

*Map.*

# ESTUDOS

SOBRE A

# CELLULA VEGETAL

POR

**José Diogo Arroyo**

LICENCIADO EM PHILOSOPHIA  
E SOCIO EFFECTIVO DO INSTITUTO DE COIMBRA



COIMBRA

IMPRESA DA UNIVERSIDADE

1880

IC  
18  
1  
7  
23

VII-A

---

b-2

IC  
18  
1  
7  
23

UNIVERSIDADE DE COIMBRA  
Biblioteca Geral



1301072627

A' Sociedad de

"Estudios Médicos,"

*[Handwritten flourish]*

**ESTUDOS**

*[Handwritten flourish]*

SOBRE A

**CELLULA VEGETAL**

623629472

ESTUDOS

DE LA LINGÜÍSTICA Y LA LINGÜÍSTICA

IC  
18  
1  
7  
23

# ESTUDOS

SOBRE A

# CELLULA VEGETAL

POR

*R. n.º 6394*

José Diogo Arroyo

LICENCIADO EM PHILOSOPHIA  
E SOCIO EFFECTIVO DO INSTITUTO DE COIMBRA



*1091-A*



COIMBRA

IMPRESA DA UNIVERSIDADE

1880

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

CLAUS, *Traité de Zoologie.*

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

AUG. COMTE, *Philosophie positive.*



A

MEU PAE

MILL PAPER

**DISSERTAÇÃO INAUGURAL**

PARA O

ACTO DE CONCLUSÕES MAGNAS

NA

**FACULDADE DE PHILOSOPHIA**

DA

UNIVERSIDADE DE COIMBRA

BIBLIOTHECA UNIVERSITARIA

DE LA UNIVERSIDAD DE COLOMBIA

FACULTAD DE PHILOSOFIA

UNIVERSIDAD DE COLOMBIA

# PARTE I

## MORPHOLOGIA DA CELLULA

---

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

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

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

É o factor principal de todas as funcções cellulares.

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

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

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

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

## MORPHOLOGIA DA CELLULA

A cellula vegetal apresenta-se geralmente constituída por uma membrana exterior que envolve uma substancia turgida e densa, o protoplasma, na qual se acham contidas todas as outras formas cellulares, o nucleo, a chlorophylla, e amido, etc.

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

O protoplasma é a substancia viva da cellula; é elle que a constitui, que desempenha o seu trabalho clinico, que lhe dá o movimento, que a reproduz.

É o factor principal de todas as funções cellulares. As outras formas, que mencionamos, ou são protoplasmicas, e por isso as suas propriedades derivam immediatamente das d' aquella substancia, ou têm uma diversa constituição e acham-se

## CAPITULO I

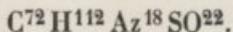
**Sumario:** I Natureza chimica do protoplasma. É uma substancia proteica. Sua constituição molecular. — II Estructura physica do protoplasma. Suas relações com os corpos colloides. *Theoria plastidular*. Factos que a justificam. — III Granulações: são o primeiro indício apparente da actividade do protoplasma.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

### I

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

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

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



Como se vê, corresponde a uma molecula extremamente complicada.

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

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

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

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

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

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

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

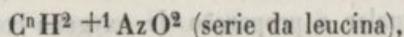
Mas do pouco que dissemos podemos tirar já uma conclusão valiosa. É a possibilidade que os corpos albuminoides têm de se metamorphosearem de um modo insensivel, obedecendo á menor excitação externa e podendo talvez experimentar uma verdadeira evolução na sua constituição molecular. Isto é confirmado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

A theoria sobre a constituição d'estes compostos deve tender

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

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

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



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

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

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

Actualmente Schützenberger, empregando o hydrato de bario,

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

Os resultados a que chegou foram os seguintes:

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

$C^n H^{2n+1} Az O^2$  (serie da leucina),  $C^n H^{2n-1} Az O^4$  (serie aspartica)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## II

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

A molécula protoplasmica, se não possui a fórma cristoallina, deve pelo menos tender a affectal-a; nem d'outro modo se comprehende a formação do cristoalloide. E sendo assim, deve actuar

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## III

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

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

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

Por isto se vê como variam os caracteres das granulações.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Evidentemente a condição physica da intussuscepção reside não só na semilluidez do protoplasma, como na propriedade, common a todos os corpos organizados, de terem as suas moleculas envolvidas em esferas aquosas.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## CAPITULO II

**Sumario:** I Camada membranosa. — II Nucleo. — III Membrana cellular.

### I

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

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

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

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

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

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

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

A composição chimica da camada membranosa não é bem conhecida.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## II

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

soffre deslocações constantes, seguindo o movimento do protoplasma.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### III

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Para não repetirmos aqui todos os argumentos, que mostram

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

torna ao mesmo tempo gelatinosa, augmentando consideravelmente de volume.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## CAPITULO III

**Summario:** I Fermentos soluveis. — II Chlorophylla.

### I

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

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

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

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

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

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

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

Podemos pois dizer que estas substancias são verdadeiros reagentes chimicos.

