo seguinte formam-se simultaneamente muitas cellulas por divisão: no zoosporangio das *Achlia* o protoplasma «divide-se inteiramente, diz Lanessan, em pequenas massas polyedricas, extremamente numerosas, contiguas umas ás outras, que se tornam gradualmente mais distinctas, arredondando-se e formando por fim outras tantas cellulas novas, nuas, que abandonam a cavidade em que foram formadas.»

Entre este caso extremo e a divisão binaria normal conhecem-se processos intermediarios que reduzem o primeiro modo de reproducção ao segundo.

A quadripartição das cellulas-mães do pollen das dicotyledoneas será o nosso ponto de partida. Não acontece aqui o mesmo que se dá nas cellulas-mães do pollen das monocotyledoneas, que experimentam duas bipartições normaes successivas. Nas dicotyledoneas, depois da divisão normal do nucleo e da formação da placa cellular, não se fórma a membrana divisoria das cellulas-

filhas; nesse momento os dois nucleos secundarios dividem-se por seu turno, ficando em direcções cruzadas as linhas que passam pelos seus pólos. Os quatro nucleos resultantes das duas divisões tomam pela sua reciproca influencia uma disposição symetrica tetraedrica; ao mesmo tempo a primitiva placa cellular dobra-se formando quatro quadrantes que, combinados com as placas cellulares dos dois pares de nucleos novos, estabelecem as divisões nitidas do tetraedro. Só mais tarde é que as camadas membranosas das quatro cellulas construem simultaneamente as suas membranas divisorias de cellulosa. Portanto a divisão multicellular é neste caso apparente; a divisão tetraedrica do nucleo resulta da combinação de duas divisões binarias successivas, na primeira das quaes por hereditariedade abreviada se não formou a membrana cellulosica.

As cellulas-mães dos sporos de certas cryptogamicas superiores soffrem, como as precedentes, duas bipartições successivas, mas o processo affasta-se mais da divisão typica; após a bipartição do nucleo primitivo, e sem chegar a formar-se a placa cellular, os novos nucleos dividem-se immediatamente; gerados assim quatro nucleos, apparecem entre elles simultaneamente todas as placas cellulares. A cellula-mãe não soffre divisão alguma sem terminar a quadripartição do nucleo; na primeira bipartição é omittida a formação da placa cellular que devia dividir a cellula primitiva em duas cellulas-filhas. Se o nucleo não tivesse nos phenomenos de divisão a importancia que lhe reconhecemos, a formação dos sporos d'aquellas cryptogamicas seria irreductivel á divisão binaria. Ao contrario a reducção é perfeitamente logica, porque a quadripartição *simultanea* da cellula procede de duas bipartições *successivas* do nucleo.

Assim como estes, outros muitos factos demonstram que a

divisão immediata do nucleo é sempre binaria; quando numa cellula o nucleo parece transformar-se em muitos ao mesmo tempo, podemos ter como certo que ou elle se dissolve, sendo os novos nucleos outras tantas condensações da substancia do primeiro, ou se divide rapidamente em dois que se bipartem de novo. D'esta maneira a transformação d'um em muitos nucleos, sem ser acompanhada das correspondentes divisões da cellula, indica apenas que se effectuam bipartições successivas em que algumas phases intermediarias desappareceram. Não ha muito tempo que isto foi confirmado pelas observações de Treub sobre as fibras liberinas e os vasos laticiferos de algumas plantas (*Humulus Lupulus, Vinca minor, Urtica dioica*, etc.), os quaes encerram muitos nucleos. Estes multiplicam-se bipartindo-se segundo o processo typico, mas não chegam a formar a placa cellular, por isso que as cellulas se não dividem. Notou ainda que «os nucleos d'uma mesma cellula se dividem de preferencia todos ao mesmo tempo»; chegou a contar trinta nucleos nestas condições. Entre tantos nucleos reunidos numa cellula não pôde achar um só que se não reproduzisse por bipartição normal.

A *Ulothrix zonata* offerece-nos outro exemplo de divisão multicellular claramente resultante de successivas divisões binarias. Os zoosporos d'esta planta formam-se geralmente por bipartições normaes. A cellula-mãe, que encerra um nucleo, divide-se dando duas cellulas-filhas; a existencia de nucleos nestas ultimas cellulas mostra que a sua formação é reductivel ao processo typico. Muitas vezes se transformam as cellulas-filhas immediatamente em zoosporos que abandonam a cavidade da cellula geradora; mas é mais frequente experimentarem novas divisões, que podem ainda ser seguidas por outras d'onde resultam oito zoosporos. Raro se encontram numa cellula zoosporos em

numero superior a este. Acontece tambem frequentemente não ser possivel, quando o numero de zoosporos é superior a dois, observar aquellas bipartições successivas; então a producção de todos os zoosporos é simultanea.

Na mesma planta acham-se portanto reunidos os casos extremos da bipartição normal e da divisão pluricellular; os factos incumbem-se de mostrar que a divisão pluricellular constitue um verdadeiro processo abreviado onde muitas phases intermediarias desapparecem. Chegamos assim ao caso extremo em que não é possivel observar na mesma planta os dois processos empregados com fim identico; é o caso das *Achlia* e d'outros cogumelos e algas. Mas as relações que ligam entre si as plantas de qualquer d'estes grupos não nos permittem duvidar de que o mesmo facto seja em todas ellas procedente das mesmas causas; com effeito o exemplo que nos offerece a *Ulothrix* encontramol-o analogamente em outras cryptogamicas cellulares. De resto uma importante particularidade contribue para que a reducção da divisão pluricellular á divisão binaria não possa comprovar-se directamente em todos os casos, naquelles sobretudo em que a cellula-mãe produz simultaneamente grande numero de cellulas-filhas. Nestes casos em geral as cellulas não contêm nucleo; ora, são as divisões d'este orgão, apezar de não coincidirem todas com outras tantas divisões cellulares, que nos auxiliam a estabelecer aquella reducção. Quando o nucleo falta, só a producção da membrana divisoria póde constituir indicio seguro da bipartição, passando desapercebidos todos os actos preparatorios do protoplasma, correspondentes áquellas successivas divisões dos nucleos e anteriores á divisão pluricellular simultanea.

II

Na divisão o protoplasma da cellula geradora passa inteiramente a fazer parte das cellulas-filhas; a cellula-mãe não continúa a existir. Na formação livre a cellula-mãe conserva parte do seu protoplasma ainda depois de dar origem a novas cellulas; continúa portanto a viver, posto que em alguns casos durante pouco tempo.

Entre a formação livre e a divisão pluricellular simultanea existem comtudo muitos pontos de contacto. Em ambos os casos póde a formação das cellulas novas ser ou não iniciada pela d'um nucleo central; é possivel tambem encontrar factos de formação livre perfeitamente reductiveis a outros de divisão binaria; finalmente podemos passar de casos pouco complicados para outros que o são mais, e reconhecer as modificações successivas que o processo primitivo experimentou até revestir os caracteres da verdadeira formação livre.

Este processo é empregado unicamente pelos cogumelos e os lichenes na producção dos ascosporos, e pelas phanerogamicas, no seu sacco embryonario, na formação das vesiculas embryonarias, das cellulas do endosperma, etc. Tem pois uma applicação muito limitada, o que seria sufficiente para nos fazer suspeitar que é um processo derivado e não fundamental.

Uma das perticularidades que mais póde interessar-nos na formação livre é o papel evidente que o nucleo representa como centro de formação da nova cellula. Os phenomenos que então se produzem, e que tivemos occasião de referir a pag. 39 d'este trabalho, completam os conhecimentos que o estudo da divisão

cellular nos forneceu. Na formação livre o nucleo não trabalha na fabricação dos orgãos da cellula, apparentemente pelo menos; mas todos os caracteres, taes como a epocha do seu apparecimento, as suas relações de posição com os outros orgãos cellulares, a distribuição da substancia protoplasmica em torno d'elle, o definem como centro de formação da cellula.

Para darmos um exemplo de verdadeira formação livre, isto é, d'um caso em que completamente nos escapem as suas relações com a divisão binaria, vejamos o que se passa na vesicula embryonaria da *Ephedra altissima*. O protoplasma d'esta vesicula está dividido em duas partes; a terça parte inferior tem grandes vacuolos; as duas terças partes superiores são granulosas, apparentemente homogeneas e compostas de pequenos compartimentos. É esta porção que contém o nucleo. Logo depois da fecundação o nucleo dissolve-se a começar da peripheria para o centro; apparecem em seguida no protoplasma homogeneo, poucas vezes na parte inferior, diversos pontos onde o protoplasma se condensa: são os rudimentos das cellulas geradas por formação livre. Podem os centros de condensação achar-se dispostos em linha na direcção do eixo da vesicula, ou distribuidos irregularmente. As condensações que d'aqui resultam são constituidas pela fórma seguinte: no centro acha-se uma porção mais ou menos espherica, homogenea, que representa o nucleo da cellula; em torno d'esta dispõe-se concentricamente uma zona mais transparente, portanto menos densa, de espessura muito maior do que o diametro da esphera. A densidade da zona involvente augmenta nas partes proximas do nucleo, por conseguinte desde o centro até á peripheria da agglomeração plasmatica as densidades offerecem successivos decrescimentos. Em toda a região transparente as granulações estão dispostas em raios que se di-

rigem do centro para a peripheria. Esta ultima circumstancia, reunida á anterior, assim como á posição central do nucleo, confirma o que temos dito relativamente ás suas propriedades caracteristicas. A massa do nucleo, solida a principio, fórma um vacuolo e um ou mais nucleolos interiores, ao passo que á superficie se rodeia d'um involucro mais denso. O nucleo cresce progressivamente e ao mesmo tempo cresce a zona transparente exterior. É num periodo avançado que póde conhecer-se o contorno da cellula bem limitada no protoplasma da cellula-mãe. As novas cellulas apresentam-se então involvidas por uma camada membranosa; nesta apparecem muitos pontos isolados mais densos, que produzem simultaneamente cellulosa, formando-se logo depois e instantaneamente a membrana externa contínua. O protoplasma perde a sua estructura em raios depois de formada a membrana, torna-se recticulado e enche-se de vacuolos.

Neste processo a construcção d'uma cellula é independente da de todas as outras, o que se não dá em nenhum caso de divisão.

Comtudo a formação livre raras vezes se mostra tão desacompanhada das circumstancias inherentes á divisão cellular. Assim, em todos os processos de divisão as novas cellulas cooperam na construcção da mesma membrana divisoria. No caso anterior cada cellula construe separadamente a sua membrana; mas já assim não acontece no sacco embryonario do *Phaseolus multiflorus*, onde as cellulas geradas por formação livre sómente produzem a membrana cellulosica quando se põem em contacto umas com outras.

No paragrapho antecedente, a fim de relacionar a divisão pluricellular com a bipartição normal, mostramos que as cellulas de certas plantas de natureza muito analoga desempenham com o mesmo fim physiologico as suas funcções de reproducção, umas pelo primeiro e outras pelo segundo processo. O mesmo diremos

da formação livre relativamente á divisão em geral: nas phanerogamicas as cellulas do endosperma nascem vulgarmente por formação livre; mas em algumas familias a adaptação não vingou alterar o processo primitivo, e ahi as cellulas do endosperma formam-se por divisão.

Vejamos agora se é possivel estabelecer casos intermediarios entre a bipartição e o processo empregado pela *Ephedra altissima.*

Em opposição a este ultimo referiremos os factos observados no sacco embryonario da *Orchis pallens,* durante a formação das vesiculas embryonarias e das cellulas antipodas. Julgava-se antes dos trabalhos de Strasburger que todas estas cellulas eram produzidas por formação livre; Strasburger demonstrou que pelo contrario todas procedem de divisões normaes. Com effeito, o nucleo do sacco embryonario divide-se primeiramente em dois, cada um dos quaes se dirige para uma das extremidades do sacco, onde em breve experimenta duas bipartições successivas. Assim se encontram em cada extremidade do sacco embryonario quatro nucleos. Tres d'entre estes tornam-se centros de novas cellulas; o quarto fica livre. As tres cellulas da extremidade superior são as cellulas embryonarias; as da extremidade inferior são as cellulas antipodas. Os nucleos livres caminham pouco depois para o centro do sacco, aonde se reunem para constituirem um só nucleo.

