

BOLETINS DA FACULDADE DE PHILOSOFIA, SCIENCIAS E LETRAS
DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

II

Botanica n.º 1

SUMMARIO

RAWITSCHER, F. - Experiencias sobre a symetria das folhas.

ARENS, K. - Sobre o papel do Potassio na Photosynthese aquatica e aerea.

ARENS, K. - O processo de infecção da Bremia Lactucae.



1937

Experiencias sobre a symetria das folhas (Versuche über Blatt-Symmetrie)

por

Felix K. Rawitscher

(Departamento de Botanica da Universidade de São Paulo) ⁽¹⁾

com 9 figuras no texto

A disposição das folhas nas cópas das arvores, sua distribuição nos ramos e a posição que tomam nestes, obedecem ás necessidades das funcções, á finalidade das folhas.

Trata-se especialmente, do *aproveitamento da luz*, porquanto importa em garantir ás folhas o maximo ou melhor um optimo de illuminação. Para isso, podem as plantas executar varias reacções com as quaes respondem a irritações exteriores, por meio de movimentos de crescimento, que se dão geralmente no peciolo, ou de turgescencia, nas articulações.

Convem mencionar, em primeiro lugar, as reacções phototropicas, em face de luz unilateral. Assim, se parte de uma lamina folhear fôr escurecida por uma folha sobreposta ou pela sombra de um outro corpo, o peciolo faz um movimento lateral, afastando a lamina da sombra, movimento esse que cessa sómente quando a lamina folhear recebe igual quantidade de luz dos dois lados (cf. Ball, Raydt, Laibach). Observando-se o bordo de uma floresta do lado em que incide a maior quantidade de luz, veremos que todas as folhas, na medida de suas possibilidades, exhibem suas laminas á luz de maneira que nenhuma dellas fique encoberta pela sombra de outra. O aproveitamento de luz se torna, assim, tão perfeito que quasi não ha lacunas, atravez das quaes a luz possa penetrar no interior das cópas. Esse phenomeno foi descripto muitas vezes sob o nome de formação de *mosaicos folheares*.

Ao lado da irritabilidade phototropica, tambem a *geotropica* não é sem importancia: permite ás folhas e caules uma orientação conforme a direcção da gravidade. De taes reacções não só resulta a direcção vertical do tronco principal, como tambem a posição obliqua dos ramos lateraes de primeira ordem, cujo angulo geralmente é um caracteristico pelo qual se distinguem as diversas especies de arvores. O mesmo é valido para a orientação, frequentemente bem horizontal, dos ramos lateraes de ultima ordem, como principalmente se observa nos ramos de sombra das faias (*Fagus* sp.), dos olmos (*Ulmus* sp.) e abetes (*Abies* sp.). Bons exemplos de arvores sul-ameri-

(1) Ao publicar o nosso primeiro Boletim, não podemos deixar de agradecer ao Governo do Estado de São Paulo que poz á nossa disposição todos os meios necessarios para as nossas pesquisas.

canas são os Podocarpus, e entre as ervas, algumas especies de Sida que crescem na sombra das florestas. Neste caso, a posição das folhas é distica, como no ramo de olmo representado na fig. 8. Folhas ou agulhas apresentam a face superior á luz diffusa, que de preferencia vem de cima, depois de ter passado pela cópa. Se brotos novos, em crescimento, forem deslocados da posição normal, voltam novamente para sua posição primitiva, por meio de nutações e torções geotropicas. Tambem os peciolo das folhas são capazes de collocar os limbos em posição horizontal, por meio de taes reacções geo e phototropicas. Assim, nos ramos de sombra das arvores mencionadas, a fronde se dispõe em planos horizontaes de assimilação. E' o que se observa especialmente no interior das florestas.

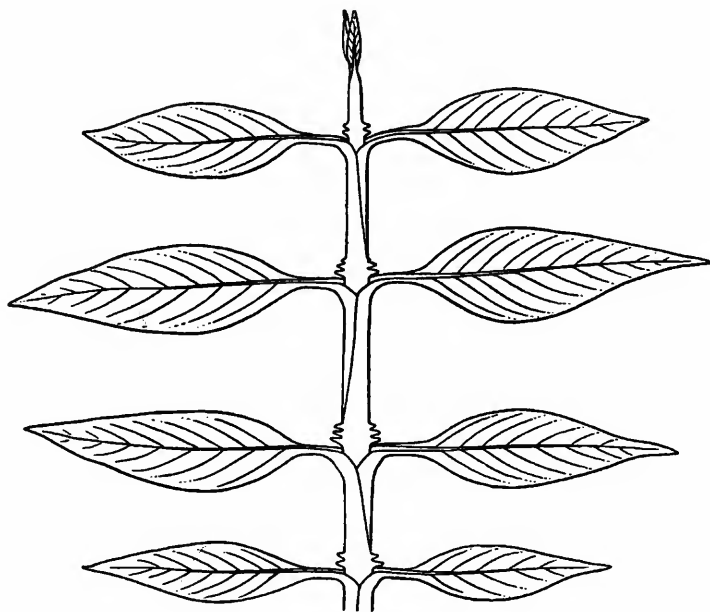


Fig. 1

Fig. 1 — *Lonicera xylosteum* — Ramo horizontal, visto de cima, mostrando torções internodiaes. (Horizontaler Zweig von oben, Internodientorsionen zeigend.) Cópia de A. Frank.

Para se conseguir tal orientação horizontal, ás vezes são necessários movimentos bastante complicados, como por exemplo nas plantas com folhas oppostas: assim, num ramo horizontal de Coffea ou de Lonicera, um par de folhas inserido lateralmente, alterna com um outro em que uma folha sae do lado superior e outra do inferior. As folhas lateralmente inseridas facilmente se distendem num plano horizontal e voltam a face superior para cima, executando uma simples torsão dos peciolo, de 90°. As folhas do outro par, que saem, respectivamente, ao lado superior e inferior, attingem com mais difficuldade uma posição horizontal. Muitas vezes, o ramo que as forma, faz, por sua vez, uma torsão de 90°. Vemos na fig. 1 um tal ramo cujo ultimo par de folhas ainda está em posição vertical, mas, como

se pode ver, pelas torsões já executadas na parte adulta, iniciará logo uma torsão na extremidade do caule, para virar o par de folhas para os lados. Assim, taes ramos lateraes dão ao observador a impressão de ramos com folhagem distica. As torsões aqui esboçadas são provocadas por geotropismo e por phototropismo; foram descriptas e exactamente analysadas, especialmente, por *A. Frank*, botanico excellente, cujas obras merecem a maior attenção (cf. Sierp).

Além das irritações exteriores, a posição das folhas obedece tambem a *causas interiores* que provêm da constituição da planta. A posição das folhas dos ramos de Tilia, Olmo ou Faia, normalmente é espiralada; encontra-se em geral em todos os caules rectos. Ao inverso, um ramo de Tilia, Olmo ou Faia que, durante annos, foi obrigado a crescer como ramo lateral, na sombra, abandona essa posição formando sómente folhas e gomos lateraes, em disposição distica (vide Fig. 8). Dest'arte não ha necessidade de qualquer torsão internodial para exhibir as folhas horizontalmente. Essa adaptação dos ramos lateraes sem duvida é util; quaes as correlações que daí decorrem no interior da planta é o que ignoramos completamente.

As reacções mencionadas e outras que não referimos transformam um ramo com folhagem distica num orgão que, quanto ao aproveitamento da luz e ás funcções photosyntheticas, se parece muito com uma folha composta, como por ex., da *Aralia* representada na fig. 2. Ambos nada mais são do que systemas de assimilação, collocados num plano horizontal. Em taes orgãos compostos, sejam folhas compostas, ou ramos com folhagem, observamos mais uma peculiaridade na disposição das partes, peculiaridade essa que vamos estudar a seguir. Sobresae a perfeita symetria de formação e coordenação dos orgãos, quer folhas, quer foliolos. Esta symetria não pode passar despercebida a qualquer observador e é demonstrada em pequena escala pelas nossas illustrações. Tal disposição symetrica, sem duvida é util ás plantas. Determina, primeiramente, o aproveitamento completo da superficie de que dispõe o orgão portador. Além disso, é de grande importancia pratica, porque fica, desse modo, garantido um equilibrio do peso dos ramos ou do eixo da folha composta, equilibrio esse que facilita a collocação da folhagem no plano horizontal (1). Se forem desviados do equilibrio por um pé de vento, os systemas assimiladores voltam facilmente á posição horizontal, porque o centro de gravidade coincide com o eixo por causa da symetria.

O que nos interessará é o facto que tal symetria, se fôr perturbada por qualquer influencia interior ou exterior, pode ser restabe-

(1) Talvez se possa indagar qual a vantagem em geral da formação de folhas compostas: por que razão não produz a natureza uma só folha grande, em vez de folhas muito subdivididas? A subdivisão, sem duvida, é vantajosa, se não necessaria, possibilitando ampla ventilação. Tal ventilação facilita o accesso do anhydrido de carbono. Nos climas tropicaes e sub-tropicaes protege as folhas contra o perigo de aquecimento excessivo por irradiação. Como o mostraram pesquisas novas, especialmente as de Harder, o resfriamento pelo vento é imprescindivel. E' claro que uma subdivisão muito fina da superficie folhear facilita isso. Assim, a delicadeza das folhas pennadas das nossas Leguminosas, a subdivisão das folhas das palmeiras e de outras arvores tropicaes se comprehende bem nesse sentido.

lecida pela planta, supposto que os órgãos em questão ainda tenham capacidade de crescer e de reagir.

Foi *Nemeç*, como parece, o primeiro observador do phenomeno (1902); outros trabalhos se seguiram, especialmente os de *Goebel* (1916), *Haerdtl* (1927) e *Pringsheim* (1931). A obra de *Pringsheim* contém uma bôa exposição da literatura e muitas figuras que illustram a grande frequencia dessas reacções em plantas diversissimas. Poderemos, pois, limitar-nos a alguns pontos, referindo-nos ás obras citadas.

O essencial da questão vê-se na fig. 2. Em *a*, mostramos uma folha composta, de uma *Aralia spinosa*. Essas folhas se desenvolvem num plano mais ou menos horizontal; na experiencia que representamos uma folha nova foi fixada com plastilina numa placa de vidro, em posição exactamente horizontal. Amputamos, em seguida, o foliolo terminal e um foliolo lateral, de maneira que o eixo principal fica com um só foliolo lateral, como mostra a fig. 2 *b*. Logo, começa uma curvatura lateral da parte do eixo portadora deste foliolo (fig. 2 *c*). Primeiro, esta curvatura abrange toda a secção do eixo. Mais tarde, localiza-se no proprio ponto da inserção do foliolo; a parte restante do eixo se indireita novamente. Finalmente, o foliolo lateral fica exactamente na continuação do eixo principal; a symetria é perfectamente restabelecida e é preciso observar bem de perto para ver que o foliolo em questão é, morphologicamente, um foliolo lateral (fig. 2 *d*).

Se tirarmos da folha apenas um foliolo lateral, deixando-se, portanto, o outro foliolo lateral e o terminal, este se desvia da mediana para o lado de onde se retirou o foliolo, restabelecendo-se, assim, a symetria. Afastado só o foliolo terminal, os dois foliolos lateraes se approximam. Illustrações do que acabamos de dizer, encontram-se na literatura mencionada que mostra que folhas lobadas e até folhas não subdivididas podem executar movimentos analogos que tendem a restabelecer a symetria perturbada.

Quaes as causas desses movimentos? De reacções geotropicas não se pode tratar, porque as folhas se encontram num plano horizontal que durante toda a experiencia não abandonam. Aliás, para garantir-o, em todas as nossas experiencias foram fixadas, como na fig. 2, com plastilina, numa placa horizontal, de vidro.

Tambem não se pode tomar em consideração um phototropismo das reacções. Nenhum foliolo faz sombra ao outro. O afastamento de um membro não altera a illuminação dos restantes. Finalmente, os mesmos resultados podem ser obtidos, fazendo-se a experiencia numa camara escura.

Em terceiro lugar, poderíamos pensar numa irritação por ferimento. Com effeito, órgãos que crescem executam curvaturas nas quaes o lado ferido diminue o crescimento, tornando-se, assim, concavo. Taes reacções «traumatotropicas», estudadas especialmente por *Stark* são frequentes nas folhas. Uma reacção como na fig. 2, poderia ser explicada deste modo. Entretanto, não podemos explicar tudo por traumatotropismo. Primeiramente, como *Goebel* salienta, as reacções co-



Fig. 2 a



Fig. 2 b



Fig. 2 c



Fig. 2 d

Fig. 2 - *Aralia spinosa* -- Folha composta, fixada horizontalmente, com plastilina, sobre uma placa de vidro; a) antes da amputação; b) imediatamente depois da amputação do foliolo terminal e um lateral; c) 22 horas depois da amputação; d) folha idêntica, 15 dias depois da amputação. (Fiederblatt, mit Plastilin auf Glasplatte horizontal befestigt; a) vor der Amputation; b) End- und eine Seitenfieder amputiert; c) 22 Stunden nach der Amputation; d) Ein gleiches Blatt, 14 Tage nach der Amputation.)

meçam, frequentemente, muito tempo depois do ferimento, quando uma irritação da ferida já deveria ter desaparecido; segundo, como mostra *Nemeç*, não se podem conseguir curvaturas analogas, lateraes, da mesma duração, em órgãos apenas feridos, sem amputação simultanea.