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

## II

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

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

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

Affectam os corpos chlorophyllinos em geral a fórma granular,

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

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

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

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

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



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

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

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

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

Verdeil admittia que a chlorophylla contém uma grande quan-

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

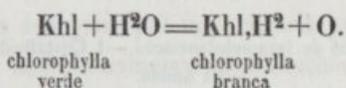
Se com effeito existisse uma relação d'esta ordem, era natural ir buscar á modificação chimica, experimentada por cada uma das componentes da materia verde, a explicação da sua propriedade de reduzir o anhydrido carbonico.

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

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

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

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



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

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

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

## CAPITULO IV

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

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

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

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

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

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

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

## I

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

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

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

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

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

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

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

lina, isto é, para manifestar uma determinada polaridade. A formação do cristoalloide dependeria portanto da desagregação da plastidula nas suas moléculas elementares, acompanhada de uma deshidratação, em virtude do que ellas affectariam uma disposição regular e geometrica.

## II

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### III

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

---

The first thing I noticed when I stepped out  
 into the bright sunlight was a sense of relief.  
 The air was fresh and clean, a stark contrast  
 to the stuffy atmosphere of the office. I  
 took a deep breath and felt a surge of  
 energy. The world outside was so much  
 more vibrant and alive than the one  
 I had been trapped in. I had finally  
 found a way to escape, and it felt  
 like a weight had been lifted off my  
 shoulders. I was free, and I was  
 going to make the most of it.

I had been thinking about this for a long  
 time, and now it was finally happening.  
 The freedom was exhilarating, but I also  
 felt a little bit of uncertainty. What  
 would I do now? I had never really  
 thought about my future outside of  
 my current situation. I had always  
 been content with my life, but now  
 I was faced with a choice. I could  
 go back to the office, or I could  
 explore other options. I had to  
 think carefully about what I wanted  
 for myself. I had a long way to go,

## PARTE II

### PHYSIOLOGIA DA CELLULA

---

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

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

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

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

## PARTE II

### PHYSIOLOGIA DA CELULA

Estudamos toda a actividade da célula no protoplasma, suas substancias independentes para a manifestação dos fenómenos, a sua conjuncta se chama vida: — fenómenos químicos — dentro a constituição do organismo, a caracteristica do protoplasma pela constante interacção interna do protoplasma: — fenómenos de vida celular — que devem considerar-se uma consequencia da physica e que comprehendem todos os actos de produção, também a perpetuar independentemente a existencia da vida na sua desorganisação: — fenómenos de movimento — consideramos o trabalho químico da célula, comprehendendo em alguns casos com a vida do corpo inteiro, e que por tal razão não se consideram para a caracterisação da matéria, no inte-

## CAPITULO I

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

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

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

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

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

De todos estes só incidentemente nos occuparemos.

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

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

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

## I

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Nenhuma das duas coisas acontece.

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

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

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

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

Torna-se bem evidente a influencia directa do oxygeno.

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

É de grande importancia esta opinião.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## II

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

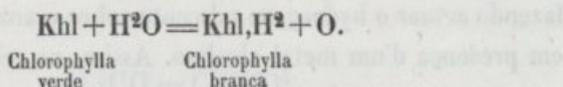
Nos vegetaes, já por mais d'umá vez o temos dito, o anhydrido carbonico não é decomposto em carbono e oxygeno; ainda assim o facto exposto por Schützenberger tem grande importancia para o estudo da funcção chlorophyllina, porque nada nos impede de attribuir ao oxydo de carbono a propriedade verificada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

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

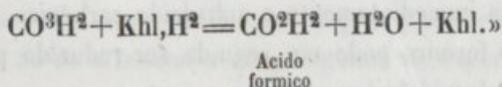
seu apparecimento<sup>1</sup>. A influencia das bases, hypothese aliás muito justificada se se attender sómente á sua energia chimica, não satisfaz o espirito, porque nem liga as transformações que deve explicar á evolução dos agentes que as produzem, nem mesmo as relaciona entre si.

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

A chlorophylla verde decompõe a agua, hydrogenando-se:



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



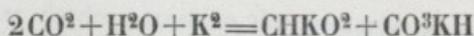
Como se vê, Gautier admite a existencia do hydrato  $\text{CO}^3\text{H}^2$ . Este corpo, se é que existe, deve ter grande instabilidade, porque um pequeno augmento de calor ou decrescimento de pressão o decompõem facilmente em anhydrido carbonico e agua.

<sup>1</sup> Gautier não se refere ao acido oxalico, que no estado livre é prejudicial á vida da cellula.