Partindo d'estes factos, que reduzem uma supposta formação livre a processos rigorosos de divisão, podemos interpretar os que foram observados na vesicula embryonaria das Cupressineas. Aqui a formação livre é precedida da dissolução do nucleo. Depois do nucleo se dissolver, a fecula que elle encerrava condensa-se no vertice organico da vesicula, o qual se divide em

tres ou mais cellulas, contendo cada uma um nucleo. Constituidas assim as cellulas, parece que não ficam em liberdade dois nucleos, de cuja fusão possa resultar um novo nucleo para a cellula-mãe. Neste caso dão-se pois alguns factos que o distanceiam do anterior, imprimindo-lhe o caracter de processo abreviado. Em primeiro logar a substancia do nucleo é transportada em dissolução, e não no estado de differenciação morphologica. Em segundo logar, a formação das cellulas é simultanea, não havendo por isso necessidade de apparecer nenhum nucleo em liberdade. Mas é muito notavel que, á semelhança do que se dá na *Orchis pallens*, seja na maioria dos casos egual a tres o numero de cellulas formadas na vesicúla embryonaria das Cupressineas; esta é a mais segura confirmação da identidade fundamental dos dois processos. Todavia algumas vezes acontece apparecerem mais de tres cellulas no vertice vegetativo; isto permitte-nos dar um novo passo no estudo da formação livre.

Quando expuzemos a divisão das cellulas com nucleo, escolhemos as quatro cellulas do vertice organico da vesicula embryonaria da *Picea vulgaris*. A formação d'estas cellulas é precedida, como no exemplo anterior, da dissolução do nucleo primitivo. Já não se observa neste caso a accumulação previa da substancia nuclear no vertice da vesicula, nem a divisão do seu protoplasma, á semelhança do que se dá nas Cupressineas; formam-se simultaneamente os quatro nucleos e por um rapido crescimento adquirem em breve a sua definitiva grandeza; o protoplasma dispõe-se em estrias radiantes em torno das massas nucleares, entre as quaes se estabelecem membranas divisorias. As cellulas não se mostram, porém, independentes umas das outras; pelo contrario, a existencia de membrana divisoria indica que o não são; além d'isto, a posição dos quatro nucleos, situados no mesmo plano e

cruzados entre si, bem como a das paredes de separação, é a mesma que occupariam se as cellulas resultassem de duas bipartições successivas d'uma cellula com nucleo. Parece até, segundo Strasburger, que estas considerações se justificam por uma das suas observações, na qual pôde notar que os granulos reunidos no centro do nucleo primario se separavam uns dos outros, como se effectuassem uma divisão. É este, por certo, um caso de atavismo, em que a formação livre tende a transformar-se no primitivo processo de divisão. Demais em certas circumstancias as quatro cellulas devidas á formação livre são substituidas por oito, como acontece em muitas divisões pluricellulares que, excepcionalmente, dão origem a um numero de cellulas duplo do normal; a semelhança das anomalias é mais outra razão para admittirmos o parentesco dos dois processos.

Relacionado o processo rigoroso de divisão da *Orchis pallens* com o das Cupressineas, onde já se observa a dissolução do nucleo primitivo e o apparecimento da sua massa no vertice organico da vesicula; aproximados d'este modo de formação cellular os phenomenos observados na *Picea vulgaris* (e, em geral, nas outras Abietineas), onde o unico vestigio que resta do processo fundamental de bipartição é a dependencia mutua das cellulas geradas por formação livre; chegamos emfim ao caso extremo realisado pela Ephedra, na qual até esta dependencia desapparece.

Uma coisa que desejamos notar é o importante papel que o nucleo desempenha. Em todos os exemplos que até aqui temos citado, e em todos os casos em que a cellula primitiva possue nucleo, a formação livre é iniciada pela dissolução d'este orgão. Evidentemente a sua substancia, com o poder genetico de que é dotada, vae determinar em pontos distinctos a individualisação

d'outras massas nucleares. Nestes casos excepcionaes, em que é util para a planta a producção instantanea de grande numero de cellulas, o nucleo actua simplesmente como elemento physiologico, por quanto, como elemento morphologico, sómente se reproduz por divisão binaria.

A formação livre em cellulas sem nucleo observa-se nas ascas d'alguns cogumelos durante a formação dos sporos. Neste caso differenciam-se no protoplasma da cellula-mãe pequenas massas arredondadas, que produzem as suas membranas cellulosicas sem exercerem nenhuma acção reciproca entre si. Estas plantas offerecem-nos, do mesmo modo que as phanerogamicas, casos bem caracterisados de transição entre o processo primitivo e o derivado. Assim, entre os cogumelos que formam os seus sporos em cellulas sem nucleo, contam-se algumas *Peziza*, em cujas ascas nascem oito sporos; ora muitas especies do mesmo genero, em cujas ascas existe um nucleo, empregam com fim identico rigorosos processos de divisão. Com effeito, o nucleo primitivo divide-se primeiramente em dois, estes em quatro, e estes em oito; formados os oito nucleos, condensam simultaneamente em torno de si oito massas arredondadas de protoplasma, e construem ao mesmo tempo todas as membranas divisorias. Nos dois casos mencionados a individualisação dos sporos é simultanea, mas no segundo as acções que lhes dão origem são successivas e resumem-se no processo mais simples de reproducção.

Conhecem-se alguns casos de formação livre, em que a cellula-mãe fórma uma só cellula-filha. Referir-nos-hemos a elles no paragrapho seguinte, onde vamos occupar-nos da renovação cellular.

III

A renovação cellular verifica-se sempre que a cellula geradora dá origem a uma só cellula, em cuja formação emprega todo o seu protoplasma. A materia viva da cellula-mãe soffre um novo arranjo interno, adquirindo propriedades differentes das que primitivamente tinha.

Parece que a renovação é exclusivamente empregada na formação de cellulas reproductoras. Encontram-se exemplos d'este processo nas algas, em alguns cogumelos, nas muscineas, nas cryptogamicas superiores e nas gymnospermicas.

A renovação é geralmente iniciada pela contracção da massa protoplasmica. A contracção póde dar-se tambem em certos casos de divisão, especialmente quando no seio das cellulas vegetativas se formam cellulas reproductoras que devem abandonar a cellula-mãe; comtudo não influe sobre o acto da divisão, limita-se a modificar a fórma e as dimensões das cellulas-filhas. Na renovação já é mais importante a sua influencia, porque da contracção depende não só poder o protoplasma abandonar a cavidade onde habita, mas, em virtude de se desligar da parede da cellula, modificar-se interiormente com mais facilidade. Durante a condensação o protoplasma expelle parte do succo cellular. O seu novo arranjo interno manifesta-se principalmente por alguns caracteres exteriores: assim, os zoosporos do *Oedogonium*, formados pelo processo de renovação, têm o seu eixo de crescimento em direcção perpendicular ao da cellula-mãe; a esta circumstancia corresponde no meio d'uma das faces lateraes da massa protoplasmica uma mancha clara, que mais tarde é ro-

deada de celhas vibrateis, constituindo a extremidade da cellula movel pela qual esta se fixa para vegetar.

Em muitos casos de renovação (no anterior, por exemplo) o nucleo não se dissolve; com certeza soffre, assim como o protoplasma, um novo arranjo interno. No entanto as modificações dos orgãos plasmaticos não se revelam á observação por mudanças de estructura; demandam talvez processos experimentaes mais aperfeiçoados.

O processo mais vulgar de renovação resume-se no que fica exposto. A nova cellula é em geral constituida por protoplasma nu, e move-se no liquido ambiente; póde ainda revestir-se d'uma membrana e não ter movimentos proprios depois de abandonar a cellula primitiva (sporos de algumas *Vaucheria*), ou ficar encerrada na cellula-mãe (cellulas centraes dos archegonios, etc.).

O processo de renovação modifica-se em todas as cryptogamicas, cujos anthérozoides têm fórmas alongadas e helicoidaes. Neste caso dissolve-se primeiramente o nucleo da cellula-mãe; apparece em seguida no protoplasma um vacuolo central, e emfim o anthérozoide é constituido á custa do protoplasma parietal, que perde a fórma de sacco para tomar a d'um fio enrolado em helice, munido de celhas vibrateis. A profunda modificação de fórma que soffre o protoplasma demonstra com evidencia que o seu arranjo interno é alterado.

É possivel relacionar os factos de renovação com a divisão binaria, já directamente, já por intermedio da divisão pluricellular ou da formação livre.

Entre as Fucaceas contam-se algumas especies, cujo oogonio produz quatro ou oito oosporos, ao passo que outras especies do mesmo grupo formam um unico oosporo em cada oogonio.

A divisão e a renovação podem ser empregadas pela mesma

planta com fim identico; assim, os zoosporos do *Stigeoclonium insigne*, que geralmente procedem da renovação do protoplasma da cellula-mãe, formam-se em alguns casos por bipartição; Braun assevera até que, quando produz os microzoosporos, a cellula-mãe se divide em quatro cellulas-filhas. Nota-se nas Saprolegnias que certas especies geram habitualmente os seus zoosporos por divisão pluricellular simultanea; as mesmas especies reproduzem-se algumas vezes por verdadeira renovação, substituindo um unico zoosporo a todas as cellulas que normalmente produzem.

A renovação e a divisão são pois physiologicamente equivalentes.

Comparemol-a com a formação livre.

As Peronosporeas produzem um só oosporo por formação livre, dividindo-se o protoplasma do oogonio em duas partes, uma parietal, outra globular central que constitue a cellula reproductora. As Saprolegnias, cujos orgãos sexuaes são muito analogos aos d'aquellas plantas, comprehendem individuos que formam um só oosporo em cada oogonio, empregando todo o protoplasma da cellula-mãe.

Semelhantemente, entre as cryptogamicas superiores, as Rhizocarpicas do genero *Marsilia* formam os seus anthérozoides por um processo que poderia considerar-se formação livre, porque parte do protoplasma da cellula-mãe, o qual aliás se torna inutil subsequentemente, fica sem ser empregado. A formação dos anthérozoides das cryptogamicas ligar-se-hia, por intermedio d'este ultimo processo, á divisão normal. Parece-nos comtudo que, attendendo á fórma por vezes muito estranha d'aquelles anthérozoides, tão difficil é de explicar a sua producção pela formação livre, como pela renovação. Considerando ainda que os anthérozoides com essa fórma, ou pelo menos com a fórma

alongada, não são exclusivos das cryptogamicas superiores, mas caracterisam tambem as characeas e as muscineas, plantas que não empregam o processo de formação livre, entendemos que não podem ser senão producto da evolução dos anthérozoides das algas; por conseguinte o seu modo de formação relaciona-se com os processos de divisão empregados por estas plantas. Mas isto é apenas uma hypothese, que a falta d'outra melhor nos faz admittir.

IV

Em todos os casos de que temos tractado a cellula-filha é formada pelo protoplasma d'uma só cellula-mãe. Na conjugação e na fecundação concorrem para a constituição da cellula dois protoplasmas differentes.

Na conjugação as duas cellulas são apparentemente eguaes. Na fecundação são deseguaes; uma, a cellula feminina póde designar-se pelo nome geral de *oosphera;* a outra, a cellula masculina, é o *anthérozoide.* «Estas differenças, diz Sachs, apparecem pouco a pouco, nomeadamente nas algas e nos cogumelos, e desinvolvem-se por gráus tão insensiveis que entre a conjugação de cellulas completamente semelhantes e a fecundação das oospheras pelos anthérozoides se observam innumeras transições, em virtude das quaes qualquer limite parece artificial e contrario á natureza.» Estas linhas bastam para nos fazerem ver nos processos de fecundação vegetal simples resultados da evolução.

Lanessan expõe com bastante felicidade as diversas phases que atravessam os processos de conjugação até se estabelecer a diffe-

rença dos dois sexos. É nas algas que a conjugação mais frequentemente se verifica; existe tambem em alguns grupos de cogumelos.

Naquellas plantas aponta Lanessan como caso mais simples o que se observa na *Ulothrix serrata*. O protoplasma d'uma cellula divide-se em duas partes eguaes a duas meias espheras, que se affastam uma da outra, e pouco depois se aproximam, associando-se intimamente para formarem uma unica massa protoplasmica com propriedades differentes das da massa primitiva. O novo protoplasma é uma cellula reproductora que, pela ruptura da membrana da cellula-mãe, abandona a cavidade que o encerra e vae desinvolver-se no meio exterior, gerando uma planta identica á que lhe deu origem.

Em outras especies do mesmo genero as cellulas que derivam da divisão do protoplasma primitivo tomam a fórma de zoosporos ciliados, movem-se algum tempo na cavidade da cellula-mãe, e reunem-se emfim constituindo a nova cellula reproductora.

Nas Volvocineas os dois zoosporos são postos em liberdade antes de se poderem reunir; a fusão effectua-se depois de se agitarem por algum tempo na agua.

Até aqui as duas cellulas conjugadas procedem da mesma cellula-mãe. Nos *Pleurocarpus* os dois protoplasmas pertencem a cellulas distinctas. O filamento d'estas algas é constituido por uma serie de cellulas cylindricas; duas cellulas contiguas formam dois gomos que se desinvolvem, caminhando um para o outro até se tocarem; são então absorvidas as paredes cellulosicas que separam os seus protoplasmas, de cuja fusão, effectuada no ponto de juncção dos gomos, resulta a cellula reproductora.