Finalmente, *Nemeç* chama a nossa atenção para os casos em que um órgão parcial, por razões interiores, deixa de ser formado pela planta, sem amputação ou outra perturbação exterior. Se, por taes razões interiores, um foliolo lateral não se desenvolve, o foliolo terminal desvia-se para o lado, exactamente como se tivessemos amputado o foliolo lateral. Esta constatação, que talvez não parece bastante convincente, pode ser reforçada por uma observação representada na fig. 3, que mostra o caso inverso: em vez de um foliolo terminal, po-



Fig. 3

Fig. 3 — *Aralia spinosa* — Folha anormal com dois foliolos terminaes; os dois ultimos foliolos lateraes desviados. (Anormales Blatt, mit 2 Endfiedern, die letzten Seitenfiedern sind abgelenkt.)

dem ser formados dois. Ambos tomam uma posição symetrica, em relação ao eixo principal. O par seguinte de foliolos desvia-se da direcção normal, formando angulos maiores com o eixo principal. Taes movimentos lateraes indubitavelmente não são provocados por uma irritação qualquer de traumatotropismo.

Nessas condições, *Haerdttl* e *Pringsheim* procuram a explicação na perturbação do equilibrio. O afastamento de um foliolo significa disequilibrio; este pode provocar uma torsão do eixo principal ou dos peciolos, pela qual o systema folhear abandona sua posição horizontal. Tal mudança de posição e de equilibrio, segundo os autores exerceria uma irritação que provocaria as reacções de crescimento que estamos estudando. Tratar-se-ia, pois, de uma nova especie de irritabilidade, para a qual *Haerdttl* propõe o nome de « Isoclinotropismo ».

Haerdttl e *Pringsheim* demonstraram, com varias experiencias, que movimentos parecidos podem ser induzidos provocando-se um disequilibrio nas folhas. Suspendendo um peso numa das metades de uma folha intacta, puderam provocar tal disequilibrio e observaram movi-

mentos analogos aos que se dão nas folhas parcialmente amputadas. Fizeram, tambem, a experiencia inversa: perturbaram a symetria da folha por resecção de foliolos lateraes, etc.; restabeleceram o equilibrio, accrescentando um peso, do lado amputado, que substitue o peso do foliolo que falta. Nesse caso, muitas vezes, observaram a falta de reacção. Isso comprovaria que a perda do equilibrio poderia tornar-se uma causa de irritação para os movimentos aqui estudados. Entretanto, não é facil fazer uma idéa do mecanismo pelo qual um desequilibrio pode causar uma irritação.

Pringsheim (l. c. pag. 65) julga que a pequena torsão do eixo que se dá em consequencia do desequilibrio provoca uma reacção unilateral de crescimento. Mas, como a botanica não conhece casos em que torsões induzem por si só curvaturas de crescimento, seria preciso que tal explicação tivesse esclarecimentos ulteriores. Talvez possamos interpretar tal concepção, esclarecendo que, pela torsão, cada flanco abandona sua posição lateral: um desloca-se para cima, outro para baixo. A consequencia desse deslocamento pode ser uma reacção geotropica do peciolo ou do eixo, na qual o flanco deslocado para baixo augmenta o seu crescimento. A região de reacção soffrerá uma curvatura, na qual o flanco desviado para baixo torna-se convexo. Seria facilmente comprehensivel que tal curvatura deslocasse o centro de gravidade da folha, na direcção do lado amputado. Disso resultaria, finalmente, um augmento do momento estatico, deste lado, que restabelece o equilibrio inicial. Desta maneira, poderíamos comprehender que o desequilibrio pode produzir alguns dos movimentos citados.

Entretanto, resulta das constatações de *Haerdtl* e de *Pringsheim* que tudo não pode ser explicado desta maneira. Assim, em alguns casos foi necessario accrescentar pesos bem maiores do que o correspondente á differença produzida pela amputação de um lado, para provocar um movimento lateral. Em outros casos, um equilibrio estabelecido artificialmente não fez cessar os movimentos lateraes. Assim, *Pringsheim* chega á conclusão de que deve existir mais um factor que até agora não foi tomado em consideração e que a *Haerdtl* passou despercebido (l. c. pg. 21).

Nossas observações que referimos aqui tratam deste factor desconhecido. Como acabamos de ver, as experiencias mencionadas, de desequilibrio, não conseguiram resultados nitidos. Outra cousa não se podia esperar, considerando-se as difficuldades de taes experiencias. E' verdade que podemos retirar um foliolo, podemos substituil-o por um fio de aluminio ou outro peso qualquer, que fixamos convenientemente no eixo folhear. Assim restabelecemos o equilibrio por algumas horas. Mas, trata-se de foliolos novos que, durante a experiencia, devem continuar o seu crescimento. Depois de um dia, o foliolo, que permaneceu, já terá augmentado de peso e já não haverá equilibrio. A outra maneira que consiste em apoiar o systema folhear por uma placa de vidro, tem a desvantagem de não impedir

ligeiras curvaturas do eixo para cima, geotropicas, que o afastam um pouco do suporte, possibilitando novos desvios provocados pelo desequilibrio.

Se o nosso exame não confirmou perfeitamente os resultados de *Haerdtl*, provavelmente devemos attribuir-o ás causas que acabamos de citar. Já na fig. 2, onde demonstramos uma folha de *Aralia*, fixada com plastilina e bem supportada, vimos um restabelecimento da symetria que, segundo *Haerdtl*, não seria de esperar. Mas, visto que, apesar da plastilina, pequenos desvios do plano horizontal, em taes experiencias, não podem ser absolutamente excluidos, empregamos outro methodo que já foi usado occasionalmente na physiologia vegetal do seculo passado, quando foi necessario eliminar os efeitos do peso de certos órgãos: mergulhamos os órgãos na agua. Folhas e caules sendo mais leves do que a agua soffrem um impulso para cima, cuja direcção é contraria ao effeito do proprio peso ao qual estão expostas no ar. Cada effeito directo do peso é invertido na agua quanto á sua direcção; um movimento que no ar se daria para baixo na agua se dará para cima, se fôr provocado pelo peso do órgão. O mesmo se dará com todos os movimentos obliquos, cujo componente lateral tambem será invertido, da esquerda para a direita e vice-versa. Ao contrario, uma reacção que fôr provocada não por consequencia directa do peso, mas por geotropismo ou phototropismo ou por uma irritação interior, na agua se dará na mesma direcção do que no ar. E' o que é valido no caso dos movimentos aqui estudados.

E' verdade que não podemos fazer as experiencias *sob* a agua, porque o impulso para cima é tão grande que deformaria os foliolos novos e delicados. E' preciso fazer fluctuar a folha na superficie da agua. Neste caso, os foliolos se estendem e desabrocham normalmente num plano horizontal ideal. Igualmente, encontram bastante ar e luz tornando-se capazes de reagir bem. Tudo o que precisamos é um aquario no jardim ou no laboratorio, collocado junto da nossa planta de experiencia. Enchemol-o com agua até o bordo e fixamos a folha de experiencia na margem do recipiente de maneira que possa desabrochar na posição normal, horizontal, fluctuando na agua. Depois de nos convenceremos que o desabrochamento se passa normalmente, amputamos, exactamente como na fig. 2 *b*, um foliolo terminal e um lateral. O resultado é identico ao que representamos nas figs. 2 *c*, e 2 *d*, como o mostra a fig. 4.

Assim, fica comprovado que sem qualquer modificação do equilibrio, os mesmos movimentos podem ser executados.

Portanto, o restabelecimento da symetria deve se basear, pelo menos, em mais um factor, que só podemos attribuir a causas internas. A symetria tambem se restabelece, se todas as irritações exteriores, como as da gravidade, de luz e de peso, forem excluidas. A planta deve perceber, na sua propria organização, a falta de certos órgãos e, por razões internas, deve ser levada a restabelecer a forma normal, na medida de suas possibilidades.

Em principio, isso não constitue nada de essencialmente novo, pois conhecemos bem o caso em que, na falta do eixo principal do pinheiro, os ramos lateraes se erigem até que um destes substitua o caule central, assumindo a direcção no desenvolvimento da cópa. Tal processo,



Fig. 4

Fig. 4 — *Aralia spinosa* — Tratada da mesma maneira que na fig. 2 b, fluctuando numa superficie de agua. Photographada 4 dias depois da amputação: o foliolo lateral tomou posição terminal. (Behandelt wie fig. 2 b. Auf Wasseroberflaeche schwimmend. Photographiert 4 Tage nach der Amputation, die Seitenfieder in die Endstellung eingerueckt.)

até agora, sempre foi considerado um caso especial, ressaltando-se que na transformação de um ramo lateral, plagiogeotropico, para um ramo central orthogeotropico, o reaccionismo geotropico do broto é modificado. A concepção geral, neste caso é que, retirado o apice de um pinheiro, não é directamente a perturbação da forma que se torna efectiva, mas, sim, pela falta do apice são supprimidas as correlações entre o eixo principal e os lateraes, correlações essas que levam os ramos lateraes a crescer vagarosamente e a tomar uma direcção obliqua, plagiogeotropica. A falta do apice, causa, então, uma modificação no comportamento geotropico dos ramos e esta os leva a erigir-se.

No caso dos systemas folheares, horizontaes, a interpretação deve ser differente. Se um foliolo apical fôr substituido por um lateral, não podemos pensar numa modificação correlativa em resposta a irritações exteriores, como o ensinam as experiencias communicadas; as reacções lateraes não modificam a posição dos órgãos nem em relação á luz, nem á gravidade. E' a propria mudança da forma, como tal, que deve ser considerada como a causa immediata do movimento.

A concepção de que as plantas são capazes de perceber e de

reagir a perturbações da propria forma já, ha muito, foi externada pelo emerito physiologista e botanico *Noll* (1).

Ainda que um estudo cuidadoso das reacções vegetaes revele, não raramente, phenomenos que parecem pertencer a esse dominio, os physiologistas mostraram-se pouco inclinados a adoptar taes concepções morpheticas; não ficou bem claro de que modo natural a ausencia ou a presença de um órgão pode exercer uma influencia material sobre os órgãos visinhos. Hoje em dia, as cousas mudaram, desde que sabemos que de cada órgão partem efeitos chimicos, hormonaes, que irradiam para os órgãos visinhos, influenciando-os no seu comportamento physiologico. Conhecemos, hoje, no reino vegetal, os chamados hormonios de crescimento que, nas extremidades dos órgãos em crescimento, se formam sempre novamente; destes, passam para as zonas de distensão, controlando o desenvolvimento. Um broto, privado do ponto vegetativo, cessa o crescimento, por falta destes hormonios; provido, artificialmente, com taes substancias, um caule decapitado recomeça o seu crescimento. A esse respeito, foram accumuladas, nestes ultimos annos, vastas experiencias que são relatadas nos tratados mais recentes da physiologia vegetal (cf. *Boysen-Jensen*).

O efeito de taes hormonios não se limita sómente ao controle do crescimento: sob a influencia do eixo principal, os ramos secundarios crescem como ramos lateraes, plagiogeotropicos; o desabrochar de certos gomos impede o crescimento de outros que permanecem como olhos dormentes. Sempre se deve tratar de taes influencias hormonaes. O problema, se, nesse caso, trata-se sempre dos mesmos hormonios que entram em acção, provocando efeitos diferentes em diferentes tecidos da planta, ou se um ponto vegetativo secreta varios hormonios diferentes, forma hoje em dia objecto de muitos trabalhos.

As folhas tambem produzem taes hormonios; varias pesquisas recentes (*Avery, Laibach, Laibach e Fischnich, Pohl* e outros) demonstram como influenciam o crescimento dos proprios peciolo, dos caules nos quaes estão inseridos e dos gomos que protegem nas respectivas axillas (*Snow*). Logo, impõe-se a idéa que em todas as partes de uma folha composta circulam hormonios, provindo de todos os órgãos parciaes, e ainda, que a falta de um desses órgãos deve influenciar todo o cyclo hormonal.

Com efeito, podemos provocar, com doses de hormonios de crescimento, reacções lateraes nos systemas folheares, reacções essas que se parecem muito com as que são provocadas por amputações. Assim, folhas compostas da Bignoniacea *Jacaranda mimosifolia* foram munidas por nós, unilateralmente, com uma pasta de heteroauxina, posta sobre os foliolos do lado direito. Dentro de pouco tempo (algumas horas), o lado munido de heteroauxina, torna-se convexo, como mostra a fig. 5 *b*. A fig. 5 *a* mostra uma outra folha de controle, na qual foram amputadas 5 dos seus foliolos lateraes.

(1) *Noll* designou essa irritabilidade como «*Morphesthesia*», termo que significa uma sensibilidade para com a propria forma.



