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