Nos *Mesocarpus* não só são distinctas as cellulas-mães, mas pertencentes a dois filamentos differentes. Quando estes se apro-

ximam, certas cellulas situadas em frente umas das outras formam gomos, em cujo ponto de juncção os protoplasmas se reunem para originarem a nova cellula.

As *Spirogyra* marcam uma phase mais complicada na formação dos seus zygosporos. Em qualquer dos processos anteriores as duas cellulas geradoras têm fórmas e funcções semelhantes; por exemplo, movem-se da mesma maneira. Nas *Spirogyra*, como nos *Mesocarpus*, as duas cellulas fazem parte de filamentos distinctos; mas numa o protoplasma é completamente passivo, condensa-se, expelle o succo cellular e fica immovel, ao passo que o da outra cellula, depois de se condensar, atravessa o canal de conjugação e vem confundir-se com o da primeira. Os dois protoplasmas differem evidentemente entre si de tal maneira que devemos, como o faz Lanessan, chamar ao que se move protoplasma masculino, e ao immovel protoplasma feminino. A differença de sexos revela-se, pois, por uma differença de mobilidade.

Na *Sphoeroplea annulina* a sexualidade caracterisa-se nitidamente. Os filamentos d'esta planta não são, como os das *Spirogyra*, d'uma só especie; podem ser verdes ou escuros, formados uns e outros por cellulas semelhantes. Em algumas cellulas dos filamentos verdes formam-se por divisão as cellulas femininas, nuas e immoveis; nos filamentos escuros produzem-se, pelo mesmo processo, as cellulas masculinas, nuas, ciliadas, moveis e alongadas. Estas, logo que são postas em liberdade, agitam-se na agua e encaminham-se para os filamentos verdes, em cujas cellulas se introduzem através d'alguns poros existentes nas membranas, misturando-se finalmente com o protoplasma feminino.

O phenomeno que acabamos de descrever é uma verdadeira fecundação, em que os anthérozoides e as oospheras estão bem differenciados. Justificam-se assim as palavras de Sachs; entre o

processo mais rudimentar de conjugação e a fecundação outros processos intermedios tornam progressivamente mais sensivel a differença das cellulas reproductoras.

A cellula feminina é em quasi todos os casos conhecidos espherica ou ellipsoidal; por vezes a oosphera das angiospermicas (vesicula embryonaria) é um pouco alongada. Póde resultar já d'uma divisão, como em algumas algas, cogumelos e certas angiospermicas (*Orchis pallens*); já d'um acto de renovação (algas, muscineas e cryptogamicas vasculares); já d'uma formação livre (phanerogamicas). Demais é sempre uma cellula nua, destituida de mobilidade.

A cellula masculina procede em geral d'uma divisão; póde apresentar grande variedade de fórmas, representadas nos anthérozoides mais ou menos arredondados de certas algas, nos anthérozoides filiformes das characeas, muscineas e cryptogamicas vasculares e no tubo pollinico das phanerogamicas. Exceptuando alguns cogumelos, e, entre as algas, as Florideas, os anthérozoides das cryptogamicas são dotados de mobilidade propria; mas o caracter constante de todas as cellulas masculinas, ou sejam moveis ou não, é serem directamente transportadas até encontrarem a cellula feminina.

A indole d'este trabalho não comporta o exame da differenciação que desde as plantas inferiores até ás superiores se nota não só nos apparelhos reproductores, como na propria organisação vegetal, differenciação sempre relacionada com os phenomenos sexuaes. O nosso unico fim consiste em determinar o processo por que a nova cellula é gerada, pondo de parte as suas relações com a planta que procede do seu desinvolvimento, ou com a que lhe dá origem. Isto é do dominio da morphologia especial e do transformismo.

Necessitamos de saber em que consiste essencialmente o facto da conjugação e da fecundação. Sempre que a acção tem logar entre duas cellulas nuas está demonstrado que se opera uma verdadeira fusão dos seus protoplasmas. Na conjugação das *Spirogyra* as massas protoplasmicas misturam-se tão intimamente, que as suas duas fitas de chlorophylla se ligam para formarem uma só fita enrolada em helice. Os anthérozoides das algas, das muscinèas, dos fetos e das rhizocarpicas diffundem-se na massa da oosphera, como o verificaram Pringsheim, Hofmeister, Strasburger e Hanstein. Nas coniferas ainda ha poucos annos se julgava que apenas se dava um phenomeno de contacto, mas Strasburger demonstrou o contrario; o conteúdo do tubo pollinico atravessa por diffusão a membrana cellular e penetra na vesicula embryonaria. É pois de prever que em todas as plantas superiores a fecundação seja devida á alliança intima das duas substancias, masculina e feminina.

O effeito da fusão das duas massas protoplasmicas traduz-se sempre por um augmento d'actividade genetica da cellula fecundada; na oosphera, convertida em oosporo, operam-se divisões successivas que reproduzem a planta que a gerou. Visto que o nucleo é o orgão que preside aos actos de geração asexual, é provavel que sobre elle recaia immediatamente a acção do protoplasma masculino. Nas cellulas sem nucleo certamente o seu accrescimo d'actividade depende da modificação do protoplasma; mas, nas que contêm um nucleo, concebe-se naturalmente que, assim como esta massa central exerce uma influencia predominante na multiplicação da cellula, seja ella tambem a que primeiro se modifica no acto sexual. E com effeito vimos no estudo da divisão e da formação livre que o facto que immediatamente se segue á fecundação é a dissolução do nucleo; mostrámos ainda

que a dissolução nestas circumstancias corresponde a um processo abreviado de divisão.

É possivel até que os nucleos das duas cellulas actuem directamente um sobre o outro, o que seria a consequencia necessaria e a confirmação da theoria que temos adoptado sobre as funcções d'este orgão. A *Orchis pallens* offereceu-nos já um exemplo do que poderiamos chamar conjugação de dois nucleos. Ahi, das extremidades do sacco embryonario dirigem-se para o centro dois nucleos livres, de cuja fusão resulta uma nova massa nuclear central.

Na conjugação de cellulas que encerram nucleos activos, estes fundem-se provavelmente um no outro; todavia, como estas cellulas contêm sempre granulações, corpos chlorophyllinos, etc., e, além d'isso, se contrahem muito durante a fusão, deve ser difficil verificar a acção reciproca dos nucleos. É certo que a cellula resultante da conjugação contém um só nucleo, que póde derivar da associação das massas nucleares das cellulas conjugadas, assim como nas *Spirogyra*, por exemplo, a fita de chlorophylla do zygosporo resulta da reunião das fitas das cellulas que entram na sua formação.

Strasburger entende que a fecundação das oospheras, onde existe nucleo, consiste essencialmente na introducção de novas massas nucleares, que vão reagir directamente sobre o nucleo. Assim, nas coniferas, o conteúdo do tubo pollinico, depois de penetrar na vesicula embryonaria, fórma geralmente uma agglomeração nucleiforme que caminha para o nucleo da vesicula e se funde com elle. Raras vezes apparece mais do que uma d'aquellas agglomerações. Noutros casos o conteúdo do tubo pollinico, sem se condensar previamente, caminha, á medida que penetra na vesicula, para o nucleo, em cuja superficie se deposita sob a fórma

de granulações. Em geral a fecundação é acompanhada da dissolução da fecula do tubo pollinico, a qual reapparece no estado de fecula, ou affecta outra constituição. Ora, já em outro logar dissemos que muitas vezes se observa, durante a divisão e a formação livre, que no logar onde deve formar-se um nucleo se accumulam antecipadamente grãos de fecula; citámos até um exemplo (formação livre nas Cupressineas) em que o nucleo primitivo, depois de dissolvido, é transportado a um ponto situado a distancia e ahi se condensa sob a fórma de grãos amylaceos; logo, a dissolução e a passagem da fecula do tubo pollinico para a cellula feminina corresponde na realidade á introducção de novas massas nucleares. Aqui, como na formação livre, o papel do nucleo, cuja massa é transportada em dissolução, é physiologico e não morphologico.

As cellulas animaes, identicas ás dos vegetaes nas phases da sua divisão, são ainda muito semelhantes nos phenomenos que experimentam durante a fecundação, e ahi a importancia do nucleo tem-se manifestado d'um modo indiscutivel. É sufficiente para o provar o facto seguinte: Hertwig notou que em alguns casos a massa fecundante introduzida no ovo se rodeia immediatamente de raios de materia proteica, ao passo que em torno do nucleo ovular o protoplasma se conserva homogeneo. A massa fecundante caminha, involvida sempre pelos raios proteicos, na direcção do nucleo do ovo; só desde o momento em que ambas as massas se unem é que este ultimo se cérca de raios protoplasmicos.

O estudo que fizemos habilita-nos a concluir que tanto a conjugação como a fecundação têm por fim gerar uma cellula dotada

em alto gráu da faculdade de se reproduzir, quer por divisão, quer por formação livre. A cellula feminina não se multiplica emquanto não recebe a influencia da substancia masculina. Na conjugação as duas cellulas, que em geral só podem contribuir para formar, por successivas divisões, novas cellulas vegetativas, dão origem, depois de associadas, a uma cellula destinada a desinvolver-se independentemente da planta primitiva e a reproduzil-a. As observações que referimos ácerca do papel do nucleo no acto sexual lançam uma luz inesperada sobre esta questão; á medida que as duas cellulas se mostram mais differenciadas, ao passo que nos aproximamos das plantas superiores, nas quaes o processo se reduz ao que nelle existe de essencial, a fusão das duas massas protoplasmicas deixa de effectuar-se com a totalidade da sua substancia e resume-se na alteração directa do nucleo da cellula fecundada, imprimindo d'este modo um accrescimo d'actividade ao orgão que na cellula se differenciou com o fim de presidir á reproducção. Considerada d'esta maneira a fusão das duas massas geradoras é apenas um acto preparatorio da divisão, como todas as funcções nutritivas; o *oosporo* que resulta da sua associação representa uma cellula que se nutriu e desinvolveu anormalmente em curto espaço de tempo, e que por isso póde experimentar um crescimento rapido.

E, com effeito, o que caracterisa a conjugação, bem como a fecundação, não é o facto de duas massas protoplasmicas se associarem para constituirem um só individuo. Esta propriedade é inherente á natureza do protoplasma como á de todas as substancias organicas e inorganicas. Observa-se, por exemplo, nas moneras e nos myxomicetos, unicamente como a soldadura de massas plasmicas distinctas sem manifestar os caracteres dos actos de geração. Uma monera, a *Protomixa Aurantiaca*, re-

produz-se por meio d'uma especie de sporos pyriformes ciliados, que, quando encontram um corpo solido, se convertem em glomerulos amiboides e caminham sobre elle como as amoebas. Constituem assim pequenos corpusculos mucosos que podem fundir-se uns nos outros, em numero variavel, para formarem outro corpusculo maior. Isto mesmo, com identica transformação dos sporos em glomerulos amiboides e a fusão de duas ou muitas d'estas pequenas massas, se observa durante a formação das plasmodias dos myxomicetos. Nestes organismos inferiores a associação das massas plasmicas é apenas um modo de crescimento; não se multiplicam immediatamente depois, porque são muito rudimentares e se adaptaram a condições especiaes que lhes permittem formar grandes massas plasmodicas estendidas sobre os corpos solidos.

É necessario chegar a organismos, cujo apparelho vegetativo seja mais differenciado, para que o crescimento ou o excesso de actividade rapidamente adquirida possa arrastar comsigo a multiplicação da cellula e a faculdade de se desinvolver individualmente.

Tomemos o caso mais simples que referimos entre os processos de conjugação. Em algumas cellulas da *Ulothrix serrata* o protoplasma divide-se em duas meias espheras, que, depois de viverem isoladas durante certo espaço de tempo sem abandonarem a cavidade da cellula-mãe, se associam e originam uma cellula que reproduz a planta. Em outras cellulas do mesmo vegetal a divisão é exclusivamente empregada em produzir cellulas vegetativas, que continuam a fazer parte dos seus filamentos. Evidentemente, se depois da conjugação as propriedades da massa protoplasmica fossem identicas ás suas propriedades primitivas, a sua actividade estaria tambem reduzida á geração de cellulas vege-

tativas. Pelo contrario, póde experimentar um desinvolvimento independente e dispensar o concurso dos organismos com que vive associada, para se alimentar directamente no solo. Provém este accrescimo de actividade das propriedades novas, adquiridas pelas duas metades da massa protoplasmica emquanto viveram isoladas. Com certeza a somma das modificações experimentadas pelas duas cellulas-filhas, antes de reconstituirem um só individuo, é maior do que as que experimentaria toda a massa primitiva em tempo egual: é um principio geral, comprovado por innumeros factos, que nunca dois individuos, por muito semelhantes que sejam, experimentam identicos desinvolvimentos; as consequencias da adaptação fazem-se sentir em todos os organismos e em todas as circumstancias. Ora, a actividade vital é tanto maior, quanto mais variadas as elaborações que o organismo fôr capaz de fazer soffrer ás substancias que o alimentam; e a um excesso da faculdade de se nutrir corresponde necessariamente na cellula, em condições normaes, uma nutrição mais activa, um crescimento mais rapido. É o que se verifica em todos os actos de conjugação e em todos os de fecundação, que se ligam phylogeneticamente aos primeiros. A differença dos sexos está, por assim dizer, latente nas duas cellulas conjugadas, e accentua-se á medida que as funcções se differenciam.