Fig. 5 a

Fig. 5 b

Fig. 5 — *Jacaranda mimosaeifolia* — Duas folhas pennadas, horizontaes; a) 3 dias depois da amputação de 5 foliolos lateraes; b) folha intacta, cujos foliolos lateraes foram munidos de heteroauxina, photographada depois de 24 horas. (Zwei wagrechte Fiederblaetter; a) 3 Tage nach Anputation von 5 Seitenblaettchen; b) intaktes Blatt, die rechten Seitenblaettchen mit Heteroauxin, photographiert nach 24 Stunden.)

As curvaturas induzidas pelos hormonios accrescentados, depois de algum tempo retrogradam e terminam com um movimento contrario, caso não sejam accrescentadas sempre novas doses de hormonios. Como parece, os hormonios são decompostos pela planta viva (vide *Kornmann*). Outras substancias, contidas na pasta, ou a propria heteroauxina na dose em que foi empregada, deve ter effeito prejudicial sobre o desenvolvimento ulterior das folhas; os foliolos tratados permanecem pequenos, mostrando crescimento retardado. Assim, se explicam mais tarde as curvaturas contrarias que mencionamos aqui.

Passando pasta de hormonios nos cotos dos foliolos removidos, pudemos observar phenomenos identicos. Conforme a concentração dos hormonios na pasta, torna-se convexo o lado que contém os cotos empastados ou o que conservou os foliolos intactos. Eixos privados dos foliolos dos dois lados, fazem uma curvatura lateral, se forem munidos de hormonios unilateralmente, tornando-se este lado convexo. Esta reacção retrograda em 24 horas.

O maior effeito se consegue com concentrações relativamente altas, por exemplo, misturando-se uma solução aquosa saturada de heteroauxina com igual ou duplo volume de adeps lanae. Uma parte de heteroauxina com 8 partes de lanolina já não deu reacções nitidas.

Experiencias analogas foram feitas com *Polypodium Rainwardii*, *Solanum lycopersicum* e varias outras plantas, sempre com o mesmo resultado.

Resulta de taes experiencias que, por distribuição desigual de hormonios de crescimento, podem ser provocados phenomenos parecidos com os que se seguem a perturbações da symetria. Não sabemos, porém, se as reacções morpheticas são explicadas, de facto, na sua totalidade por distribuição dos hormonios.

Facilmente interpretaveis, nesse sentido, são as curvaturas lateraes que vemos nas figs. 2 *b* e 6. Aqui parece evidente que os foliolos do



Fig. 6

Fig. 6 - *Sanguisorba dodecandra* -- Folha pennada, horizontal, dois dias depois do afastamento de 5 foliolos lateraes. (Ein Fiederblatt, 2 Tage nach Entfernung von 5 Seitenblaettchen.)

lado intacto da folha amputada enviam uma corrente de hormonios para o lado direito da rachis, corrente essa que produz um crescimento augmentado, uma convexidade desse lado. Mas, a explicação torna-se muito menos facil, se consideramos que a curvatura cessa e até involue, justamente quando a symetria foi restabelecida (fig. 2 *d*). O foliolo que substitue o foliolo apical continua sempre inserido lateralmente ao eixo principal; os hormonios que provêm d'elle, deveriam se espalhar sempre de preferencia no flanco de inserção. Talvez se poderia suppôr que os foliolos proximos, mais baixos, enviam, por sua vez, hormonios que passam pela rachis para cima, contrapondo-se aos effeitos dos hormonios do foliolo mais apical.

As mesmas ponderações são validas para o comportamento de folhas, como na fig. 7 (*Schizolobium*). Aqui, o movimento do ultimo foliolo apical está localizado na articulação. Todo o foliolo está intacto: se a reacção é produzida por distribuição desigual dos hormonios, estes não são os do proprio foliolo apical, mas devem provir dos foliolos mais baixos. Aliás, o mecanismo dos movimentos nas arti-

culações, sob a influencia de hormonios, ainda não está esclarecido. Em verdade, geralmente os hormonios seguem em direcção basal. Mas, novas pesquisas (cf. *Jost* u. *Reiss* e a literatura indicada por estes autores) mostraram que a migração dos hormonios se faz tambem no sentido apical.

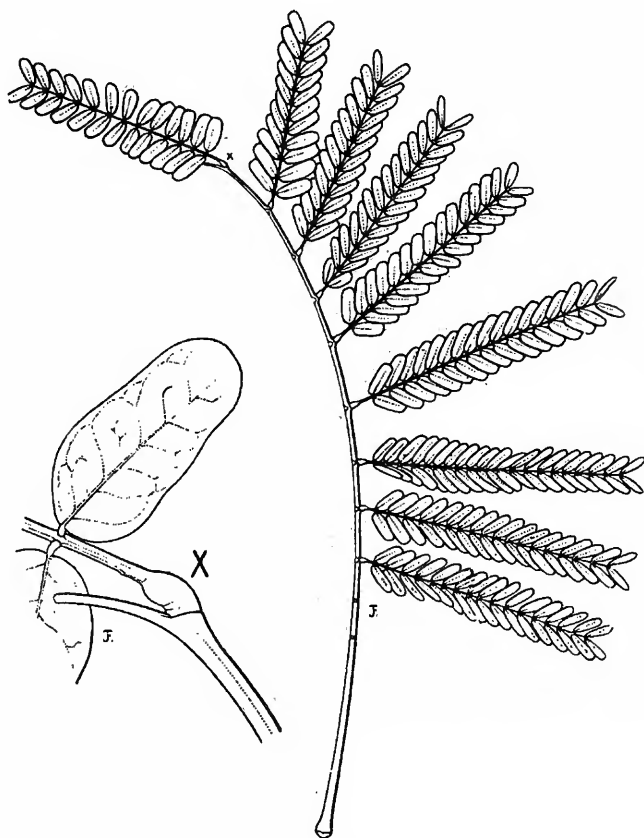


Fig. 7

Fig. 7 — *Schizolobium excelsum* — Folha pennada, horizontal, 6 dias depois do afastamento dos folíolos esquerdos; além do eixo da folha reagem os folíolos lateraes nas articulações. X — articulação da folha superior, aumentada. (Horizontales Fiederblatt, 6 Tage nach Entfernung der linken Seitenblaettchen. Ausser der Blattspindel Reaktion der Seitenblaettchen in den Gelenken. X — Oberstes Blattgelenk, vergroessert.)

O facto que folhas e folíolos podem influenciar o crescimento de órgãos inseridos mais para o apice, pode ser demonstrado em muitos casos, dos quaes citamos especialmente o do genero *Ulmus*. Os ramos horizontaes geralmente mostram curvatura em zig-zag (fig. 8). Desde a folha inserida á esquerda, o eixo se desvia para a direita, voltando novamente para a esquerda depois de passar pela inserção da folha que se segue á direita. E assim por diante. O desvio é mais accentuado na extremidade, onde as folhas ainda não attingiram o tamanho final, como se vê, no ramo normal, á esquerda da figura. Aqui, a ultima folha desabrochada desviou o broto numa curva accentuada para a direita. Taes phenomenos já foram observados por *Wiesner* (1878) e

são discutidos por *Goebel* (pg. 146) que falam em «Undulierende Nutation» e «Flanken-Nutation»; *Kisser* e *Zeisel* publicaram recentemente algumas experiencias que concordam com as nossas. É bastante afas-



Fig. 8

Fig. 8 — *Ulmus montanus* — Ramo horizontal, de sombra; á esquerda intacto; á direita, dois dias depois da amputação de uma folha. (Horizontaler Schattenzweig. Links intakt; rechts, 2 Tage nach Amputation eines Blattes.)

tar uma folha nova, como foi feito no ramo direito da figura, para ver desaparecer o desvio lateral. A extremidade do broto com o gomme novo, colloca-se, então, exactamente na continuação do sistema de ramificação.

Mesmo que as folhas não sejam retiradas, em ramos normaes, o desvio diminue mais tarde, seja talvez por «autotropismo», seja porque o eixo já não soffre mais a influencia de uma só folha, mas, sim, do conjuncto de todas as folhas apicaes. O mesmo comportamento pode ser observado com iguaes resultados, em *Polygonum Sieboldi*. No caso representado na fig. 9 de dois brotos iguaes, retiramos do da



Fig. 9

Fig. 9 — *Polygonum Sieboldi* — Mostrando reacção analoga á da fig. 8. (Analoge Reaktion wie in Fig. 8.)

direita uma folha inserida do lado direito. O broto novo, que na testemunha (á esquerda) permanece desviado para a esquerda, na planta de experiencia collocou-se em 24 horas na direcção do eixo portador. Em todas essas experiencias trata-se de ramos bem horizontaes, mantidos durante toda a experiencia num plano horizontal perfeito.

Como pude observar, esses movimentos se fazem da mesma maneira em ramos horizontaes que tiverem como suporte uma placa de vidro ou uma superfície de agua.

Resumindo, não haverá possibilidade de duvida quanto ao seguinte: é somente a presença ou a ausencia de certas folhas ou partes folheares que pode influenciar, por causas internas, o crescimento de outros órgãos, em determinada direcção. Portanto, é justo falar com *Noll* em morphesia. Provavelmente, essa morphesia é determinada pela presença ou ausencia de certos hormonios. Entretanto, esta ultima hypothese presuppõe uma distribuição dos hormonios de crescimento muito perfeita e muito sensível, cujo mecanismo absolutamente ainda não foi esclarecido.

Provavelmente, como em outros casos onde são implicados hormonios de crescimento, a sua distribuição desigual não seria a primeira causa da reacção, mas somente um dos varios meios utilizados no mecanismo da reacção vegetal.

RESUMO

O trabalho trata das causas que regem a symetria de systemas folheares, quer folhas compostas, quer ramos folheados. A introdução contém um apanhado geral das reacções geo e phototropicas que se dão na orientação de systemas assimiladores, especialmente dos que se estendem horizontalmente, reacções essas que foram principalmente esclarecidas por *A. Frank*.

A parte principal se occupa com as causas interiores que se exercem sobre o desenvolvimento symetrico de folhas compostas e ramos folheados. Se fôr perturbada a symetria de taes órgãos, removendo-se foliolos ou folhas, esta é novamente restabelecida na medida do possível, por movimentos lateraes do eixo principal ou dos órgãos secundarios. Esse phenomeno é conhecido desde *Nemeç* (1902).

Haerdtl e *Pringsheim* procuram as causas destas reacções principalmente na perturbação do equilibrio. Trataria-se de reacções pela sobrecarga de um lado. *Haerdtl* propõe o termo *Isoclinotropismo* para esse novo tropismo. Comtudo, como já resulta das pesquisas de *Pringsheim*, é difficil explicar todas as reacções observadas por isoclinotropismo.

Nossas pesquisas provam, antes de tudo, que os movimentos lateraes em questão se realisam tambem na ausencia de qualquer disequilibrio. Os autores precedentes, nas suas pesquisas, restabeleceram o equilibrio, substituindo as partes amputadas por pesos correspondentes. Taes experiencias sempre se prestam a duvidas, porque os órgãos de experiencia estão em crescimento, soffrendo constantes variações de peso; portanto, um equilibrio permanente não pode ser realisado. Um methodo simples e seguro é permittir aos systemas em

questão, que desabrochem horizontalmente, fluctuando numa superficie de agua (fig. 4). Neste regimen, os movimentos lateraes se realisam sem ser enfraquecidos: logo, são independentes de uma irritação por desigualdade de peso.

Sendo excluida tambem a contribuição do phototropismo (as reacções se realisam tambem no escuro), trata-se de uma dessas irritabilidades interiores que foram denominadas por *Noll* como *Morphesthesia*. A falta de qualquer parte deve produzir perturbações correlativas.

Hoje, taes reacções morphesthetics podem ser explicadas por distribuição desigual de *hormonios de crescimento*. Cada folha ou foliolo produz hormonios que entram no eixo de um órgão symetrico. Uma distribuição desigual dos hormonios deve provocar uma curvatura, com convexidade do lado que contém um *plus* em hormonios. Experiencias especiaes com *Jacaranda mimosifolia* mostram que é possivel provocar curvaturas lateraes analogas, accrescentando-se heteroauxina unilateralmente a folhas pennadas intactas (fig. 5). Comtudo esta explicação aparentemente obvia, não pode explicar todos os phenomenos observados. Se, por exemplo, um foliolo lateral toma o lugar de um foliolo terminal, o movimento cessa quando o foliolo lateral tiver entrado exactamente no prolongamento do eixo principal. Ainda assim, os hormonios deste foliolo entram no eixo lateralmente. Porque cessa a convexidade deste, logo que seja restabelecida a symetria? Tambem o comportamento do foliolo representado na fig. 7 mostra a complicação existente. Aqui é a articulação de um foliolo intacto que reage pela falta de outros foliolos. Podemos concluir que na folha intacta, onde nada falta, circulam continuamente hormonios ou outras influencias que são transportadas de todas para todas as partes.

Tambem em ramos com folhagem distica, como em *Ulmus* e *Polygonum*, os desvios lateraes do apice, que produzem as figuras caracteristicas em zig-zag, são determinados por correlações partindo das folhas basaes.