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

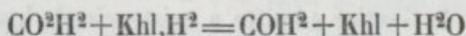


A formação do acido formico é facil de admittir, não só porque existe em muitas plantas, mas porque é possivel produzi-lo fazendo actuar o hydrogeno nascente sobre o anhydrido carbonico em presença d'um metal alcalino. Assim, na reacção



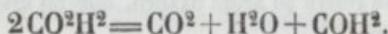
formam-se o bicarbonato e o formiato de potassio, porque o hydrogeno posto em liberdade, quando o potassio decompõe a agua, ataca immediatamente o anhydrido carbonico.

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



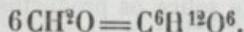
Aldehydo  
methylico

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



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

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

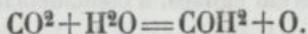


Gautier entende tambem que a molecula glucosica procede d'uma condensação d'esta natureza. Mas, achando-se neste ponto, faz uma segunda hypothese, tendente a explicar a formação de grande numero de compostos ternarios que apparecem nas células. Eil-a: Se se attender a que, segundo as experiencias de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

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

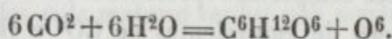
D'um modo geral, a materia verde actua sobre a mistura  $n\text{CO}^2 + m\text{H}^2\text{O}$ . Dando a  $n$  e a  $m$  valores determinados, pôde explicar-se a formação directa de muitos corpos ternarios por um processo geral de desoxydação. Não nos importamos dos corpos intermediarios que durante a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

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



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

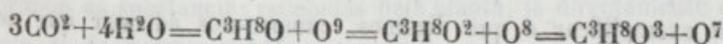
rivada da precedente, pela multiplicação de todos os termos por 6:



Expressa d'esta maneira, vê-se que é um phenomeno de desoxydção. O mesmo acontece noutros casos formulados por Gau-

tier. Tomemos  $\frac{n}{m} = \frac{3}{4}$ , ou  $n\text{CO}^2 + m\text{H}^2\text{O} = 3\text{CO}^2 + 4\text{H}^2\text{O}$ ;

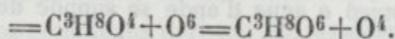
neste caso podem theoreticamente formar os seguintes corpos conhecidos:



Glycol  
propylico

Alcool  
propylico

Glycerina



Homologo  
da erytrita

Homologo  
da mannita

Todos estes compostos se encontram nas cellulas vegetaes. Alterando os coefficients do primeiro membro obtêm-se misturas diferentes a que correspondem diversos alcooes, aldehydos e acidos da serie gorda, podendo até admittir-se, diz Gautier, «que muitos corpos da serie aromatica são produzidos sob a influencia da decomposição directa de  $n\text{CO}^2 + m\text{H}^2\text{O} - p\text{O}$ .»

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

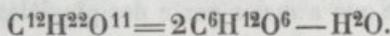
carbonico e da agua pelos processos de desoxydação; com effeito as fórmulas d'esses compostos representam exactamente a somma d'um certo numero de equivalentes de  $\text{CO}^2$  e HO, menos uma quantidade determinada de oxygeno. A hypothese de Gregory estende-se ás duas séries, gorda e aromatica, e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

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

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

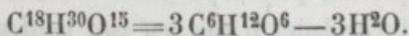
Ainda se não obteve a synthese artificial das saccharosas e do amido, mas é indubitavel, diz Berthelot, que todos os corpos hydrocarbonados complexos derivam dos assucares.

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



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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

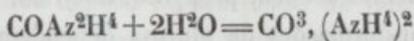
Este parentesco revelar-se-ha mais profundamente, se compararmos as suas funcções. Já dissemos em outro logar que as cellulas dos vegetaes superiores funcionam em determinadas circumstancias como os fermentos figurados. As raizes d'algumas plantas d'África produzem alcool, como as cellulas da levadura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

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

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

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

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



Uréa

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

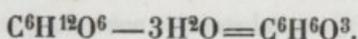
Accresce a isto que as descobertas recentes elevam de dia

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

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

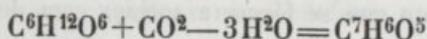
A glucosa, cuja importancia nos phenomenos chimicos do protoplasma é capital, transforma-se sob a influencia dos fermentos figurados em varios compostos, d'entre os quaes se encontram nas plantas superiores os alcooes ethylico e propylico, a glycerina, a mannita, e os acidos acetico, propylico, butyrico,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

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



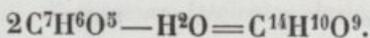
Acido  
pyrogallico

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



Acido  
gallico

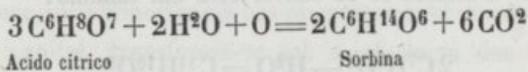
o qual deshydratando-se se converteria em tannino:



Tannino

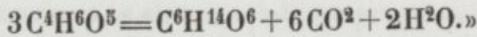
É o tannino que depois, noutra phase da vida da cellula, se converte de novo em assucar e acido gallico sob a acção dos fermentos soluveis. Os periodos que passamos a transcrever encerram alguns dados importantes para a hypothese que adoptamos. «Estas reacções inversas, diz Gautier, que assim fazem passar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

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



Acido citrico

Sorbina



Acido malico

Sorbina

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

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