Mas não é sómente uma interpretação, uma hypothese o que propomos, é a traducção real da natureza do phenomeno. A *Spirogyra orthospira* reproduz-se por conjugação; não fórma zoosporos. Possue comtudo, em casos anormaes, uma fórma de reproducção asexual que physiologicamente equivale áquelle processo. As cellulas da planta têm uma tendencia muito pronunciada a arredondarem-se em virtude da pressão do succo interior. Em algumas acontece que, por um augmento de actividade,

chegam a accumular tal quantidade de liquido, que se desprendem do filamento e se desinvolvem isoladamente, reproduzindo a planta. Obtem-se artificialmente o mesmo phenomeno se, depois de sujeita durante muito tempo a planta a condições de nutrição desfavoraveis, se fizer variar rapidamente a natureza do meio, tornando-o apto para nutrir o vegetal. As melhores condições de alimentação, originando o desprendimento mechanico da cellula, transformam as suas propriedades de cellula vegetativa nas propriedades de cellula reproductora, que normalmente só adquire conjugando-se com outra.

Se os resultados são identicos em qualquer dos processos, não podem deixar de ser da mesma ordem as modificações que ambos fazem experimentar ao protoplasma.

CAPITULO III

Summario: Phenomenos de movimento. *Contractilidade;* é o resultado d'acções physico-chimicas. Classificação dos movimentos.—I Movimento browniano. Acção dos agentes externos.—II Correntes. Theoria d'estes movimentos. As correntes consistem no movimento da agua sob a influencia das substancias osmoticas da cellula. Divisão do trabalho chimico do protoplasma.—III Movimentos amiboides. Phenomenos de osmose das malhas protoplasmicas.—IV Rotação do protoplasma.—V Movimentos dos vacuolos contracteis. Variação periodica do trabalho chimico da cellula.—VI Natação das cellulas moveis e movimentos dos grãos chlorophyllinos. Acção da luz sobre o protoplasma verde. *Sensibilidade* do protoplasma; esta propriedade não differe essencialmente dos outros attributos da materia viva. Natação das cellulas incolores; acção das correntes osmoticas. Movimentos dos grãos de chlorophylla; sua relação provavel com os movimentos circulatorios. Natação das cellulas verdes; nova variação periodica do trabalho chimico da cellula. Hypothese de Cohn.

Comprehendemos sob a designação de «phenomenos de movimento da cellula vegetal» todos os deslocamentos, já parciaes, já totaes, effectuados pela materia viva com relação a um ponto fixo.

A causa do movimento, segundo alguns physiologistas, é a *contractilidade* do protoplasma, propriedade em virtude da qual elle se contrahe e se dilata alternadamente em dois sentidos oppostos. A contractilidade, na opinião d'estes auctores, é exercida pelo protoplasma espontaneamente, sem estimulo exterior; depende immediata e exclusivamente da constituição da materia viva.

Para aquelles que não vêem nos phenomenos vitaes senão manifestações de forças physico-chimicas os factos de movimento têm uma origem mechanica; a contractilidade é sempre uma resultante e nunca uma causa. É assim que nós a consideramos, porque não só em muitos casos os movimentos protoplasmicos são determinados por agentes externos conhecidos, senão que na producção de certos movimentos é absolutamente impossivel observar contracções na massa proteica.

Os movimentos observados nas cellulas vegetaes apresentam caracteres muito variados. Expol-os-hemos pela ordem seguinte: 1.° *movimentos brownianos;* 2.° *circulação sob a fórma de correntes no interior da massa protoplasmica;* 3.° *movimentos amiboides;* 4.° *rotação do protoplasma;* 5.° *movimentos dos vacuolos contracteis;* 6.° *natação das cellulas moveis e movimentos dos grãos chlorophyllinos.*

I

O movimento browniano consiste numa agitação incessante de que se acham animadas certas granulações, assim como algumas bacterias inferiores e alguns cogumelos do grupo dos Schizomicetos.

Muitos corpusculos inorganicos, suspensos nos liquidos, executam movimentos identicos; não são pois caracteristicos das cellulas vivas. Esta circumstancia leva-nos immediatamente a attribuir o movimento browniano á influencia dos agentes physicos.

Segundo Stanley Jevons, as elevações de temperatura diminuem a rapidez d'este movimento, ao passo que um decresci-

mento de calor o torna mais rapido. Um grande numero de reagentes, acidos mineraes, alkalis e saes podem diminuir a sua velocidade, ou fazel-o cessar inteiramente. A influencia de todos estes reagentes é identica sobre os corpusculos inorganicos e os organismos monocellulares. E como todos elles têm a propriedade de tornarem os liquidos mais conductores da electricidade, entende Lanessan que os movimentos brownianos são determinados não só pelo estado thermico, mas electrico, do meio. Este auctor menciona ainda, como agentes com influencia provavel nos movimentos brownianos, a luz e a gravidade.

Mas deixemos esta ordem de movimentos, que são unicamente devidos ás acções dos agentes externos, e consideremos os que se produzem sob a fórma de correntes.

II

Rara é a cellula vegetal no interior de cujo protoplasma se não produzam correntes em algum periodo vegetativo.

As correntes sómente se observam nas partes granulosas, e são em todos os casos reveladas pelos movimentos dos granulos que transportam.

Nos myxomicetos não só a massa principal, mas os braços de substancia proteica anastomosados entre si manifestam uma constante circulação interior. Nas cellulas cobertas pela membrana cellulosica as correntes observam-se tanto na camada granulosa, como no nucleo, e sobretudo nos filamentos que ligam este ultimo ao protoplasma parietal. Muitas vezes no mesmo filamento

caminham lado a lado, parallelamente, duas correntes de sentido opposto; e em geral é de prever que o desequilibrio originado por uma corrente seja restabelecido por outra contraria.

A substancia que caminha através do protoplasma é mais aquosa do que a massa apparentemente immovel que a rodeia, e por isso suppozeram alguns auctores que no protoplasma existe um verdadeiro systema vascular constituido por canaes de materia proteica, no interior dos quaes se produz a circulação. Hugo de Mohl observa com toda a razão que a hypothese da vascularidade do proroplasma vae contra uma das propriedades mais caracteristicas das correntes, a de variarem constantemente de direcção e numero. Nem a ella nos refeririamos agora, se um dos seus defensores não fosse Garreau, que attribue ás paredes dos vasos movimentos de contracção, e a estes o movimento que constitue a corrente. Mohl rejeita ainda esta hypothese, fundado na experiencia que passamos a citar. Nos pellos da *Urtica baccifera* as correntes percorrem os filamentos que separam os vacuolos da cavidade cellular. Uma folha d'esta planta seccou em quasi toda a sua extensão; Mohl notou que o protoplasma dos filamentos dos pellos se encostava á membrana, e que as granulações se distribuiam uniformemente em toda a camada parietal. Lançou os pellos em agua; decorrido algum tempo, o protoplasma estendia-se de novo em filamentos, os granulos perdiam a sua distribuição homogenea, e a circulação restabelecia-se. Mohl faz notar que é impossivel explicar estes factos, admittindo a existencia de membranas de materia proteica formando canaes.

Nós, sem acceitarmos a opinião de Garreau, entendemos comtudo que o caracter principal que distingue a materia em circulação da restante massa protoplasmica é a proporção d'agua que ambas encerram; não póde aventar-se uma hypothese sem razão

que a determine, e Garreau prova com muitas observações que a substancia da corrente é mais viscosa do que as suppostas paredes dos vasos que ella percorre. Mas este auctor suppunha o movimento originado pelas contracções das paredes vasculares, e attribuia estas contracções á propriedade *animal* da contractilidade. D'esta maneira a verdadeira causa e necessidade da circulação desconhece-se sempre; attribuimol-a a uma propriedade que não comprehendemos, sem determinarmos se na verdade é util para a vida da cellula que parte da sua substancia interna se mova.

Estas difficuldades desapparecerão, se considerarmos os movimentos como phenomenos physico-chimicos.

Em primeiro logar, tendo a materia viva uma estructura propria recticulada, a producção das correntes deve coincidir com a ruptura das malhas protoplasmicas em todo o trajecto percorrido; esta condição é indispensavel para que haja movimentos tão apparentes como os dos granulos solidos que as correntes transportam, e facil de admittir, porque a formação dos vacuolos é uma prova de que a accumulação d'agua origina a ruptura da rede protoplasmica. Sendo assim, imaginemos que por qualquer motivo a agua tende constantemente a accumular-se num ponto da cellula; d'aqui resulta immediatamente um desequilibrio osmotico interno; a agua afflue na direcção indicada, e como ao mesmo tempo tende a restabelecer-se o equilibrio, o liquido experimenta outro movimento em sentido contrario. Geram-se portanto no interior do protoplasma duas correntes aquosas oppostas. O liquido arrasta comsigo não só grande proporção de substancias proteicas, mas corpos de naturezas diversas, soluveis e insoluveis. Em muitos casos as correntes transportam grãos de fecula, que são conduzidos passivamente; todavia, como as correntes os

diffundem nos logares para onde se dirigem, é possivel que a sua passagem d'uns para outros pontos da cellula favoreça o protoplasma no desempenho das suas funcções.

Nesta maneira de ver, a circulação consiste essencialmente no movimento da agua; a causa que a produz póde residir em partes da cellula distantes d'aquellas onde o movimento é observado. Hofmeister foi o primeiro que appellou para a variação do poder de imbibição do protoplasma com o fim de explicar mechanicamente as correntes. «É necessario suppôr que o protoplasma se compõe de particulas microscopicas differentes e dotadas d'um poder de imbibição variavel; todas estão involvidas por camadas aquosas; se a diminuição e o augmento do poder de imbibição se alternarem regularmente em series continuas de moleculas, a agua, expulsa das partes que se acham na primeira d'aquellas condições, será absorvida pelas que se acham na segunda, e posta d'este modo em movimento. Um arranjo conveniente nas series de moleculas poderá facilitar a propagação do movimento em toda a massa do protoplasma. Para os orgãos protoplasmicos, onde as correntes são variaveis, é necessario admittir alterações na direcção segundo a qual a imbibição augmenta ou diminue. Explicam-se assim facilmente todas as irregularidades das correntes e comprehende-se a razão por que na plasmodia dos myxomicetos certas regiões não apresentam correntes; são simplesmente partes nas quaes o poder de imbibição não varía.»

Se não podessemos ir além d'isto, a explicação seria tão incomprehensivel e arbitraria como a que admitte a contractilidade. O auctor não diz no que consiste a variação do poder de imbibição molecular, e emitte ainda a hypothese gratuita de que na geração d'uma corrente cooperam muitas series de moleculas por um jogo regular de alterações na sua attracção para a agua,

Hoje todavia possuimos alguns elementos que nos permittem interpretar mais definidamente a formação das correntes.

Os factos de movimento não são exclusivos do protoplasma cellular; movem-se orgãos inteiros das plantas, folhas, flores e ramos. A origem d'estes movimentos está sempre localisada numa pequena parte do orgão movel; na base dos pedunculos das flores, dos peciolos das folhas, e na base dos ramos os tecidos apresentam uma dilatação, de cujo augmento ou diminuição de turgescencia depende o movimento do orgão. Estes movimentos podem ser periodicos ou não periodicos; está demonstrado que em todos os casos são determinados pela accumulação d'agua naquella parte dilatada dos tecidos, a que podemos chamar *orgão motor*, que por não ter estructura symetrica com relação a um ponto central, soffre em duas faces oppostas variações deseguaes de volume e de tensão, quando varía a proporção d'agua que encerra.