De tudo isso, podemos deduzir que a symetria dos systemas folheares, acima esboçados, é restabelecida por reacções correlativas internas. E' provavel que haja participação de hormonios de crescimento nesses movimentos, pois por meio de distribuição desigual dos mesmos podemos provocar movimentos analogos. Entretanto, fica ainda por esclarecer como pode ser determinada uma distribuição tão minuciosamente organizada, como seria necessaria para explicar o restabelecimento tão perfeito da symetria.

Provavelmente, como em outros casos onde são implicados hormonios de crescimento, a sua distribuição desigual não seria a primeira causa da reacção, mas somente um dos varios meios utilizados no mecanismo da reacção vegetal.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Arbeit beschaeftigt sich mit den Ursachen, welche die symmetrische Anordnung der Teile zusammengesetzter Blaetter und beblaetterter Zweigsysteme beherrschen. In der Einleitung wird ein Ueberblick ueber die Reaktionen geo- und phototropischer Natur gegeben, welche bei der Orientierung von Assimilationssystemen, besonders horizontal ausgebreiteten, in Frage kommen, und deren Kenntniss wir vor allem den Untersuchungen A. Franks verdanken.

Der Hauptteil beschaeftigt sich mit den inneren Ursachen, welche bei der symmetrischen Entfaltung zusammengesetzter Blaetter und belaubter Sprosse wirksam sind. Wird die Symmetrie solcher Organe durch Entfernung einzelner Blatteile oder Blaetter gestoert, so wird durch seitliche Bewegungen der Achse oder einzelner Seitenorgane die Symmetrie moeglichst wieder hergestellt, wie besonders seit Nemeç (1902) bekannt ist.

Die Ursachen solcher seitlicher Bewegungen, die auch in unseren Figuren illustriert werden, suchen Haerdtl und Pringsheim besonders in Stoerungen des Gleichgewichts. Die Seitenkruemmungen waren eine Reaktion auf Ueberbelastung einer Seite. Haerdtl schlaegt fuer diese neue tropistische Reizbarkeit den Namen *Isoklinotropismus* vor.

Wie besonders schon aus Pringsheims Untersuchungen hervorgeht, ist es aber schwer, alle beobachteten Reaktionen mit Isoklinotropismus zu erklaren.

Unsere eigenen Untersuchungen enthalten vor allem den Nachweis, dass die geschilderten Seitenbewegungen auch bei Ausschaltung ungleicher Belastung durchgefuehrt werden. Solche Versuche waren von den fruerehen Untersuchern durch zusaetzliche Belastungen ausgefuehrt worden, wo bei intakten Blattsystemen kuenstlich ein Ungleichgewicht erzeugt, oder bei einseitig amputierten kuenstlich das Gleichgewicht wiederhergestellt wurde. Solche Versuche sind immer bedenklich, weil die Versuchspflanzenteile noch wachsen, daher stets Gewichtsveraenderungen unterworfen sind, sodass ein wirklicher Gewichtsausgleich auf die Dauer nicht vorgenommen werden kann. Eine einfache und sichere Methode besteht dagegen darin, die betreffenden Systeme sich horizontal auf einer Wasserflaeche schwimmend entfalten zu lassen (Fig. 4). Bei dieser Versuchsanordnung treten die Seitenbewegungen in ungeminderter Intensitaet auf; sie sind also von einer Reizung durch ungleiche Belastung unabhaengig.

Da auch die Beteiligung von Lichtreizbarkeit nicht in Frage kommt (die gleichen Bewegungen treten auch im Dunkeln auf), handelt es sich um eine jener Reizbarkeiten, die von Noll als *Morphaestesia* bezeichnet wurden. Das Fehlen einzelner Blatteile muss als korrelative Stoerung wirken.

Heute kann man sich das Zustandekommen solcher morphaestischer Reaktionen durch ungleiche Wuchsstoffverteilung erklären: jedes Blatt und jeder Teil eines Blattes erzeugt Wuchsstoffe, die in die Achse eines symmetrischen Organes eintreten. Ungleiche Verteilung derselben wird eine Konvexkrümmung auf der Seite hervorrufen, wo ein Plus von Wuchsstoffen vorhanden ist. Dass durch Zufügen von Heteroauxin derartige Seitenkrümmungen in intakten Fiederblättern hervorgerufen werden kann, zeigten besondere Versuche an *Jacaranda mimosifolia* (Fig. 5) und anderen Pflanzen.

Immerhin können mit dieser naheliegenden Erklärung nicht alle beobachteten Erscheinungen erfasst werden. Rückt z. B. ein Seitenblättchen an die Stelle einer Endfieder, so wird die Bewegung sistiert, wenn das Seitenblättchen genau in die Verlängerung der Hauptachse eingetreten ist. Auch jetzt treten die Wuchsstoffe aus dieser Fieder von der Seite in die Achse ein. Warum wird deren Konvexkrümmung sistiert wenn die symmetrische Stellung der Fieder erreicht ist?

Auch der (Fig. 7) abgebildete Fall, wo ein intaktes Blättchen von *Schizolobium* mit seinem Gelenk auf das Fehlen anderer Blättchen desselben Blattsystems reagiert, zeigt, dass wenn die Erscheinung überhaupt durch Wuchsstoffverteilung hervorgerufen wird, die Verteilung dieser Wuchsstoffe im ganzen Assimilationssystem sehr fein abgestimmt sein muss. Das Gelenk reagiert auf das Fehlen von Wuchsstoffen oder anderen Einflüssen, die in der Blattachse circulieren. Im unversehrten Blatt müssen also dauernd Wuchsstoffe oder andere Einflüsse von allen Teilen zu allen Teilen transportiert werden.

Auch in zweizeilig beblätterten Zweigen, wie bei *Ulmus* und *Polygonum* werden die seitlichen Abweichungen des Spitzensprosses, die zu den bezeichnenden Zickzackfiguren führen, durch Korrelationen von den basal stehenden Blättern induziert (Figs. 8, 9).

Aus allem können wir folgern, dass die Symmetrie der geschilderten Blattsysteme durch innere, korrelative Reaktionen wieder hergestellt wird. Wuchstumshormone, durch deren ungleiche Verteilung man identische Bewegungen hervorrufen kann, sind wahrscheinlich beim Zustandekommen der Bewegungen beteiligt. Dagegen bleibt es noch zu erforschen, wie eine so fein abgestimmte Verteilung der Wuchsstoffe herbeigeführt werden kann, dass tatsächlich die so genaue Wiederherstellung der Symmetrie hierdurch erklärlich wird.

Wahrscheinlich wird es sich so verhalten, wie in anderen Fällen, wo Wuchsstoffe beteiligt sind. Diese stellen nicht die erste und nicht die einzige Ursache der Reaktion dar, sondern, sind nur eines der Mittel, deren sich der pflanzliche Reaktionsmechanismus bedient.

BIBLIOGRAPHIA

- EVERY jun. GEORGE S. Differential distribution of a phytohormone in the developing leaf of *Nicotiana* and its relation to polarized growth. *Bull. Torr. Bot. Club.* 1935. 62, 313.
- BALL, N. G. Phototropic movements of leaves. *Scient. Proceed. Roy. Dubl. Soc.* N. S. 17.
- BOYSEN-JENSEN, P. Die Wuchsstofftheorie und ihre Bedeutung fuer die Analyse des Wachstums und der Wachstumsbewegungen der Pflanzen. Jena 1935.
- FRANK, A. B. Die natuerliche wagerechte Richtung von Pflanzenteilen und ihre Abhaengigkeit vom Lichte und von der Gravitation. Leipzig 1870.
- GOEBEL, K. Das Rumphius-Phaenomen. *Biolog. Zentralbl.* 1916. 36.
- GOEBEL, K. Die Entfaltungsbewegungen der Pflanzen. Jena, 1924.
- HAERDTL, H. Licht und Schwerkraft in ihrer Wirkung auf die Stellung des Laubblattes *Beitr. Biol. d. Pfl.* 1927, 15.
- HARDER, R. Beobachtungen ueber die Temperatur der Assimilationsorgane sommergruener Pflanzen der algerischen Wueste. *Zeitschr. f. Bot.* 1930, 23, 703.
- JOST, L. e REISS, E. Zur Physiologie der Wuchsstoffe. II, III. *Zeitschr. f. Bot.* 1936, 30, 335 — 1937, 31, 65.
- KISSER, J. und ZEISEL, FR. Physiologische Untersuchungen ueber die unterbrochene Nutation. *Akad. Anzeiger. Akad. d. Wiss. Wien.* 1932, Nr. 19.
- KORNMANN, P. Die Aufhebung der Wuchsstoffwirkung durch lebende Pflanzenteile. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* 1935, 53, 523.
- LAIBACH, F. u. FISCHNICH, O. Die Wuchsstoffleitung in der Pflanze. *Planta*, 1936, 25, 648.
- NEMEÇ, B. Ueber die Folgen einer Symmetriestoeerung bei zusammengesetzten Blaettern. *Bull. Ac. de Boheme*, 1902, 7.
- NOLL, F. Ueber die Koerperform als Ursache von formativen und Orientierungsreizen. *Sitz. Ber. Niederrhein. Ges. f. Nat. u. Heilk. Bonn.* 1900.
- POHL, R. Die Abhaengigkeit des Wachstums der Avenakoleoptile und ihrer sogenannten Wuchsstoffproduktion vom Auxingehalt des Endosperms. *Planta*, 1936. 25, 720.
- PRINGSHEIM, E. Lageveraenderungen an Blaettern nach Symmetriestoeerungen. *Flora* 1931. N. F. Bd. 26.
- LAIBACH, F. Ueber den Einfluss des Lichtes auf das Reaktionsvermoegen der Pflanze gegenueber Wuchsstoff. *Jahrb. W. Bot.* 1936, 83, 324.

- RAYDT, G. Ueber die Bewegungen euphotometrischer Blätter. *Jahrb. wiss. Bot.* 1925. Bd. 64.
- SIERP, H. Die Internodientorsionen der Pflanzen mit dekussierter Blattstellung. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 1915, 55, 343.
- SNOW, R. Experiments on growth and inhibition. Part. III. *Proc. Roy. Soc. London.* B. 1932. 111. 86.
- STARK, P. Beiträge zur Kenntnis des Traumatotropismus. *Jahrb. wiss. Bot.* 1917. 57, 461.
- WIESNER, J. Die undulierende Nutation der Internodien. *Sitz. ber. Akad. Wiss. Wien, Abt. 1.* 1878, 77.
-

Sobre o papel do Potássio na Photosynthese aquatica e aerea

(Ueber eine Funktion des Kaliums bei der Photosynthese von Wasser- und Luftblättern)

por *Karl Arens*

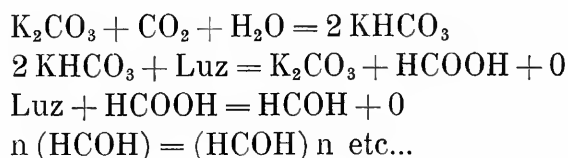
(Departamento de Botânica da Universidade de São Paulo)

com 8 figuras no texto

INTRODUÇÃO

E' sabido que o potássio tem um papel importantissimo, tanto no organismo animal como no vegetal. Entretanto, não foi possível, até hoje, indicar exactamente quaes as suas funcções no metabolismo da planta. Para poupar espaço, deixamos de entrar, aqui, em todas as minucias sobre a immensa literatura que trata do assumpto do ponto de vista theorico e experimental, porquanto *Schmalzfuss* (1936) publicou um apanhado minucioso sobre a questão.

Sempre se suppoz que o potássio, desempenhasse entre outras, uma funcção na photosynthese. Com razão nota *Schmalzfuss* que em todas as theorias estabelecidas sobre o problema reina grande confusão. *Mittelstaedt* (1898) acredita, por exemplo, que o potássio exerce a funcção de transmissor de energia, na condensação do formaldehydo para glucose, durante a photosynthese. Essa hypothese foi seguida e desenvolvida por *Stoklasa* e seus collaboradores (*Stoklasa*, 1908, 1912, 1916, 1929). Como as idéas de *Stoklasa* são de importancia para as nossas considerações futuras, damos a seguir a sua representação:



Stoklasa suppõe, portanto, que no interior da folha haja formação de K_2CO_3 , durante a photosynthese. O K_2CO_3 fixa o CO_2 do ar, transformando-se em $KHCO_3$. Este é reduzido dando acido formico, que se transforma em $HCOH$. Em seguida, ha uma polymerisação do $HCOH$ em assucar. Neste processo forma-se novamente K_2CO_3 , o qual, por sua vez, se transforma em $KHCO_3$ pela fixação de CO_2 . Desse modo o cyclo se repete constantemente.

Zwaardemaker (1919) attribue grande significação á radioactividade do potássio na photosynthese. Segundo *Jacob* (1928), o effeito electrico luminoso do potássio tem uma funcção de grande importan-

cia. Para reforçar esta ou aquella hypothese foram feitas innumeradas experiencias de adubação com potassio, por meio de um aparelho de grandes proporções. O principio de taes experiencias consiste em cultivar plantas em substratos naturaes ou artificiaes, variando-se gradativamente o conteúdo de potassio, desde a ausencia completa até o excesso. Mas, como faz notar *Schmalfuss*, a experiencia por meio de adubações é um methodo de pesquisa pouco proprio, para se poder tirar conclusões sobre processos physiologicos especiaes. Com esses methodos podem ser resolvidas questões de adubação, mas não questões de metabolismo, porquanto a ausencia completa no meio de cultura de um factor tão importante como o potassio, ou a sua presença em excesso influenciam o metabolismo geral da planta. O mesmo acontece quando ha falta ou excesso de outro qualquer factor como, por exemplo, o nitrogenio. Observamos, então, consequencias analogas ás das experiencias correspondentes com potassio. Portanto, de experiencias de adubação não é possivel tirar conclusões sobre a função do potassio na photosynthese.