Era até ha pouco tempo desconhecida a causa d'esta variação de tensão. P. Bert pôde determinal-a com respeito ao movimento periodico conhecido pelo nome de *somno das plantas*, em virtude do qual os seus orgãos tomam durante a noite posições differentes das que apresentam de dia, e variaveis com a especie a que a planta pertence. P. Bert fez as suas experiencias sobre a Sensitiva. Na posição nocturna os orgãos motores das folhas d'esta planta contêm, como o indicam as reacções mais caracteristicas, uma quantidade de glucosa muito maior do que os peciolos; tomando pesos eguaes de orgãos motores e de peciolos, esmagando-os na mesma quantidade d'agua, recolhendo os dois liquidos assim obtidos, e collocando-os aos lados da membrana d'um endosmometro differencial, observa-se que o liquido dos orgãos motores attrahe energicamente o dos peciolos. P. Bert tira d'aqui

a conclusão de que é ao grande poder osmotico da glucosa que devem attribuir-se as variações de turgescencia dos orgãos motores. Durante o dia as cellulas chlorophyllinas fabricam os principios ternarios, que uma ou duas horas antes da noite principiam a accumular-se nos orgãos motores no estado de glucosa; é então que começam a produzir-se os movimentos periodicos dos foliolos e dos eixos secundarios e primarios da planta: a condensação da glucosa cresce até pouco depois da meia noite, hora em que a tensão dos orgãos motores é maxima; d'ahi em deante a materia assucarada, que não continúa durante a noite a ser fabricada pelas cellulas verdes, desapparece ao passo que se diffunde nos tecidos do vegetal para ser consumida nos actos nutritivos, e os membros da planta voltam progressivamente á sua posição diurna.

O mesmo auctor explica, pelas variações da proporção de glucosa nos orgãos motores, o *heliotropismo*. Emquanto que o anterior movimento periodico depende da acção diurna dos raios de media refrangibilidade sobre a planta, o heliotropismo depende dos raios mais refrangentes; assim, se a parte mais illuminada do orgão motor fôr coberta com uma gota de tinta vermelha, a folha não se desloca, mas, se á tinta vermelha se substituir a tinta preta, produz-se um movimento do peciolo analogo ao movimento nocturno, e que por isso indica um augmento de tensão no orgão motor. Segundo Bert, isto prova que os raios mais refrangentes do espectro actuam sobre a glucosa, ou pelo menos sobre a sua hydratação que diminue do lado mais illuminado, determinando o movimento de flexão chamado heliotropismo, cuja direcção é marcada pelo movimento do sol. Deixamos esta hypothese á inteira responsabilidade do auctor.

P. Bert mostrou que as variações da evaporação não exercem

sobre os movimentos uma influencia tão importante como alguns physiologistas suppunham; uma Sensitiva mergulhada na agua começou a effectuar o movimento nocturno uma hora mais cedo, e acabou uma hora mais tarde do que nas condições normaes. Portanto a acção da glucosa é a capital.

Sendo o poder osmotico d'esta substancia sufficiente para determinar deslocações em orgãos de tão grande peso e tão volumosos como são os ramos, é de prever que no interior da cellula possa gerar correntes aquosas. Se fosse possivel, em todos os casos em que a circulação tem sido observada, provar que a glucosa, ou outra substancia assucarada, ou emfim um corpo qualquer dotado de grande attracção para a agua, se accumula na parte do protoplasma para onde a corrente se dirige, faltando nos pontos d'onde ella procede, a causa do movimento circulatorio ficaria determinada. Com quanto estejamos longe de o demonstrar com a generalidade que esta questão demanda, podemos fazel-o num caso em que a utilidade do movimento circulatorio é manifesta.

Referimo-nos ás correntes que, durante a divisão das cellulas cujo protoplasma tem grandes vacuolos, acompanham a formação da membrana divisoria. Neste caso é a membrana construida pelo protoplasma parietal, e caminha da peripheria para o centro; as correntes dirigem-se de todas as partes da cellula até á sua secção media; a principio são bem distinctas, pouco numerosas e regularmente dispostas; mas, quando a membrana se aproxima do centro, crescem em numero e tornam-se irregulares. Segundo Strasburger, têm ellas por fim o transporte dos materiaes que hão de constituir a membrana (as correntes arrastam quasi sempre comsigo grãos de fecula). Ora, na theoria que adoptámos sobre a synthese da cellulosa, admittimos que esta

é sempre devida á acção d'um fermento sobre a saccharosa, a qual, segundo todas as probabilidades, procede da condensação das glucosas; por conseguinte na zona onde se fórma a membrana existem antecipadamente materias assucaradas; em todas as outras partes da cellula os corpos ternarios acham-se vulgarmente no estado de grãos amylaceos. A saccharosa e a glucosa da secção media da cellula attrahem a agua com grande energia, o que se não dá com os grãos amylaceos espalhados na massa protoplasmica; o desequilibrio osmotico revela-se naturalmente por correntes liquidas dirigidas para a nova membrana; e como todas estas transportam grãos de fecula, ou outros corpos hydrocarbonados, são continuamente produzidas na secção media da cellula a glucosa e a saccharosa, e a circulação nunca se interrompe. Nesta hypothese as materias hydrocarbonadas, que nas outras partes da cellula manifestam pequeno poder osmotico, transformam-se na zona onde se fórma a membrana em outras substancias que constituem verdadeiros centros de attracção para a agua. Comprehende-se, pois, que a distribuição das correntes, a principio uniforme, se torne irregular quando os centros de attracção se aproximam e influem mutuamente sobre as correntes que uns e outros produzem. Explica-se tambem o que anteriormente dissemos: as correntes são geradas em pontos distinctos d'aquelles onde se observam; consistem essencialmente no movimento da agua que impregna o protoplasma, e arrastam passivamente differentes substancias que podem ser necessarias para o trabalho chimico da cellula, e até, no nosso caso, para manter a constancia da circulação.

Poderão estas considerações applicar-se a todos os generos de correntes? Entendemos que sim. No caso anterior a nossa hypothese parece-nos bem justificada; noutros casos, em que se não

formam membranas cellulosicas, é extremamente verosimil que no interior do protoplasma se dê uma divisão de trabalho, que determine em pontos distinctos differentes poderes de imbibição, como diz Hofmeister. As glucosas são importantes não só para a constituição da membrana, mas para a dos albuminoides, e estes formam-se continuamente para supprirem as perdas devidas á respiração. Será estranho que em alguns casos a transformação do amido em glucosa se produza sómente em certas partes do protoplasma, constituidas por esse facto em centros de attracção para a agua? Pelo contrario, a lei da divisão do trabalho, fundamental em biologia, applica-se aos organismos monocellulares, como aos de estructura mais complicada; manifesta-se já na formação do involucro cellulosico; nada nos impede de a applicarmos com toda a generalidade ao trabalho chimico do protoplasma.

Admittida esta hypothese, é facil interpretar as particularidades apresentadas pelas correntes, por exemplo, a de variarem facilmente de direcção, assim como o seu reapparecimento, pela acção da agua, nos pellos da *Urtica baccifera* (Mohl).

III

Além dos movimentos circulatorios, o protoplasma possue outra propriedade não menos geral de se deslocar parcial ou totalmente, soffrendo alterações de fórma. Nas cellulas nuas estes movimentos sómente se produzem ao contacto dos corpos solidos; nas cellulas com membrana observam-se quando ellas têm va-

cuolos, e tanto mais facilmente quanto maior é a cavidade cellular.

Os myxomicetos offerecem entre os vegetaes o exemplo classico dos movimentos amiboides. Em condições favoraveis emittem em diversas direcções prolongamentos que crescem e se ramificam, ligando-se entre si para formarem numerosas anastomoses, cujo conjuncto fórma a plasmodia d'estes cogumelos. Muitas vezes os prolongamentos retrahem-se e confundem-se de novo com a massa principal. Em certas circumstancias a plasmodia do *Aethalium septicum* move-se sobre a casca do Carvalho, onde vive; para isso parte da sua massa fórma uma saliencia, em cuja direcção todo o corpo principal se desloca, percorrendo distancias relativamente consideraveis. É assim tambem que as moneras e as amoebas, que deram o nome a estes movimentos, caminham, arrastando-se algumas no fundo dos mares, outras sobre qualquer supporte solido.

No interior das cellulas que têm membrana cellular os movimentos amiboides são mais limitados, os deslocamentos do protoplasma necessariamente parciaes; a camada proteica parietal augmenta ou diminue de volume successivamente em varios pontos; os filamentos soffrem variações de fórma e de direcção; não só estes, mas o protoplasma parietal emittem novos prolongamentos que se anastomosam, ao passo que os filamentos primitivos podem reunir-se de novo entre si. Todos estes movimentos, já nos organismos nus, já nos que estão involvidos pela membrana cellulosica, se effectuam muito lentamente. Nestes ultimos o nucleo é por vezes deslocado pelos filamentos que o suspendem, soffrendo variações de fórma, e alongando-se irregularmente, em geral na direcção do movimento. Quando isto se dá já o nucleo tem perdido a sua actividade.

Os movimentos amiboides de translação total não são, comtudo, exclusivos dos organismos nus. As Diatomaceas, apezar de possuirem membranas siliciosas, movem-se sobre os corpos solidos por um processo que só póde comparar-se ao dos movimentos amiboides. De facto, uma das propriedades d'estas algas é a de deslocarem os pequenos granulos que se encostam á sua superficie; «este deslocamento dos granulos, diz Sachs, só tem logar segundo uma linha longitudinal da membrana, onde Schultze suppõe que existem fendas ou aberturas, pelas quaes o protoplasma póde sahir para o meio exterior.» Seria pois o protoplasma que, em contacto directo com os corpos solidos, se moveria. Engelmann admitte esta hypothese, fundando-se em novas observações. As Diatomaceas não se movem livremente na agua, e portanto o seu movimento nem póde attribuir-se a celhas vibrateis, nem a correntes osmoticas; necessitam do contacto d'um corpo solido, e então repousam sempre sobre uma das suturas longitudinaes observadas por Schultze, movendo-se na direcção d'esta sutura, ora num sentido, ora no sentido opposto; finalmente, são os granulos que se acham sobre as suturas os unicos que se deslocam, notando-se o seu movimento ainda no caso em que a cellula se conserva immovel.

A explicação dos movimentos amiboides filia-se naturalmente na hypothese que emittimos a respeito das correntes.

Os movimentos amiboides consistem em dilatações e contracções do protoplasma, propriedades ligadas a uma outra de caracter puramente physico, a qual recebeu o nome de *elasticidade* do protoplasma, e que por seu turno depende da quantidade d'agua que impregna a materia proteica. Quando uma solução concentrada de assucar rouba ás cellulas parte da sua agua, o protoplasma, que se contrahe desligando-se da parede cellular,

conserva-se, segundo Naegeli, homogeneo, sem formar pregas; introduzido de novo na agua readquire o seu primitivo volume. Infere-se d'aqui que a capacidade dos pequenos compartimentos ou malhas da rede protoplasmica diminue ou augmenta, em harmonia com a quantidade de liquido que contêm; em summa, a *elasticidade* reside nas laminas que formam as paredes d'esses compartimentos. Aquella experiencia revela o que em muito menor gráu se passa a todos os instantes no seio do protoplasma; os compartimentos encerram quantidades de liquido variaveis com o poder de imbibição das substancias que produzem, e é por isso que entre as fórmas extremas dos compartimentos e as dos vacuolos se encontram outras intermediarias de transição. Ora as variações de volume dos compartimentos tendem sempre a desvanecer-se por meio das correntes osmoticas da cellula; se fossem taes que se tornassem sensiveis exteriormente, ver-se-hia então o protoplasma dilatar-se e contrahir-se em differentes sentidos, executando movimentos amiboides. Para que isto tenha logar é necessario que as condições do trabalho chimico do protoplasma não sejam identicas em toda a sua massa; por outras palavras, é necessario que os agentes externos actuem desegualmente sobre partes distinctas da materia proteica.

Os agentes exteriores exercem com effeito uma influencia poderosa sobre os movimentos. As correntes, os movimentos amiboides, os de natação, etc., não se produzem senão entre limites de temperatura determinados para cada especie; os myxomicetos, por exemplo, não se movem quando a intensidade do calor é um pouco consideravel.

Parece que a luz actua principalmente sobre as cellulas verdes. Em geral os movimentos do protoplasma incolor não se mostram dependentes dos raios luminosos; conhece-se todavia uma

excepção relativa ao *Aethalium:* se a plasmodia d'este myxomiceto é muito movel, diz Sachs, e ainda se acha affastado o momento em que dêve formar os sporos, caminha na obscuridade dos intersticios da casca do Carvalho, onde vive, para a sua superficie; mas, se então fôr exposta á luz directa, recolhe-se de novo nos intersticios, nos quaes é muito pequena a intensidade luminosa. Estes phenomenos desapparecem quando a plasmodia tem de produzir sporos e é formada já por massas espessas e resistentes.

A electricidade actua visivelmente sobre a circulação. A acção das correntes constantes é menos energica do que a das induzidas. As correntes fracas tornam em geral mais vagarosos os movimentos circulatorios; as correntes fortes fazem-nos cessar instantaneamente. Ignoramos a acção que a electricidade exerce sobre os movimentos amiboides, assim como, o que seria importantissimo, se o estado electrico da atmosphera os modifica.