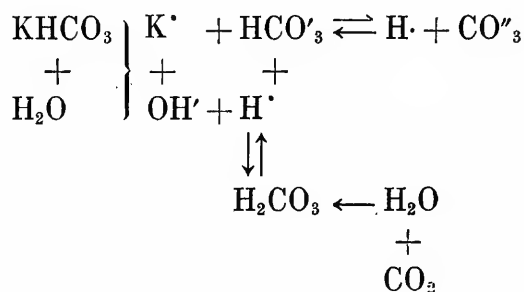
Tivemos occasião de constatar (*Arens*, 1933, 1936) uma função especial do potassio na photosynthese de plantas aquaticas, que tambem pode ser attribuida a plantas terrestres. As pesquisas posteriores desse problema foram muito facilitadas, empregando-se a variedade brasileira de *Potamogeton fluitans* que possui todos os typos de transição, desde folhas submersas até terrestres.

Transformações de uma solução de KHCO_3 durante a photosynthese de plantas aquaticas

Sabemos que as plantas terrestres, durante a photosynthese, absorvem CO_2 do ar e transformam o carbono em hydratos de carbono, eliminando O_2 . Mas, até agora, não sabemos sob que forma absorvem as plantas aquaticas o carbono, quando fazem a photosynthese numa solução de bicarbonato, o que geralmente se observa na natureza. Embóra as experiencias fundamentaes sobre a photosynthese das plantas tenham sido feitas com plantas aquaticas (como por exemplo por *Warburg* e outros), essas experiencias têm como base apenas uma hypothese não comprovada, hypothese essa formulada por *Nathansohn* (1907, 1910).

Segundo tal hypothese, as plantas aquaticas, em analogia com as terrestres, absorveriam somente CO_2 .

O que aconteceria se uma planta assimilasse numa solução de bicarbonato de potassio? Para podermos comprehender mais exactamente o problema, é preciso familiarisar-nos melhor com a composição de uma solução de bicarbonato de potassio. Em tal solução encontram-se os mais diversos componentes, que podemos ver no esquema seguinte:



O KHCO_3 se dissocia em K' e HCO'_3 e os ionios HCO'_3 se dissociam novamente em H' e CO''_3 . O KHCO_3 não só se dissocia, como também hydrolysa, por ser um sal de base forte com um acido fraco, como é o acido carbonico. Com os ionios da agua forma-se KOH e H_2CO_3 . Este ultimo se decompõe em H_2O e CO_2 . Como uma parte do acido é deshydratada e aparece na solução sob a forma de gaz, a solução reage alcalinamente. O CO_2 assim formado na solução tem uma certa pressão gazosa. Se a pressão de CO_2 do ar fôr menor, o CO_2 da solução passa para o ar. Caso contrario, dá-se o inverso.

A planta tem, portanto, a possibilidade de absorver carbono sob as seguintes formas: KHCO_3 — HCO'_3 — H_2CO_3 — K_2CO_3 — CO''_3 — CO_2 . Se absorve ionios, deve eliminar também ionios da mesma carga para não perturbar a neutralidade electrica da solução.

Portanto, segundo *Nathansohn*, como já dissemos, a planta aquatica, como a terrestre, deve absorver somente CO_2 . Mas, pelos methods de observação até agora usados, não foi possível fornecer uma prova para esta concepção (compare *Arens*, 1933). Poderemos comprehendê-la melhor a razão dessa impossibilidade, se considerarmos as transformações que sofre uma solução de bicarbonato de potassio, quando nella desaparece o CO_2 .

A fig. 1 representa algumas transformações de uma solução $\frac{1}{100}$ normal de KHCO_3 , quando se retira o CO_2 dessa solução de modo que se transforme numa solução de KOH $\frac{1}{100}$ normal. Durante esse fenomeno, a concentração dos ionios de potassio permanece sempre a mesma. Essas transformações se verificam, quando se conduz um gaz livre de CO_2 , atravez da solução de KHCO_3 ou, no caso theorico, quando uma planta aquatica assimila nessa solução, isto é, quando absorve CO_2 . A proporção das combinações de KHCO_3 com K_2CO_3 e de K_2CO_3 com KOH é expressa em porcentagem nas abscissas. Vemos, da esquerda para a direita, que pela perda de CO_2 os ionios de HCO'_3 diminuem cada vez mais, com augmento dos ionios de CO''_3 ; estes, por sua vez, são substituidos por ionios de OH' , devido a perda de CO_2 . Entretanto, nesse interim, também se observam outras transformações na solução. Em ordenadas está indicado o valor do carbono, em miligrammas por litro e o pH; c_{20} representa a conductibilidade electrolytica á temperatura de 20 graus. Podemos verificar que o valor

de pH aumenta rapidamente até atingir o valor correspondente da solução $\frac{1}{100}$ normal de KOH; do mesmo modo, aumenta a condutibilidade electrolytica, em consequencia do augmento dos ionios OH'. O conteúdo relativamente pequeno em CO₂, diminue muito mais rapidamente, quando a planta absorve somente CO₂, do que quando pode tambem usar outros componentes que contém carbono. Comparando as curvas do carbono total e do carbono sob a forma de CO₂, nota-se que a solução contém quantidades ainda consideraveis de carbono (total), tendo já descido a concentração do CO₂ quasi até zero.

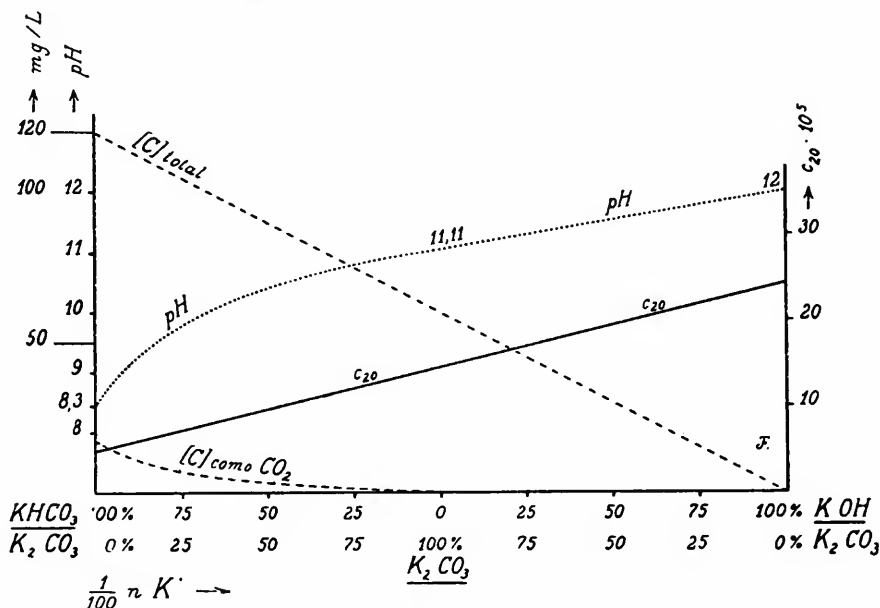


Fig. 1

Fig. 1 — As curvas representam algumas transformações que se operam numa solução de KHC0_3 a $\frac{1}{100} n$ da qual foi retirado o CO_2 .

As ordenadas representam as concentrações sob a forma de mg/L e de pH, assim como a capacidade de conductibilidade electrolytica sob a forma de c_{20} . As abscissas representam a passagem de KHC0_3 para $\text{K}_2\text{C0}_3$ e para KOH, sob a forma de soluções percentuaes dos saes correspondentes.

Die Kurven geben einige Veraenderungen wieder, die eine $\frac{1}{100} n$ KHC0_3 Loesung bei Entzug von CO_2 erfahrt. Auf den Ordinaten sind Konzentrationen als mg/L und als pH sowie die elektrolytische Leitfaehigkeit als c_{20} aufgetragen. Die Abzisse gibt den Uebergang von KHC0_3 in KOH als prozentige Loesung des betreffenden Salzes an.

Mas, se a planta absorve, por exemplo, ionios HCO_3' ou moleculas $\text{H}_2\text{C0}_3$ ou ionios CO_3'' ou todos os componentes em conjuncto, observam-se as mesmas transformações da solução, apenas com maior ou menor rapidez da photosynthese. Até agora foi impossivel, quer por meio de determinações analyticas do pH, quer pela conductibilidade electrolytica, ou pela diminuição da pressão de CO_2 ou pela produção de O_2 pela planta, determinar o que a planta retira da solução.

Experiencias com folhas physiologicamente polarizadas

Uma nova possibilidade de atacar o problema foi dada por uma descoberta do Autor, que encontrou uma polaridade physiologica bem marcada nas folhas de algumas plantas aquaticas (*Arens*, 1930, 1933, 1936). Essa polaridade physiologica se manifesta primeiramente pelo facto de que, numa soluçãõ de KHCO_3 , sob a influencia da luz, o pH augmenta somente na face superior da folha e nunca na face inferior.

Como acabamos de ver pelas curvas, o pH augmenta numa soluçãõ de KHCO_3 , quando della é retirado o CO_2 . Poderia-se, pois, supôr que só a face superior da folha absorve CO_2 .

Em novas experiencias, pudemos constatar quaes os phenomenos que, de facto, se produzem, durante a photosynthese. Usamos, para analyse quantitativa; 1.º) a micro-analyse de ionios de potassio; 2.º) a medida de pH; 3.º) a medida da conductibilidade electrolytica. Como os equilibrios physico-chimicos são fortemente alterados em taes soluções, por variações de temperatura, fizemos as medições num thermostato automatico, da precisãõ de $+$ ou $-\frac{1}{50}$ de grau Celsius. Em

frente ao thermostato foi collocada uma lampada de 500 a 1000 velas, para que as plantas de experiencia pudessem fazer photosynthese. A fig. 2 mostra uma das duas duplas camaras que serviram para a

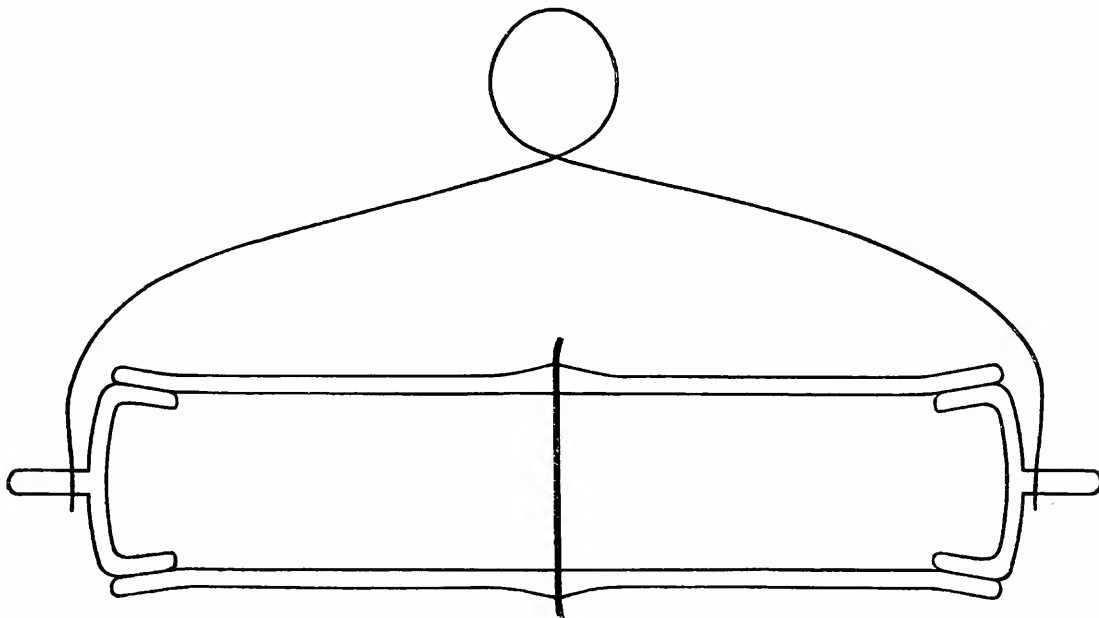


Fig. 2

Fig. 2 — Camara dupla com uma folha collocada no meio que tem o papel de membrana separadora.

Doppelkammer mit einem Blatt in der Mitte als trennende Membran.

experiencia. No meio, entre as duas camaras, foi collocada uma folha de uma planta aquatica, para servir de membrana separadora. A fig. 3 nos mostra uma dupla camara especialmente construida para as experiencias. Cada camara possui dois electrodos de platina e duas aberturas para introdução das soluções. A camara, munida para a experiencia com uma folha no centro, foi collocada no thermostato.