Entre os agentes exteriores, é ao calor que os movimentos do protoplasma se mostram mais sensiveis. O calor influe directamente sobre a energia do trabalho chimico. Por conseguinte a necessidade que os organismos nus, assim como as Diatomaceas, têm de experimentar o contacto dos corpos solidos para effectuarem os movimentos amiboides, explica-se pelas deseguaes condições a que os seus pontos ficam sujeitos. Além das condições de calor, electricidade e luz, devem ser alteradas, nos pontos de contacto com o corpo solido, as correntes osmoticas entre o meio externo e o interno, e ainda por esta razão a proporção d'agua, que nesses pontos se accumula, relativamente ás outras partes do protoplasma.

Por seu lado, o protoplasma involvido na membrana cellular encontra no liquido dos vacuolos um meio que soffre constantes modificações, devidas aos productos que ahi lança a materia pro-

teica e ás substancias absorvidas no meio externo. O succo cellular não póde ter a mesma composição em todos os seus pontos; d'aqui resultam deseguaes condições physicas e chimicas, que devem alterar o equilibrio osmotico da materia proteica.

IV

Em alguns casos em que a cavidade cellular fórma um unico vacuolo de grandes dimensões (Sachs aponta as characeas e outras plantas aquaticas, assim como os pellos radicaes do *Hydrocaris*) o protoplasma experimenta um movimento de rotação commum a toda a massa; a corrente constitue um circuito fechado que, segundo Naegeli, segue a direcção que lhe permitte percorrer o mais longo caminho no interior da cellula. Todas as granulações são arrastadas na torrente.

A rotação do protoplasma constitue, pois, um caso particular das correntes ou dos movimentos amiboides. Poderia considerar-se movimento sob a fórma de corrente, attendendo ao movimento de translação das granulações; mas está com certeza relacionada com os movimentos amiboides, porque, quando a cellula ainda conserva alguns filamentos, estes contrahem-se, arrastam o nucleo, encostando-o ao plasma parietal, e acabam por desapparecer; demais, produzindo-se a rotação segundo o caminho mais longo, isto indica que o protoplasma fica sujeito, com relação ao succo cellular, á maxima diversidade de condições. Em qualquer das hypotheses a rotação é apenas um caso particular, caracterisado pela direcção e constancia do movimento, e não um modo distincto dos dois precedentes.

V

Os movimentos dos vacuolos contracteis apresentam um caracter que até aqui ainda não encontrámos, o da *periodicidade*. Os vacuolos contracteis têm sido observados exclusivamente nas cellulas moveis. A parede do vacuolo contrahe-se e dilata-se alternadamente, executando pulsações successivas em intervallos de tempo pouco variaveis.

Ehrenberg, Cohn e Claparéde observaram os vacuolos contracteis em algumas algas, principalmente nas Volvocineas; Bary estudou-os nos zoosporos e plasmodias dos myxomicetos e nos zoosporos de dois *Cystopus;* Fresenius, nos zoosporos d'uma Palmellacea; Strasburger e Dodel-Port, nos zoosporos da *Ulothrix zonata;* Cienkowski, nos zoosporos das *Chaetophora* e nos macrosporos do *Stygeoclonium stellare;* finalmente Maupas, nos macrosporos da *Microspora floccosa* e da *Ulothrix variabilis.*

Antes de lermos a noticia de Maupas sobre os vacuolos contracteis, da qual extrahimos as citações anteriores, apenas conheciamos os trabalhos de Bary e Strasburger. Este ultimo observou que o vacuolo contractil dos zoosporos da *Ulothrix* está situado na sua parte anterior, proximo ao ponto de inserção das celhas vibrateis, e occupa sómente o protoplasma incolor; o intervallo entre duas pulsações successivas oscilla entre doze e quinze segundos.

Nos casos observados por Maupas os vacuolos executam tres ou quatro pulsações por minuto; são pois um pouco mais lentas do que as anteriores. Na *Microspora* o vacuolo occupa a parte central incolor; na *Ulothrix variabilis* está situado na parte ante-

rior onde tambem não existe chlorophylla. A contracção, ou systole, e a dilatação, ou diastole, produzem-se lentamente; na *Microspora* a diastole é mais lenta do que a systole. Assim, quando se contrahe, o vacuolo diminue insensivelmente de diametro até tomar o seu menor volume; em seguida experimenta um crescimento gradual e readquire as dimensões primitivas.

Evidentemente, a cada phase do movimento de pulsação do vacuolo corresponde nas malhas protoplasmicas outra phase, já de dilatação, já de contracção. Por conseguinte, assim como o vacuolo executa movimentos periodicos, assim no protoplasma se devem dar accumulações e destruições periodicas de qualquer substancia osmotica, que façam variar a proporção da agua na materia proteica e na cavidade interior.

Esta consequencia a que levamos o principio da divisão do trabalho, e que poderá parecer destituida de fundamento, tem todavia a seu favor algumas considerações.

As pulsações dos vacuolos não se produzem rapidamente; são lentas, como dissemos. Esta é uma das condições necessarias, quer para a producção da substancia osmotica, quer para o seu emprego em novos compostos; não seria tão facil conceber as duas acções chimicas, se a systole ou a diastole fossem instantaneas.

Na nossa hypothese a materia viva deve ainda executar em periodos alternados dois trabalhos chimicos differentes, o que apparentemente contradiz o modo por que ella em geral se manifesta, desempenhando simultaneamente muitas funcções. Ora, os vacuolos contracteis só têm sido observados em vegetaes muito inferiores, onde um só individuo tem de executar todas as funcções que nas plantas superiores são confiadas a cellulas differentes; applicaremos pois a este caso o que J. Sachs diz relativa-

mente á divisão de muitas algas inferiores dos generos *Spirogyra, Vaucheria, Hydrodictyon, Ulothrix,* etc., e de alguns cogumelos. Sabe-se que é sobretudo de noite que as cellulas d'estas plantas se dividem; de dia a sua actividade concentra-se na fabricação de novos principios. «Assim, se nas grandes plantas, formadas de tecidos macissos, o trabalho da assimilação [1] e o de transformação da materia assimilada em cellulas novas se operam em partes differentes do vegetal, pelo contrario, nas pequenas plantas transparentes e desprovidas de involucros opacos os dois trabalhos effectuam-se na mesma parte, mas em epochas differentes. As primeiras realisam a divisão do trabalho physiologico no espaço, as segundas no tempo. O proprio facto da divisão do trabalho physiologico nos mostra que a mesma cellula não póde simultaneamente desempenhar o trabalho chimico da assimilação e o trabalho mechanico da divisão cellular.»

A divisão do trabalho chimico e mechanico, tão claramente traduzida naquelles factos, reduz-se em ultimo termo a uma perfeita divisão do trabalho chimico. A multiplicação naquellas plantas inferiores procede immediatamente do excesso de crescimento, e este da incorporação nos orgãos cellulares de nova substancia organica. D'aqui se deprehende que as plantas alludidas elaboram de dia os principios organicos que lhes são uteis, e que nellas se depositam como em verdadeiros reservatorios nutritivos, até que, durante a noite, fazem soffrer ás substancias fabricadas a transformação ultima que as torna assimilaveis. Consideradas assim, as duas phases, diurna e nocturna, correspondem da maneira a mais precisa aos dois generos de trabalhos realisados por

[1] Lembraremos que J. Sachs entende por *assimilação* a transformação que na materia verde experimentam os corpos inorganicos em substancias organicas.

cellulas differentes nas plantas superiores. Portanto as cellulas d'aquelles vegetaes inferiores executam differentes funcções chimicas em periodos distinctos, repetindo-as alternadamente com uma certa periodicidade. Estabelecida a periodicidade do seu trabalho chimico, não é difficil admittir que em algumas d'essas plantas, ou noutras de constituição analoga, e quasi sempre em casos particularissimos, nos seus zoosporos, se effectuem trabalhos chimicos differentes e alternados em periodos de alguns segundos. Para fixar idêas, tomemos de novo para typo das materias osmoticas a glucosa: na nossa hypothese esta substancia seria elaborada com grande actividade até attingir proporções consideraveis, e logo depois convertida em productos proteicos assimilados pelo protoplasma; a estas duas acções corresponderiam a systole e a diastole dos vacuolos contracteis.

Bem sabemos que uma tal hypothese carece de novos factos que a justifiquem. Offerece-nos comtudo a vantagem de referir a causas analogas todos os movimentos que temos estudado até aqui, razão esta que, reunida á falta d'outra explicação, nos levou a apresental-a.

VI

Tractamos neste paragrapho da natação das cellulas moveis e dos movimentos dos grãos chlorophyllinos. Nesta ultima classe incluimos casos distinctos que poderiam referir-se a dois typos, segundo o protoplasma é incolor ou córado pela chlorophylla.

Os zoosporos e os anthérozoides, bem como certas algas e cogumelos inferiores ciliados movem-se nos meios liquidos, agitando ao mesmo tempo com frequencia as celhas vibrateis; em

geral possuem reunidos dois movimentos, um de rotação em torno do eixo, e outro de translação. Emquanto se movem não experimentam nenhuma alteração de fórma; por isso os physiologistas attribuem os seus movimentos não só á agitação das celhas vibrateis, mas tambem ás correntes liquidas ou gazosas existentes entre o meio interior e o exterior.

O que distingue o movimento das cellulas incolores do das cellulas verdes é a acção em extremo importante que, na maioria dos casos, a luz exerce sobre estas ultimas. Effectivamente os movimentos das cellulas verdes obedecem d'um modo especial á influencia dos raios luminosos.

Estes factos, aproximados dos actos de movimento que os mesmos agentes determinam nos grãos chlorophyllinos, constituiram uma classe de phenomenos, que se suppoz revelarem no protoplasma vegetal uma propriedade superior a todas as que até aqui temos mencionado, a da *sensibilidade*. O protoplasma revelaria esta propriedade da maneira a mais rudimentar, respondendo por um acto determinado de movimento áquelle estimulo exterior.

Para nós a denominação de *sensibilidade* tem o defeito de tornar incomprehensivel o que é apenas ignorado—a natureza dos factos physicos e chimicos determinados pela luz. Tão sensivel é o protoplasma á acção da luz como á do calor, cuja intensidade variavel accelera, retarda ou destroe inteiramente na cellula a sua faculdade de locomoção. Mas o calor actua necessariamente em todas as funcções cellulares; pelo contrario, a esphera d'acção da luz é limitadissima, e por isso os phenomenos que d'esta dependem individualisam-se e distinguem-se de todos os outros. Se da luz depende a funcção chimica bem caracterisada da producção das substancias ternarias na chlorophylla, é possivel que dependa tambem, por processos relativamente simples, outra fun-

cção mechanica de movimento; e não seria para estranhar que essencialmente fosse identica a causa da deslocação dos grãos chlorophyllinos e da natação de qualquer cellula verde ou incolor.

Nos vegetaes incolores temos exemplos de natação nos zoosporos e anthérozoides das *Saprolegnias* e em grande numero de bacterias. Nestas ultimas os movimentos de translação apresentam, segundo Cohn, caracteres variadissimos; a bacteria avança umas vezes lentamente, outras bruscamente, em varias direcções, para recuar em seguida em sentido opposto; immobilisa-se durante certo tempo, passado o qual recomeça com toda a vivacidade os seus movimentos bruscos. Esta fórma irregular de locomoção complica-se com os movimentos de rotação, tão sensiveis em alguns d'estes organismos, que, na opinião de Cohn, podem comparar-se aos do parafuso quando se combinam com os de progressão.

Em quasi todas as bacterias se têm observado celhas vibrateis; é possivel que os aperfeiçoamentos dos methodos de observação permittam no futuro encontral-as em todos os organismos d'este grupo. E como, por outro lado, na opinião de observadores habeis, todas as bacterias possuem membranas cellulosicas, devemos, por analogia com o que se dá em algumas algas, admittir que as celhas passam da camada membranosa para o meio exterior através de orificios existentes na membrana cellular.

Ehrenberg attribuiu aos movimentos das celhas os de rotação e translação das bacterias; é assim que se têm explicado os dos zoosporos e anthérozoides. Mas a esta opinião oppõe Warming uma seria objecção: «encontram-se exemplares (de bacterias) que conservam o corpo immovel, ao passo que agitam a celha violen-

tamente, e outros, cujo corpo se move emquanto que as celhas persistem inertes.» É pois evidente que uma causa independente dos apendices vibrateis faz mover as bacterias. Cohn attribue os seus movimentos exclusivamente ás acções nutritivas e respiratorias; comprehende-se, por exemplo, que a cellula se mova se expellir com energia substancias gazosas. Quando tractarmos dos movimentos das cellulas verdes teremos occasião de referir de novo esta opinião e de citar uma experiencia com que o mencionado auctor illucida a explicação que propõe.