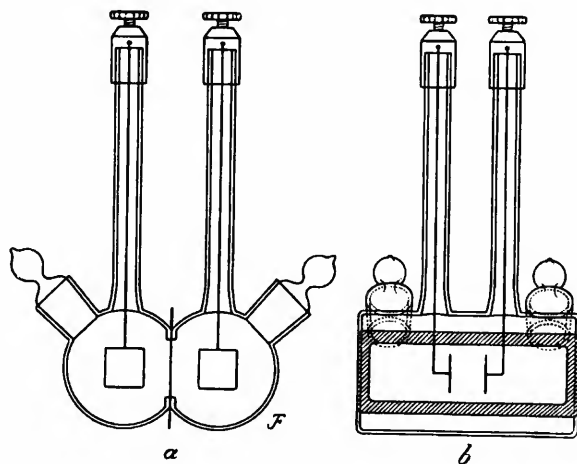


Fig. 3

Fig. 3 — *a* e *b* — Camara dupla com electrodos de platina que permite medir a capacidade de conductibilidade electrolytica durante a experiencia. *a*) Camaras duplas com uma folha no centro, corte transversal; *b*) Uma camara vista da parte interna.

Doppelkammer mit Platinelektroden, die gestattet waehrend des Versuchs die elektrolytische Leitfaehigkeit zu messen. *a*) Doppelkammern mit einem Blatt in der Mitte im Querschnitt; *b*) eine Kammer von der Innenseite.

Eschematisando, a fig. 4 registra, em abcissas, o tempo; em ordenadas, a concentração de potassio, o pH e o valor da conductibilidade electrica. O lado esquerdo mostra a solução da camara na face inferior da folha. Dos dois lados da folha é introduzida uma solução $\frac{1}{100}$ normal de bicarbonato de potassio. O traço preto, na ab-

cissa, indica obscuridade. Como vemos, a solução só se transforma desde o inicio de illuminação. Consideremos, primeiramente, as transformações da solução, na face interior da folha. Vemos que, desde o inicio da illuminação, a conductibilidade electrolytica diminue e assim tambem a curva de concentração de potassio. Ao contrario, o pH permanece mais ou menos constante. Na face superior, a solução tambem não se modifica no escuro; mas, logo depois do inicio da illuminação, sobre o pH, a concentração de potassio e a conductibilidade electrica. Como podemos explicar taes phenomenos? Na parte inferior desaparecem ionios de potassio e na parte superior a concentração dos ionios de potassio augmenta; a superficie inferior da folha deve, portanto, absorver potassio sob a influencia da luz e eliminar potassio pela face superior. Na parte inferior diminue a conductibilidade ele-

ctrica e a concentração de potássio, o que significa, que a solução se dilue. Se diluirmos, experimentalmente, uma solução de KHCO_3 , não haverá praticamente uma mudança de pH, sem levar em conta transformações mínimas que são inevitáveis, em consequência da saída de CO_2 . Uma solução de KHCO_3 se comporta como um tampão fraco. O resultado é que a parte inferior da folha absorve simultaneamente e uniformemente todos os componentes da solução de bicarbonato, isto é, a folha diminui a concentração na parte inferior.

Se a parte inferior da folha só absorvesse CO_2 , o valor do pH deveria subir, como vimos há pouco no esquema da fig. 1. Vemos, entretanto, que o valor do pH aumenta na parte superior da folha.

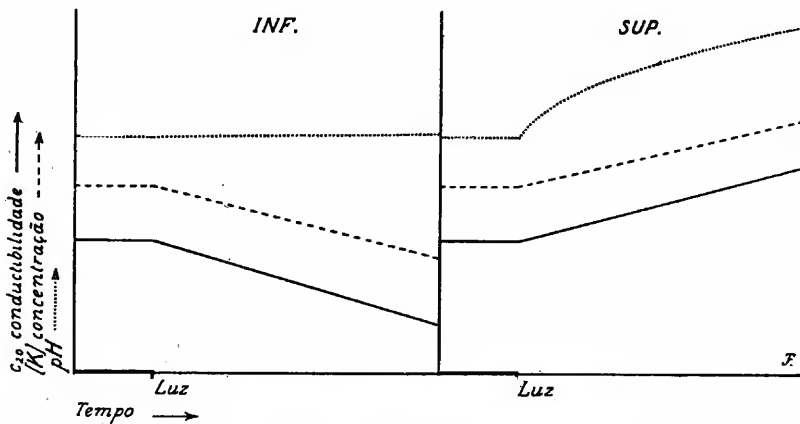


Fig. 4

Fig. 4 — A figura mostra uma experiência com a câmara dupla (fig. 3). À esquerda a transformação de uma solução de KHCO_3 na face inferior de uma folha e à direita na face superior. O traço preto na abcissa significa obscuridade.

Die Figur zeigt einen Versuch mit der Doppelkammer (Fig-3) und zwar links die Veränderung einer KHCO_3 Lösung an der Unterseite eines Blattes und rechts an der Oberseite. Der dunkle Strich auf der Abzisse bedeutet Dunkelheit.

Logo, poderíamos supor que só a parte superior da folha absorve CO_2 , visto que no primeiro esquema verificamos que no caso de absorção de CO_2 o pH e a condutibilidade electrolytica augmentam numa solução de bicarbonato. Mas, nesse caso, a concentração de potássio permaneceria inalterada. Vemos, porém, que na parte superior da folha também augmenta a concentração do potássio. Pelas determinações analyticas pode-se constatar que a concentração de potássio augmenta na parte superior, na mesma proporção que diminui na parte inferior. Devemos, pois, concluir que o potássio, na parte superior, é eliminado em forma alcalina, o que determina o augmento do valor do pH e da condutibilidade electrolytica.

O methodo mais simples para determinar o que é eliminado na parte superior da folha consiste em collocar agua distillada na parte superior da câmara. As curvas do lado direito da fig. 5 representam as transformações da agua distillada, observadas na face superior da

folha, durante a experiencia. O pH, a concentração do potassio, e a conductibilidade electrolytica augmentam muito, como vemos pela curva do lado da agua distillada. As curvas do lado esquerdo mostram as mesmas transformações da solução de bicarbonato, em contacto com a face inferior da folha, como na fig. 4. De accordo com os valores obtidos para a concentração de potassio, do pH e para a conductibilidade electrolytica, baseados em valores physicos e chimicos conhecidos, podemos calcular que na parte superior é eliminado K_2CO_3 . Pudemos, pois, determinar que quando a folha faz photosynthese com auxilio da energia da luz, absorve, pela parte inferior, todos os componentes da solução de bicarbonato de potassio, consumindo no seu

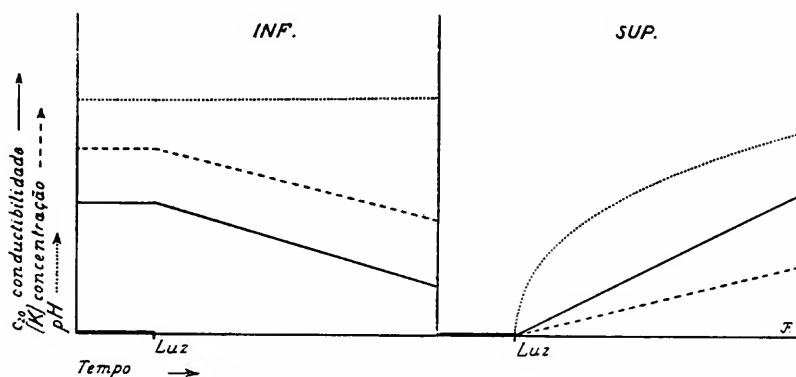


Fig. 5

Fig. 5 — Experiencia com a camara dupla. Na face inferior da folha ha uma solução de $KHCO_3$, na face superior ha agua distillada.

Versuch mit der Doppelkammer. An der Blattunterseite befindet sich eine $KHCO_3$ Loesung, an der Oberseite Aqua distillata.

interior metade do conteúdo em carbono e eliminando, pela parte superior K_2CO_3 , como producto de decomposição. É facilmente comprehensivel que, nessas condições, a folha deva absorver permanentemente, na parte inferior, a mesma quantidade de potassio que elimina na parte superior. Sendo estrictamente polarizados o transporte, a absorpção e a eliminação, a folha exuda somente na superficie superior e absorve somente na superficie inferior. Temos, deste modo, uma passagem e simultaneamente uma transformação de bicarbonato em carbonato de potassio.

Quando uma folha de uma planta aquatica, physiologicamente polarizada, se comporta da maneira caracteristica acima demonstrada, absorvendo pela sua face inferior e eliminando pela superior, deve-se fazer, continuamente, atravez da folha, um transporte numa determinada direcção. Portanto, no interior da folha faz-se o transporte continuo de uma certa quantidade de $KHCO_3$ que, depois de transformado em K_2CO_3 , é novamente eliminado. Se collocarmos essa folha (que já assimilou numa solução de $KHCO_3$ e que portanto possui uma reserva de $KHCO_3$) entre as duas camaras de experiencia, tendo o cuidado de enche-las com agua distillada sem CO_2 , então a folha elimi-

ará, pela sua face superior, sob a influencia da luz, uma certa quantidade de K_2CO_3 , sem poder substituir nessa solução o $KHCO_3$, pela face inferior. O K_2CO_3 eliminado deve ser proveniente da reserva de $KHCO_3$, que a folha possui no seu interior. Aliás, a eliminação cessa depois de um certo tempo. Isto também se comprehende facilmente, pois no interior da folha existe apenas uma quantidade limitada de $KHCO_3$. A fig. 5, do lado direito, também mostra as transformações da água distillada, em contacto com a face superior da folha. As curvas mostram que a concentração de potássio, a conductibilidade electrolytica e o pH augmentam fortemente.

Se em vez de mergulharmos uma folha, n'água distillada, a collocarmos em água saturada de CO_2 sob pressão atmospherica, as cousas se modificam. Então observaremos um pequeno augmento do pH, o que se explica pela absorpção de CO_2 . Neste caso, o CO_2 da água penetra na folha e ahi, absorvendo água, combina-se com o K_2CO_3 já formado, dando $KHCO_3$ ($CO_2 + H_2O + K_2CO_3 = 2KHCO_3$). Esse $KHCO_3$ pode transformar-se, novamente, pela photosynthese, em K_2CO_3 ($12KHCO_3 = 6K_2CO_3 + C_6H_{12}O_6 + 6O_2$), de modo que todo o processo pode se renovar no interior da folha. O K_2CO_3 proveniente das reservas internas de $KHCO_3$ não precisa ser eliminado em presença de CO_2 , porque pode transformar-se novamente em $KHCO_3$. Parece que quantidades maiores de K_2CO_3 , devido á reacção fortemente alcalina que determinam, são prejudiciaes á cellula, de modo que esta, na falta de possibilidades de neutralização pelo CO_2 , elimina K_2CO_3 . Mas, pela simples presença de CO_2 na solução, dá-se no interior da folha, um cyclo de $KHCO_3$; este, sob a influencia da photosynthese, se transforma em K_2CO_3 , sendo novamente transformado em $KHCO_3$, pela absorpção do CO_2 do meio.

Transição da photosynthese aquatica para a aerea

Quanto ás plantas terrestres, é de suppôr por varias razões que o mesmo phenomeno não só é possível, mas, também, é provavel. Até hoje permaneceu completamente desconhecido o processo de combinação do CO_2 (a formação do primeiro composto do CO_2) nas plantas terrestres (Stoll, 1936). Mas, como acima demonstramos, foi possível constatar nas plantas aquaticas que o CO_2 pode ser combinado sob a forma de $KHCO_3$ e assim pode ser accumulado em reservas. Seja dito de passagem que, por razões physicas e chimico-colloidaes, devemos attribuir aos bicarbonatos dos alcalis terrosos um papel analogo ao do bicarbonado de potássio.

Mencionamos acima a hypothese de *Stoklasa*, formulada para as plantas terrestres e segundo a qual o $KHCO_3$ se transforma em K_2CO_3 , sob a acção da energia solar, sendo que o K_2CO_3 formado se combina com o CO_2 atmospherico e H_2O e se transforma novamente em $KHCO_3$. Vemos, pois, comparando o esquema da pag. 26, que *Stoklasa* postulou

para as plantas terrestres um processo cuja existencia pudemos demonstrar nas plantas aquaticas. Naturalmente, as experiencias só dão uma representação do mecanismo da fixação do acido carbonico e não procuram saber se o acido formico é ou não o primeiro producto que se forma.

Não se pode provar, até hoje, que os mesmos phenomenos se produzem nas plantas terrestres, como o quer a hypothese de *Stoklasa*, porque as folhas de plantas terrestres, devido á sua organização, não podem ser mergulhadas na agua durante as experiencias. Além disso, o comportamento das plantas aquaticas não era conhecido. Mas, tendo-se esclarecido essa questão, as plantas aquaticas nos prestam grande auxilio, porque formam folhas aquaticas e aereas e até mesmo numa só planta. A fig. 6 *a* mostra um corte de uma folha submersa e a fig.