Não nos decidimos abertamente por qualquer das hypotheses indicadas, porque não temos dados sufficientes para isso. Se uma cellula livre se move sem que a sua fórma se altere e sem que se agitem as celhas vibrateis, a intervenção das acções physicas da osmose e da diffusão é uma hypothese plausivel, que deve necessariamente attender-se e discutir-se. A isto accresce que as bacterias (unicos organismos incolores, onde, á excepção dos zoosporos e anthérozoides das Saprolegnias, se têm observado os movimentos de natação) possuem uma actividade extraordinaria como fermentos, e por isso devem originar correntes osmoticas muito energicas. O que se torna obscuro são as funcções das celhas vibrateis. É arriscado negar-lhes totalmente a propriedade de moverem a cellula. Mas, ainda que não indaguemos as suas funcções, resta precisar a causa dos seus movimentos; a este respeito não conhecemos a opinião de nenhum physiologista; achamos, porém, que, á semelhança do que acontece nos movimentos brownianos, é na acção dos agentes physicos, o calor e a electricidade sobretudo, que reside a causa da sua agitação.

Tanto as cryptogamicas como as phanerogamicas apresentam

exemplos de movimentos dos grãos chlorophyllinos; quanto aos movimentos das cellulas verdes, encontramol-os em algumas algas monocellulares, bem como em todos os zoosporos e anthérozoides.

Os movimentos dos granulos verdes foram principalmente estudados por Famintzin, Sachs, Borodin e Frank. Borodin resume os resultados das suas investigações: «1.° Nas partes verdes de diversas phanerogamicas os grãos de chlorophylla mudam de posição, sob a acção da luz. 2.° A intensidade da luz exerce uma grande influencia sobre a distribuição da chlorophylla. 3.° Á luz diffusa do dia os grãos de chlorophylla cobrem as paredes parallelas á superficie do orgão; á luz directa do sol dirigem-se rapidamente para as paredes lateraes. 4.° As cryptogamicas estudadas sob este ponto de vista comportam-se como as phanerogamicas. 5.° Após uma curta exposição ao sol, os grãos de chlorophylla distribuem-se uniformemente sobre as paredes lateraes; depois d'uma acção mais demorada da luz solar directa (tres quartos d'hora) formam grupos isolados sobre as paredes lateraes. (Infelizmente não pude estudar as cryptogamicas sob este ponto de vista.) 6.° A influencia da luz do sol limita-se á parte directamente exposta; no entanto a luz penetra nas camadas profundas da folha, mas não em direcções lateraes. Duas cellulas contiguas da mesma camada podem offerecer disposições dos grãos de chlorophylla inteiramente differentes. 7.° A palidez das partes verdes das plantas expostas á luz solar directa, assim como a apparição das imagens de sombra de Sachs [1] resultam d'esta mudança de posição dos grãos de chlorophylla. 8.° Na

[1] As *imagens de sombra* foram obtidas por Sachs, collocando laminas de chumbo sobre uma folha exposta á luz solar directa. Tirando as laminas depois de decorrerem dez ou trinta minutos, reconhece-se que o espaço por ellas occupado tem uma côr verde mais carregada do que o resto da super-

obscuridade os grãos de chlorophylla de algumas phanerogamicas (*Lemna, Stellaria*) dirigem-se da mesma maneira para as paredes lateraes. Assim, a ausencia de luz produz essencialmente a mesma disposição dos grãos de chlorophylla que a luz solar directa; sómente a acção d'esta ultima é mais viva e intensa. 9.º Todas as mudanças de posição dos grãos de chlorophylla são produzidas sómente pelos raios mais refrangentes da luz solar.»

Os factos resumidos na penultima d'estas conclusões não podem facilmente interpretar-se. Borodin affirma que na obscuridade, bem como á luz directa do sol, os grãos chlorophyllinos effectuam os mesmos movimentos e affectam identicas disposições na cellula. Não é possivel interpretar esta particularidade, nem o será emquanto novas observações não permittirem formular clara e precisamente a theoria d'estes movimentos.

Diz Borodin que a luz solar directa obriga os granulos chlorophyllinos a distribuirem-se sobre as paredes lateraes, e que a luz diffusa os faz caminhar para a superficie do orgão. Estes resultados não têm, em virtude das observações de Frank o gráu de generalidade que lhes attribuiu o seu auctor. Frank, estabelece como regra geral que os grãos de chlorophylla se dirigem sempre para as partes mais illuminadas da cellula. Assim acontece nas folhas e no prothallio de muitas cryptogamicas, tanto nas cellulas superficiaes, como nas interiores; os grãos das cellulas superficiaes accumulam-se sobre as faces externas, os das cellulas interiores sobre as partes das paredes que não estão em contacto com as cellulas visinhas. Esta disposição tem logar sempre que

ficie da folha. Isto procede, como o verificou Borodin, de que no espaço coberto pelas laminas os grãos de chlorophylla estão dispostos sobre as paredes horizontaes, emquanto que nas partes palidas se distribuem sobre as paredes lateraes.

a planta vive em condições normaes; mas se as condições forem anormaes, os grãos tendem a accumular-se principalmente sobre as partes das paredes em contacto com as cellulas visinhas. Dá-se este ultimo caso nos fragmentos de tecidos cortados, nas plantas sujeitas a baixas temperaturas, nas que respiram com difficuldade ou soffrem uma diminuição de turgescencia, nas cellulas que se acham em edades avançadas, ou, finalmente, depois da planta ter permanecido durante muito tempo na obscuridade. Portanto, na opinião de Frank, a disposição dos granulos á luz solar directa é diversa da que affectam na obscuridade. Segundo o mesmo auctor, as observações de Borodin explicam-se, admittindo que os pontos mais illuminados da cellula nem sempre são os mais directamente expostos á luz; é possivel que em certas phanerogamicas sejam as faces lateraes das cellulas as que recebam a luz mais intensa. Este modo de ver é todavia puramente hypothetico.

As observações de Borodin concordam com os resultados a que chegaram Famintzin e Sachs, e foram além d'isso confirmadas por outros observadores. Limitando-nos por conseguinte á maneira por que os factos se manifestam, concluiremos que nas condições normaes a direcção em que se movem os grãos de chlorophylla sob a influencia dos raios luminosos varía com a natureza da planta e a intensidade da luz. Em certas cryptogamicas dirigem-se constantemente para as faces livres da cellula; em outras cryptogamicas e nas phanerogamicas buscam as paredes lateraes quando a luz solar é directa, e as paredes livres quando é diffusa, procurando os raios de media intensidade.

Encontraremos nos movimentos de natação das cellulas verdes factos correspondentes aos anteriores.

Não está ainda determinada a refrangibilidade dos raios lu-

minosos que produzem os movimentos dos grãos chlorophyllinos. Borodin, Sachs e outros dizem que são os raios mais refrangentes os que assim actuam; Frânk affirma que os movimentos se effectuam da mesma maneira com todas as cores do espectro. Analogamente vimos que, se grande numero de physiologistas affirma que são os raios de refrangibilidade media os que determinam a producção das substancias ternarias na chlorophylla, outros attribuem a mesma acção aos raios de alta refrangibilidade; e por isso não é possivel, como pretendem alguns auctores, caracterisar os movimentos do protoplasma verde e a funcção chlorophyllina por dois grupos de raios luminosos de refrangibilidade differente.

As deslocações dos grãos de chlorophylla são em geral consiradas como independentes d'esta substancia; o pigmento verde é simplesmente transportado pelo protoplasma que o involve, e de facto sempre que os grãos de chlorophylla se deslocam, move-se conjunctamente o protoplasma incolor. Parece pois que a acção da luz recahe directamente sobre a materia viva. Comtudo a chlorophylla deve necessariamente influir na producção dos movimentos; é o que se deprehende das seguintes palavras de Sachs: «visto que as emigrações dos grãos de chlorophylla são provocadas pelos deslocamentos do protoplasma incolor onde estão encerrados, era de prever que o protoplasma das cellulas desprovidas de grãos de chlorophylla, o dos pellos, por exemplo, sentisse da mesma maneira a influencia da intensidade luminosa e da refrangibilidade dos raios. Todavia as investigações de Borscow e Luerssen, que poderiam invocar-se, em parte pelo menos, em apoio d'uma tal influencia, não foram confirmadas pelas observações de Reinke.»

Se a chlorophylla é necessaria para que o movimento tenha logar, não se comprehende que ella actue senão pelas suas pro-

priedades chimicas; pelo menos não manifesta propriedades que lhe permittam actuar mechanicamente sobre o protoplasma. É possivel que os movimentos dos grãos chlorophyllinos dependam de correntes osmoticas originadas pela formação e diffusão dos corpos ternarios. Não se oppõe a esta hypothese a refrangibilidade dos raios que determinam o movimento, nem a direcção que este segue sob a influencia da luz directa ou diffusa, circumstancias variaveis em plantas differentes, como a actividade cellular. Finalmente um facto observado por Frank comprova o que dizemos. Frank notou que os movimentos dos grãos de chlorophylla coincidem com a formação de correntes de direcção determinada no protoplasma.

Entre as cellulas verdes, dotadas de movimentos de natação, os zoosporos e os anthérozoides são formados por protoplasma nu; certas algas monocellulares (Volvocineas e Oscillarias) são involvidas por uma membrana cellular, através da qual passam as celhas vibrateis. Este facto, que já era conhecido relativamente ás Volvocineas, foi confirmado para as Oscillarias por Siebold e Engelmann. Nestas ultimas não só se observam filamentos com fórma de celhas, mas em algumas especies uma excrescencia protoplasmica disposta em espiral em torno da cellula. Fica assim demonstrado que nenhum organismo unicellular movel é coberto por uma membrana cellulosica contínua.

Naegeli e Lortet verificaram a influencia da luz sobre os movimentos das cellulas reproductoras; mostraram que os movimentos se effectuam na direcção da luz, e que tanto os zoosporos como os anthérozoides se encaminham para os pontos mais illuminados dos meios onde vivem. A cellula volta para a luz a sua

extremidade hyalina ciliada, e em sentido contrario a parte córada pela chlorophylla.

Famintzin estudou sob o mesmo ponto de vista algumas algas inferiores. As *Chlamydonas*, as *Euglena* e a *Oscillatoria insignis* movem-se na direcção da luz, fugindo da luz directa, e encaminhando-se para a luz diffusa. Correspondem pois aos grãos de chlorophylla observados por Borodin.

A natureza dos movimentos das algas varía com as especies e o seu periodo de desinvolvimento. Cienkowski notou que o *Volvox globator* sómente se dirige para a luz quando tem de fixar-se para passar ao estado immovel. Cohn observou um facto diverso no *Protococcus pluvialis*, que se dirige para a luz durante o periodo vegetativo, vivendo então á superficie da agua, e foge da luz, caminhando para os pontos mais profundos, quando tem de se reproduzir. Estes factos attestam, semelhantemente ao que acontece nas deslocações dos grãos de chlorophylla, que a direcção dos movimentos depende não só da luz, mas d'outra causa interior.

E. Stahl e Strasburger estudaram ultimamente a acção da luz sobre os movimentos dos zoosporos. O primeiro d'estes auctores chegou ás seguintes conclusões:

Quando o zoosporo obedece á acção d'aquelle agente, o seu movimento está sujeito a variações periodicas; o pequeno organismo ora se aproxima, ora se affasta do foco luminoso. Estes dois movimentos não são egualmente pronunciados; é mais rapido o de aproximação quando a intensidade da luz é pequena, e viceversa mais rapido o de affastamento, quando a luz é muito intensa. A extremidade hyalina do zoosporo volta-se para deante em qualquer dos casos. Se o foco luminoso mudar de logar, o movimento varía immediatamente de direcção. A successão periodica dos dois movimentos altera-se se o zoosporo permanecer na obscu-

ridade, ou fôr sujeito a uma luz intensa durante certo tempo. Emfim, se a acção da luz fôr bruscamente supprimida, o movimento muda de direcção ou cessa inteiramente.

Entre estes resultados torna-se muito notavel o facto, que antes de Stahl parece ter sido desconhecido, de qualquer luz, fraca ou forte, determinar no movimento do zoosporo variações alternadas de sentido. É impossivel deixar de admittir que em cada um dos casos se produzem no interior da cellula acções differentes; a divisão do trabalho chimico apparece portanto aqui tão evidente como já a encontramos nas algas inferiores.

Strasburger reconheceu que só a região do espectro comprehendida entre o azul e o violeta actua sobre os zoosporos; os raios amarellos e os que lhes ficam proximos limitam-se a determinar em certos zoosporos movimentos vibratorios particulares. Algumas das suas conclusões não concordam com os resultados a que chegára Stahl. Affirma, por exemplo, que, apezar de se conservarem os zoosporos durante um tempo mais ou menos longo na obscuridade, as suas relações com a luz não se alteram; quando a intensidade da luz soffre alterações bruscas, muitas vezes acontece conservar o zoosporo ainda por algum tempo o movimento que anteriormente tinha. Vê-se bem por esta resumida citação quão affastados estamos ainda do conhecimento preciso de todas as circumstancias que concorrem para a geração d'estes movimentos.

Strasburger confirma a influencia da luz na direcção do movimento; segundo este auctor, a rapidez do movimento não parece depender da intensidade da luz, mas, quanto á sua direcção, póde affirmar-se que é tanto mais aproximada da linha recta, quanto mais intensos são os raios luminosos. Na obscuridade os zoosporos continuam a mover-se irregularmente em muitas direcções.

Com relação á rapidez do movimento, notaremos que nas experiencias de Stahl o movimento de aproximação é mais rapido ou mais vagaroso do que o de affastamento, segundo a luz é pouco ou muito intensa. D'esta differença de velocidades é que resulta achar-se o zoosporo, no fim de certo tempo, ora mais proximo, ora mais affastado do foco luminoso. Em ambos os casos podem ser eguaes os caminhos percorridos; portanto, se se attender sómente á distancia a que no fim da experiencia o zoosporo se encontra do seu ponto de partida, o resultado obtido por Strasburger é verdadeiro; mas se se attender ás differentes velocidades dos dois movimentos componentes de sentidos contrarios, conclue-se que na realidade ellas dependem da intensidade da luz.

Cohn explica os movimentos dos zoosporos pela emissão do oxygeno posto em liberdade durante a decomposição do anhydrido carbonico. Para demonstrar a possibilidade do movimento nestas condições o mesmo auctor faz a seguinte experiencia: toma pequenos fragmentos calcareos cobertos por um verniz resinoso numa das extremidades, e mergulha-os em acido chlorhydrico diluido; o carbonato calcico da outra extremidade é atacado pelo acido chlorhydrico, o anhydrido carbonico desinvolve-se e obriga a mover-se em sentido opposto o zoosporo artificial, fazendo-o executar conjunctamente um movimento de rotação.

Cohn fundamenta a sua hypothese em alguns argumentos. O oxygeno é exhalado pela parte verde do zoosporo, a qual durante o movimento constitue a sua região posterior; são os raios chimicos, e sobretudo os azues os que imprimem o movimento ao pequeno organismo (esta consideração nem justifica nem prejudica a hypothese); o zoosporo caminha sempre na linha recta marcada pela direcção dos raios luminosos; ao passo que na obscuridade a rotação se produz indifferentemente da esquerda

para a direita, ou vice-versa, á luz solar produz-se em direcções determinadas (a rotação das *Euglena* faz-se no sentido diurno da Terra). Exceptuando este ultimo facto, de cuja generalidade não encontramos provas nos outros observadores, os demais resumem as consequencias mais importantes a que todos têm sido levados no estudo d'estes movimentos.

Áquellas considerações junctamos nós o notavel resultado das experiencias de Stahl: a producção, pela influencia da luz, de dois movimentos periodicos de sentido contrario. Não discutimos se deve admittir-se a explicação pelo desinvolvimento do oxygeno, tal qual a apresenta Cohn, ou por qualquer corrente osmotica. A existencia de correntes osmoticas entre o meio interior e o exterior, sufficientemente energicas para determinarem o movimento, não é difficil de conceber; essa parece ser a causa dos movimentos das bacterias. Os movimentos dos grãos chlorophyllinos, que, em relação á influencia da luz, têm tantos pontos de contacto com os das cellulas verdes, são acompanhados de correntes no interior do protoplasma. Por outro lado, demonstrado que os movimentos dos zoosporos estão sujeitos á divisão do trabalho chimico, como necessariamente se deduz das experiencias de Stahl, estabelecem-se laços mais estreitos de união entre todos os movimentos proprios da materia viva.

Ao estudo da morphologia e da physiologia da cellula vegetal seguia-se naturalmente, segundo o plano que haviamos traçado, o estudo da sua evolução desde as fórmas rudimentares dos organismos inferiores até ás fórmas variadissimas que entram na composição dos vegetaes pluricellulares. A extensão que tomou o nosso trabalho impede-nos de escrever esta ultima parte, por quanto dar-lhe um logar secundario seria desconhecer a importancia das questões que lhe dizem respeito. Reservamos o seu estudo para um trabalho posterior.

OBRAS CONSULTADAS

1845 — Hugo Mohl — *Observations sur la structure de la cellule végétale.* Ann. Sc. nat. Paris.

» — Hugo Mohl — *Sur la pénétration de la cuticule dans les stomates.* Ann. Sc. nat.

1846 — P. Harting — *Recherches microchimiques sur la nature et le développement de la paroi des cellules végétales.* Ann. Sc. nat.

» — Hugo Mohl — *Sur le mouvement du suc dans l'intérieur des cellules.* Ann. Sc. nat.

1847 — Hugo Mohl — *La cellulose forme-t-elle la base de toutes les membranes végétales?* Ann. Sc. nat.

1856 — W. Gregory — *A handbook of organic chemistry.* London.

» — Hugo Mohl — *Sur la structure de la chlorophylle.* Ann. Sc. nat.

1857 — Arthur Gris — *Recherches microscopiques sur la chlorophylle.* Ann. Sc. nat.

» — Hugo Mohl — *De l'utricule primordiale.* Ann. Sc. nat. Paris.

1858 — S. Ratchinsky — *Notice sur quelques mouvements opérés par les plantes sous l'influence de la lumière.* Ann. Sc. nat.

» — A. Trécul — *Des formations vésiculaires dans les cellules végétales.* Ann. Sc. nat.

1859 — De Bary et Hoffmann — *Les myxomicètes.* Ann. Sc. nat.

» — E. Frémy — *Recherches chimiques sur la composition des cellules végétales.* Ann. Sc. nat.

1860 — E. Frémy — *Recherches sur la matière colorante verte des feuilles.* Ann. Sc. nat.

» — L. Garreau — *Recherches sur la distribuition des matières minérales fixes dans les divers organes des plantes.* Ann. Sc. nat.

1866 — A. Millardet — *Notice pour servir à l'histoire du développement en épaisseur des parois cellulaires.* Ann. Sc. nat.

1867 — P. P. Dehérain — *Recherches sur l'assimilation des substances minérales par les plantes.* Ann. Sc. nat.

» — Ph. van Tieghem — *Recherches pour servir à l'histoire physiologique des Mucédinées. Fermentation gallique.* Ann. Sc. nat.

1868 — Moigno — *Physique moléculaire.* Paris.

1868-1880 — Ad. Wurtz — *Dictionnaire de chimie pure et appliquée.* Paris.

1869 — P. P. Dehérain — *Sur l'évaporation de l'eau et la décomposition de l'acide carbonique par les feuilles des végétaux.* Ann. Sc. nat.

» — J. Borodin — *De l'action de la lumière sur la répartition des grains de chlorophylle dans les parties vertes des phanérogames.* Ann. Sc. nat.

1872 — Henry Byasson — *Des matières amylacées et sucrées. Leur rôle dans l'économie.* Paris.

» — A. Bouchardat — *Histoire générale des matières albuminoïdes.* Paris.

» — Raulin — *Études chimiques sur la végétation.* Rev. sc. Paris.

» — Ad. Wurtz — *Elaboration des matières organiques par le règne végétal.* Rev. Sc. Paris.

1873 — Tyndall, Morren, Lallemand, Soret — *Optique moléculaire.* Paris.

1873—1876 — *Revue scientifique.* Paris.

1874 — J. Sachs — *Traité de botanique.* Paris.

» — E. Haeckel — *Histoire de la création des êtres organisés d'après les lois naturelles.* Paris.

» — Ed. Prillieux — *Sur la coloration et le verdissement du Neottia — Nidus-avis.* Ann. Sc. nat.

» — Boehm — *De la respiration des plantes terrestres.* Ann. Sc. nat.

» — Tchistiakoff — *Matériaux pour servir à l'histoire de la cellule végétale; recherches anatomiques et physiologiques.* Ann. Sc. nat.

» — Dehérain et Landrin — *Recherches sur la germination.* Ann. Sc. nat.

» — Pfeffer — *De l'influence de la lumière sur la régénération des matières albuminoïdes aux dépens de l'asparagine formée pendant la germination.* Ann. Sc. nat.

1875 — P. Schutzenberger — *Les fermentations.* Paris.

» — Kosmann — *Étude sur les ferments contenus dans les plantes.* Compt rend. Ac. sc. Paris.

1876 — Edouard Strasburger — *Sur la formation et la division des cellules.* Iena.

» — Edouard Morren — *La digestion végétale.* Bruxelles.

» — A. Guillaud — *Les ferments figurés.* Paris.

1876 — J. L. de Lanessan — *Du protoplasma végétal.* Paris.
» — Corenwinder — *Recherches chimiques sur la végétation. Fonctions des feuilles. Origine du carbone.* Compt. rend.
» — E. Maupas — *Les vacuoles contractiles dans le règne végétal.* Compt. rend.
» — M. Berthelot — *Sur l'absorption de l'azote libre par les principes immédiats des végétaux, sous l'influence de l'éléctricité atmosphérique.* Compt. rend.
» — M. Berthelot — *La synthèse chimique.* Paris.
1877 — Herbert Spencer — *Principes de biologie.* Paris.
» — V. Jodin — *Recherches sur la glucogenèse végétale.* Compt. rend.
» — Frémy — *Recherches chimiques sur la matière verte des feuilles.* Compt. rend.
» — J. Wiesner — *Recherches sur l'influence de la lumière et de la chaleur rayonnante sur la transpiration des plantes.* Ann. Sc. nat.
» — Ph. van Tieghem — *Sur la digestion de l'albumen.* Ann. Sc. nat.
» — Durin — *Sur la transformation du sucre cristallisable en produits cellulosiques, et sur le rôle probable du sucre dans la végétation.* An. Sc. nat.
» — P. P. Dehérain — *Recherches sur la respiration des racines.* Ann. Sc. nat.
» — Deworsak — *Recherches chimico-physiologiques sur la nutrition des plantes.* Ann. Sc. nat.
» — A. Gautier — *La chimie des plantes.* Rev. Sc.
1878 — Claude Bernard — *Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux.* Paris.
» — Ant. Magnin — *Les bactéries.* Paris.
» — Augustin Charpentier — *L'osmose.* Paris.
» — M. G. Bleicher — *Les fécules.* Paris.
» — Ch. Martins — *Les plantes carnivores.* Rev. Sc.
» — A. Muntz — *Recherches sur la fermentation alcoolique intracellulaire des végétaux.* Compt. rend.
» — Gayon — *Sur l'inversion et sur la fermentation alcoolique du sucre de canne par les moississures.* Compt. rend.
» — Musculus et Gruber — *Sur l'amidon.* Compt. rend.
» — Gunning — *Sur l'anaérobiose des micro-organismes.* Compt. rend.
» — L. Grandeau — *De l'influence de l'eléctricité atmosphérique sur la nutrition des plantes.* Compt. rend.

1878 — CORENWINDER et CONDAMINE — *De l'influence des feuilles sur la production du sucre dans les Beterraves.* Compt. rend.

» — MAX CORNU — *Importance de la paroi des cellules végétales dans les phénomènes de nutrition.* Compt. rend.

» — P. BERT — *Sur la cause intime des mouvements périodiques des fleurs et des feuilles, et de l'héliotropisme.* Compt. rend.

» — L. GRANDEAU — *Influence de l'éléctricité atmosphérique sur la floraison et la fructification des végétaux.* Compt. rend.

1879 — MARC MICHELI — *Revue des principales publications de physiologie végétale en 1878.* Archives des Sc. phys. et nat. de Genève.

» — *Revue Bibliographique* (Janvier-Juin 1879). Bulletin de la société botanique de France.

» — PH. VAN TIEGHEM — *Sur la fermentation de la cellulose.* Compt. rend.

» — M. TREUB — *Sur la pluralité des noyaux dans certaines cellules végétales.* Compt. rend.

» — J. L. DE LANESSAN — *Manuel d'histoire naturelle médicale.* Paris.

INDICE

PARTE I

PARTE II

CAPITULO III

ERRATAS

Pag.	*Linh.*	*Erros*	*Emendas*
7	20	$C^n H^2 + {}^1 O^2$	$C^n H^{2n+1} O^2$
13	9	albumina	alumina
63	25	egual	proximamente egual

JOSÉ DIOGO ARROYO — ESTUDOS SOBRE A CELLULA VEGETAL — 1880