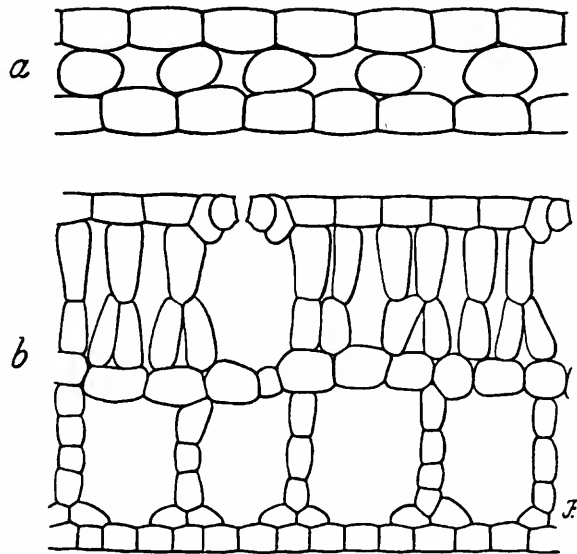


Fig. 6

Fig. 6 — *a* e *b* — Corte transversal através de uma folha submersa (*a*) e de uma folha fluctuante (*b*) de uma especie brasileira de *Potamogeton*.

Querschnitt eines submersen Blattes (*a*) und eines Schwimmblattes (*b*) einer brasilianischen *Potamogeton*-Art.

6 *b* o de uma folha fluctuante da variedade brasileira de *Potamogeton*. As folhas submersas dessa variedade são physiologicamente polarizadas, ao passo que as folhas sobrenadantes estão adaptadas para a absorção do CO₂ atmosferico. Um typo de folha está adaptado para a photosynthese dentro da agua, o outro para a photosynthese no ar. Experimentando com essa variedade de *Potamogeton*, constatamos que possui todos os estados intermediarios, desde folhas submersas até fluctuantes e até mesmo terrestres. Os processos da assimilação aerea e aquatica a que nos referimos podem dar-se numa mesma folha, tendo uma das partes a estrutura do typo submerso e a outra a da folha fluctuante normal. Taes estados de transição

não são determinados nem anatomica nem physiologicamente; observa-se, portanto, desde a photosynthese typica das plantas aquaticas até a photosynthese typica das plantas terrestres. Na figura seguinte será demonstrado como esses estados de transição, que consistem num cyclo externo do potassio pela absorpção unilateral de KHCO_3 e eliminação de K_2CO_3 , conduzem a um cyclo interno.

Vemos na figura 7 uma planta do typo mencionado. As folhas submersas se comportam de accordo com o mecanismo de polarização physiologica. Absorvem pela face inferior KHCO_3 e eliminam K_2CO_3 pela face superior. Como vimos acima, as folhas physiologicamente polarizadas, em agua distillada que só contém CO_2 podem trans-

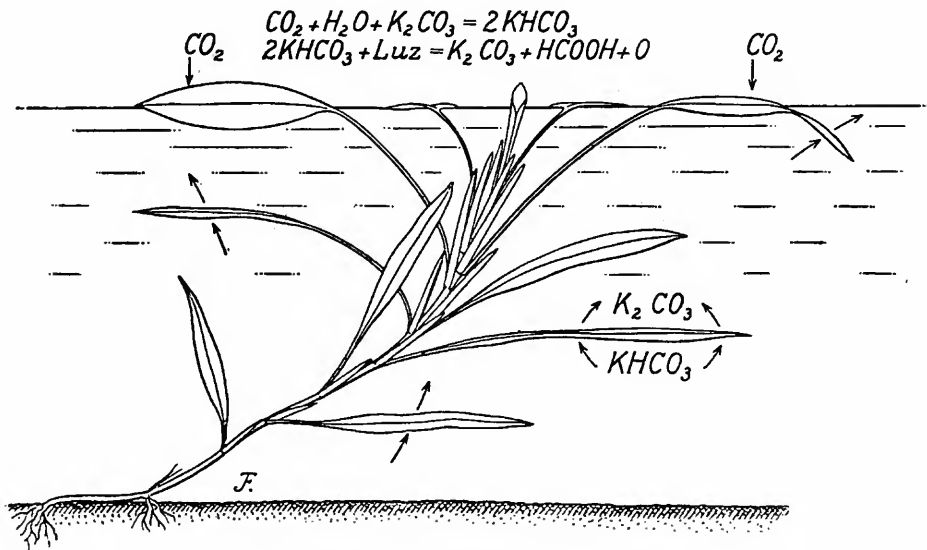


Fig. 7

Fig. 7 — Representação de um Potamogeton brasileiro com folhas submersas e flutuantes. Eschema do comportamento das folhas submersas e flutuantes. As equações representam a primeira parte do processo da photosynthese, a unica cuja importancia nos interessa. (segundo Stoklasa).

Darstellung eines brasilianischen Potamogeton mit submersen und schwimmenden Blaettern. Schematische Wiedergabe des Verhaltens der submersen und der schwimmenden Blaetter. Die Gleichungen geben nur den in diesem Zusammenhang wichtigen ersten Teil des Verlaufs der Photosynthese nach Stoklasa an.

formar o K_2CO_3 , proveniente da reserva interna de KHCO_3 , novamente em KHCO_3 , pela absorpção de CO_2 , sem eliminar K_2CO_3 . Temos, portanto, um cyclo interno. As folhas sobrenadantes, que absorvem o CO_2 atmosferico, possuem o mesmo cyclo interno. Em determinadas condições essas folhas sobrenadantes são capazes, quando collocadas na camara de experiencia, de absorver KHCO_3 por sua face inferior e de eliminar K_2CO_3 pela sua face superior. Podem igualmente accumular reservas de KHCO_3 , durante a assimilação, para formar K_2CO_3 . Somos, pois, levados a afirmar que as folhas sobrenadantes se com-

portam como as folhas submersas que, mergulhadas na água, não dispõem de bicarbonato, mas, somente de CO_2 .

Como a folha fluctuante do lado direito da fig. 7 mostra, podemos collocar uma «folha de transição» de tal modo que uma parte fique submersa na água e outra fluctue. Em seguida, podemos verificar que a parte submersa absorve KHCO_3 e elimina K_2CO_3 , tem portanto um cyclo exterior. A parte fluctuante da mesma folha absorve, através dos estomatos, o CO_2 do ar. Também se observa na natureza o caso de folhas cuja parte basal assimila como o typo de folhas submersas e cuja parte apical absorve o CO_2 do ar. Experimentalmente, pode-se mostrar que não são apenas duas partes de uma mesma folha que podem assimilar de dois modos diferentes. Pode-se conseguir que a superficie toda da folha apresente esses dois typos de assimilação. Se dividirmos, por exemplo, uma folha de Potamogeton em 10 ou mais zonas (Fig. 8), de modo que as partes submersas alternem

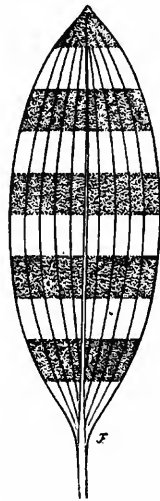


Fig. 8

Fig. 8 — Folha de transição de Potamogeton, capaz de assimilar, nas zonas cobertas de água, (pontuadas) conforme o typo submerso e, nas partes em contacto com o ar (em branco), de absorver CO_2 .

Uebergangsblatt von Potamogeton, das imstande ist an den mit Wasser bedeckten Zonen (punktiert) nach dem submersen Typus zu assimilieren und an den im Kontakt mit der Luft befindlichen Teilen (weiss) CO_2 aufzunehmen.

com as fluctuantes, então aquellas apresentarão o cyclo exterior, ao passo que nestas, devemos suppôr o cyclo interior. Se invertermos a ordem das partes, submergindo as fluctuantes e fazendo fluctuar as submersas, observaremos o comportamento correspondente. *Todas as partes das folhas, conforme suas condições externas, podem absorver KHCO_3 e eliminar K_2CO_3 ou absorver o CO_2 do ar.* O cyclo externo, isto é, a exsudação de K_2CO_3 na face superior pode ser demonstrado com facilidade pelo augmento do pH e pela formação de precipitados de manganéz.

E' difficil suppôr que numa mesma folha se desenrolem dois processos photosyntheticos fundamentalmente diferentes. O processo da photosynthese, nas diversas partes da folha, deve ser em principio comparavel e na parte fluctuante devemos postular um cyclo interno analogo de K_2CO_3 para $KHCO_3$ e vice-versa. Este cyclo interno não pode ser diferente do que ficou demonstrado na pag. 30 para a folha submersa que é exposta á agua rica em CO_2 . Não pode haver differença quer a superficie folhear confine com a atmospherica ou com agua rica em CO_2 .

Entretanto, poderiamos objectar que o que é valido para folhas fluctuantes, embóra adaptadas á assimilação do CO_2 do ar, não deve necessariamente ser valido tambem para todas as folhas aereas. Pois bem, o Potamogeton mencionado representa não somente todos os typos de transição de folhas submersas até fluctuantes, como tambem é capaz de formar folhas aereas perfeitas, caso se desenvolva num solo humido, em vez de crescer na agua.

Com isso, tornou-se evidente a hypothese de *Stoklasa* para as folhas de Potamogeton. Partindo do Potamogeton, interessantissimo typo de transição do ponto de vista physiologico, é facil attribuir as idéas esboçadas ás demais folhas aereas. A differença entre a photosynthese da folha aerea e a da folha submersa consiste apenas na existencia de um cyclo exterior em relação a um interior.

De accordo com o que ficou dito, existe, durante a photosynthese das plantas terrestres, um cyclo interno do potassio, de $KHCO_3$ para K_2CO_3 , e inversamente, ha uma volta para o $KHCO_3$, pela absorpção do CO_2 atmospherico. Assim se esclarece uma função do potassio no metabolismo da planta.

Outras funções problematicas do potassio ficam ligadas ao nosso problema:

Pelas constatações que fizemos em nossas experiencias, o potassio seria secundado pelo calcio nesse processo, porquanto o calcio pode exercer a função correspondente (*Arens*, 1936). Além do papel que tem na fixação do acido carbonico, o potassio certamente tem ainda papel preponderante em varios outros processos physiologicos. Suppõe-se, por exemplo, que influencie o estado colloidal e exerça effeitos indirectos sobre o processo da photosynthese.

Nas plantas aquaticas, durante a photosynthese, ha um transporte activo de substancias que, certamente, se dá no protoplasma. Tambem se pode suppôr que tal processo exista nas plantas terrestres. Para o transporte de substancias atravez do protoplasma, o estado colloidal das mesmas é um factor importante. O potassio é capaz de provocar a liquefacção dos colloides. Essa propriedade já foi demonstrada quanto aos colloides do plasma por numerosas experiencias. Para o transporte de substancias durante a photosynthese, um plasma hidratado seria um meio muito mais apropriado do que se fosse solidificado sob a influencia de outros ionios.

Todas estas possibilidades devem ser tomadas em consideração para o julgamento do papel do potassio na photosynthese.

ZUSAMMENFASSUNG.

Die vorliegenden Ausfuehrungen befassen sich mit dem Nachweis einer Funktion des Kaliums bei der Photosynthese von Wasserpflanzen. Die dabei gewonnenen Vorstellungen werden auf die Landpflanzen uebertragen.

Der erste Teil der Arbeit legt die verwickelten Gleichgewichtsverhaeltnisse in KHCO_3 - Loesungen und deren Veraenderung bei Verlust von CO_2 dar (Fig. 1). Die KHCO_3 - Loesung geht in eine solche von K_2CO_3 ueber und diese verwandelt sich weiter in eine KOH — Lauge von entsprechender Konzentration. Bei diesem Vorgang aendert sich der ph-Wert und die elektrolytische Leitfaehigkeit. Der Gehalt an Kohlenstoff nimmt ebenfalls ab und zwar die Konzentration von freiem CO_2 sehr viel schneller als die Gesamtmenge an $\text{C}(\text{CO}_2 + \text{HCO}'_3 + \text{H}_2\text{CO}_3 + \text{CO}''_3)$. Nun nimmt die Forschung bisher an, dass die Wasserpflanzen nur CO_2 aufnehmen koennen nach der Hypothese von *Nathansohn* (1907-1910).

Der Autor konnte jedoch nachweisen, dass andere Vorgaenge bei der Photosynthese physiologisch polarisierter Blaetter sich abspielen. Wenn man z.B. die physiologisch polarisierten Blaetter von *Potamogeton* als trennende Membran zwischen Glaskammern spannt (Fig. 2 und 3) und das Blatt beiderseits mit einer KHCO_3 - Loesung in Beruehrung bringt, dann laesst sich quantitativ nachweisen, dass an der Unterseite des Blattes die Loesung verduennt wird, wobei der ph-Wert in weiten Grenzen konstant bleibt, waehrend an der Oberseite der ph-Wert steigt und die Konzentration der Loesung zunimmt. Dies kommt dadurch zustande, dass die Unterseite des Blattes alle Komponenten einer KHCO_3 - Loesung nach Massgabe ihrer Konzentration aufnimmt d. h. die Loesung verduennt, wobei der ph-Wert sich kaum aendert. Auf der Oberseite wird K_2CO_3 ausgeschieden, was eine Erhoehung des ph-Wertes und der Konzentration der Loesung bedingt. Die Aufnahme findet immer nur an der Unterseite und die Ausscheidung immer nur an der Oberseite statt. Die Fig. 4 zeigt schematisiert das Ergebnis der Versuche, wenn in die Assimilationskammern beiderseitig eine KHCO_3 - Loesung eingefuellt wird und Fig. 5 einen Versuch, wenn nur die Blattunterseite mit einer KHCO_3 - Loesung und die Oberseite mit Aqua dest. in Kontakt steht.

Bei der Photosynthese findet also staendig ein Massentransport durch das Blatt in einer physiologisch festgelegten Richtung statt. Das

bedingt, dass sich immer eine gewisse Menge KHCO_3 bzw. K_2CO_3 im Inneren des Blattes befindet. Es laesst sich nun auch nachweisen, dass die Blattzellen einen Vorrat von KHCO_3 speichern koennen. Die Blaetter sind imstande, ohne aeussere KHCO_3 - Zufuhr aus diesem Vorrat zu assimilieren, wobei sie oberseits K_2CO_3 ausscheiden, wenn sie nicht in der Lage sind, das im Innern der Zelle entstandene K_2CO_3 durch Zufuhr von CO_2 aus dem umgebenden Medium in KHCO_3 zurueckzuverwandeln. Von diesem Verhalten aus kann man unschwer den Vorgang der Photosynthese ableiten, wie ihn die Hypothese von *Stoklasa* (1908- u. s. w.) auch fuer terrestrische Blaetter fordert. Nach dieser Hypothese wird im Innern des Blattes KHCO_3 zu K_2CO_3 abgebaut und durch Aufnahme von CO_2 aus der Luft wieder zu KHCO_3 regeneriert. Nach dieser Auffassung ist der Unterschied in der Photosynthese der submersen und der terrestrischen Blaetter nur ein unwesentlicher. Die submersen Blaetter koennen im waessrigen Medium KHCO_3 aufnehmen und K_2CO_3 ausscheiden, weil es das waessrige Medium erlaubt; sie besitzen also gewissermassen einen aeusseren Kreislauf von KHCO_3 zu K_2CO_3 . Die Luftblaetter koennen K_2CO_3 nicht ausscheiden, weshalb sie innerhalb des Blattes K_2CO_3 durch CO_2 - Aufnahme wieder in KHCO_3 zurueckverwandeln. Der Kreislauf ist also ein innerer, wie er auch unter besonderen Umstaenden beim submersen Blatt eintreten kann.

Es gibt nun Pflanzen, die alle Uebergaenge von submersen zu terrestrischen Blaettern bilden. Der Autor fand eine brasilianische Potamogeton-Art (wahrscheinlich eine Varietaet von *P. fluitans*), die nicht nur submerse und schwimmende Blaetter besitzt sondern auch Uebergaenge zwischen diesen. Ausserdem entstehen bei Wachstum auf feuchtem Boden vollkommene Luftblaetter. Die Figur 6 a zeigt den Querschnitt eines submersen und 6 b eines schwimmenden Blattes. Der eine Typus ist physiologisch polarisiert und hat bei der Assimilation den aeusseren Kreislauf d. h. KHCO_3 - Aufnahme und K_2CO_3 - Ausscheidung, der andere aber ist fuer die Assimilation der Luftkohlen-saeure gebaut. Man findet haeufig etwas duennere Schwimmblaetter, die aber auch den Bau aufweisen, wie Fig. 6 b zeigt. Diese koennen, wenn sie untergetaucht werden, wie der submerse Typus funktionieren d. h. sie nehmen obwohl sie an die CO_2 -Aufnahme aus der Luft angepasst sind, unterseits KHCO_3 auf und scheiden oberseits K_2CO_3 aus. Knickt man ein solches Blatt, wie die Fig. 7 (rechts) zeigt, so ab, dass ein Teil schwimmt, der andere untertaucht, dann nimmt der schwimmende Teil CO_2 aus der Luft auf, waehrend der submerse KHCO_3 absorbiert und K_2CO_3 abscheidet. Man kann ein solches Experiment noch weiter komplizieren, indem man, wie Fig. 8 zeigt, ein Blatt zonenweise benetzt. In diesem Fall verhalten sich die beiderseits von einer KHCO_3 - Loesung benetzten Zonen wie der Typus des submersen Blattes, waehrend die Zwischenzonen vermittels der Stomata CO_2 aufnehmen. Wechselt man die Zonen um, sodass die vorher benetzten Zonen nun oberseits mit der Luft in Kontakt sind, so er-

gibt sich das gleiche Verhalten. Also das gleiche Blattstueck kann, je nach den aeusseren Bedingungen, entweder nur CO_2 aus der Luft aufnehmen oder unterseits alle Komponenten einer Bikarbonatloesung absorbieren und dann gleichzeitig K_2CO_3 ausscheiden. Man kann nun kaum annehmen, dass die Vorgaenge der Photosynthese im Innern des Blattes verschieden sind, wenn auch der Massenaustausch des Blattes dem Medium gegenueber mit der Natur des Mediums wechselt. Es handelt sich sicher in beiden Faellen um denselben Vorgang naemlich um eine Umwandlung von KHCO_3 zu K_2CO_3 wobei das waessrige Medium einen aeusseren Kreislauf mit Aufnahme und Ausscheidung ermöglicht, waehrend an der Luft der innere Kreislauf stattfindet, wie ihn die Hypothese von *Stoklasa* fordert.

Nach der wohlbegruendeten Anschauung des Autors wirkt das Kalium mit dem Kalzium bei der Kohlensaurebindung und-speicherung zusammen, so zwar, dass je nach der Eigenart der Pflanze das Kalium oder das Kalzium mengenmaessig in den Vordergrund tritt. Beide Metalle sind Antagonisten in Ihrer Wirkung auf die Hydratation der Plasmakolloide und gewaehren zusammen einen Zustand der «Eukolloidalitaet». Dieser Zustand der geeigneten Hydratation des Protoplasmas, besonders durch das Kalium bedingt, duerft vor allem auch deshalb sehr wichtig sein, weil waehrend der Photosynthese nicht nur bei den submersen Wasserpflanzen sondern wohl auch bei den terrestrischen aktive Stofftransporte innerhalb des Protoplasmas vorkommen, fuer den der Quellungs Zustand des letzteren von massgeblicher Bedeutung sein muss.

BIBLIOGRAPHIA

- ARENS, K. — *Planta*, 10, 1930.
 ARENS, K. — *Planta*, 20, 1933.
 ARENS, K. — *Jahrb. f. wissensch. Botanik*, 83, 1936.
 JACOB, A. — *Zeitschr. angew. Chemie*, 41, 1928.
 MITTELSTAEDT, O. — *Chem. Centralbl.*, 67, 1896.
 NATHANSOHN, A. — *Verhandl. saechsische Ges. Wiss. Leipzig*, 1907.
 NATHANSOHN, A. — *Der Stoffwechsel der Pflanzen*, Leipzig, 1910.
 SCHMALFUSS, K. — *Das Kalium*, Freising-Muenchen, 1936.
 STOKLASA, J. — *Zeitschr. landw. Versuchsw. Oesterreichs*, 11, 1908.
 STOKLASA, J. — *Zeitschr. landw. Versuchsw. Oesterreichs*, 15, 1912.
 STOKLASA, J. — *Ernaehrung der Pflanze*, 25, 1929.
 STOKLASA, J. — und MATOUSEK, A. — *Beitraege zur Kenntnis der Ernaehrung der Zuckerruebe*, Jena, 1916.
 STOKLASA, J., SEBOR, J. und ZDOBNCKY, W. — *Biochem. Zeitschr.*, 41, 1912.
 STOLL, A. — *Naturwissenschaften*, 1936.
 ZWAARDEMAKER, H. — *Pfluegers. Arch. ges. Physiologie*, 173, 1919.

O processo de infecção da *Bremia Lactucae* (Über den Infektionsvorgang bei *Bremia Lactucae*)

por *Karl Arens*

(Departamento de Botânica da Universidade de São Paulo)

com 9 figuras no texto

INTRODUÇÃO

Bremia Lactucae appareceu, em 1936, como parasita da *Lactuca sativa*, no Jardim do Departamento de Botânica da Faculdade de Philo-
sophia, Sciencias e Letras da Universidade de São Paulo.

O estudo desse organismo impõe-se por razões praticas e, como veremos, offerece pontos de vista de grande alcance theorico.

Infelizmente, não se pode combater esse fungo, como os demais Oomycetos, com caldo bordalez, porque desse modo envenenariamos as folhas de alface destinadas á alimentação do homem. Seria, pois, indispensavel que se pudesse empregar para o combate desse fungo um outro antidoto inoffensivo. Para encontrar tal antidoto é necessario, primeiramente, que se conheça exactamente a biologia do parasita; que se estude, principalmente, o processo de infecção, isto é, as modalidades e as causas da penetração dos tubos germinativos nas folhas da planta hospedeira. Mesmo do ponto de vista puramente scientifico, é interessante estudar mais de perto as condições de infecção dos fungos parasitas; esclarecer, por exemplo, o problema da immu-
nidade ou da differenciação physiologica do parasita e do hospedeiro.

Como em todos os parasitas Oomycetos dos generos *Plasmopara*, *Peronospora*, *Phytophthora* e outros, é imprescindivel a existencia de agua para a infecção, porquanto os conidios desses cogumelos só germinam na agua. Na natureza é, pois, necessario que haja, sobre as folhas, gottas de chuva ou de orvalho. Em muitos Oomycetos o processo de germinação pode se dar de duas maneiras:

1.º Os conidios formam um tubo germinativo, o que se dá com todas as especies do genero *Peronospora*;

2.º os conidios formam, no seu interior, varios zoosporos que saem para a agua e ahi têm movimentos livres. Esses zoosporos perdem, finalmente, a motilidade, formando, por sua vez, um tubo germinativo. A segunda modalidade segue, via de regra, o genero *Plasmopara*.

Bremia é interessante justamente porque possui os dois typos de germinação, cujas particularidades physiologicas podem, assim, ser facilmente comparadas. Se a infecção se dá ou não, se o tubo germinativo penetra ou não, depende, como supomos, de estimulos ou irritações

especies, que a superficie da planta hospedeira exerce, quer sobre o tubo germinativo, quer sobre o zoosporo. Infelizmente, pouco sabemos sobre as irritações que fazem com que o tubo germinativo penetre no tecido do hospedeiro e escolha, mesmo, regiões especificas para infecção. Conhecemos fungos que só penetram na epiderme da planta por aberturas naturais ou artificias, outros atravessam o tecido intacto. Entre estes ultimos, que produzem a infecção atravez da epiderme, alguns penetram em qualquer ponto e outros entram quasi que exclusivamente só pelos anticlinios e não pelos periclinios das cellulas epidermicas. Pelos estomatos penetram, por exemplo, os zoosporos de *Cystopus* (*de Bary*, 1863) e *Plasmopara viticola* (*Arens*, 1929), assim como os tubos germinativos dos Uredosporos das Uredineas (*de Bary*, 1863; *Ruttle* e *Fraser*, 1927 e outros). Os seguintes fungos preferem penetrar pelos anticlinios: *Phytophthora omnivora* (*Hartig*, 1879), *Tubercinia trientalis* (*Woronin*, 1882), *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Macrosporium* (*Young*, 1926), *Fusicladium* (*Aderhold*, 1900), *Protomyces macrosporus*, *Botrytis parasitica* (*Klebahn*, 1904). Atravez de feridas, causadas frequentemente por picadas de insectos, penetram *Phytophthora infestans* e *Rhizopus nigricans* (*Harter* e *Weimer*, 1923). Mas, muitos cogumelos que podem provocar infecção atravez de feridas, tambem penetram em qualquer outro ponto da epiderme ou pelos estomatos e, aliás, não são parasitas strictos.

Quaes as causas que determinam a penetração de um parasita pelos estomatos, de outro pelos anticlinios e de outro ainda por pontos indifferentes da epiderme? Sabemos, pelas observações de *Miyoschi* (1894), que os tubos germinativos de cogumelos parasitas reagem chimotropicamente e o Autor mostrou (1929) que os zoosporos de *Plasmopara viticola* respondem a irritações chimotacticas. Muitos phenomenos da infecção, por exemplo, a formação de appressorios são attribuidos á irritações pelo contacto. Mas, não se pode provar que tambem este caso não seja baseado em irritações chimicas. Provavelmente, os processos primarios da infecção de fungos parasitas são dependentes de reacções chimicas especificas que provocam, nos tubos germinativos sem movimentos livres, reacções chimotropicas que apparecem nos zoosporos de movimentos livres, sob a forma de chimotaxis.

A maneira da infecção de *Bremia*

a) O COMPORTAMENTO DOS TUBOS GERMINATIVOS

Quanto á especificidade das irritações será necessario saber se *Bremia* pode infectar somente *Lactuca sativa*, ou outras especies do mesmo genero ou outros generos. Sabemos, desde *de Bary* (1863) que, por exemplo, os tubos germinativos dos Uredosporos das Uredineas podem penetrar nos estomatos de qualquer planta, ao passo que o desenvolvimento ulterior se dá somente em hospedeiros especificos. Da mesma maneira, mostrou o Autor que os zoosporos de *Plasmopara*

viticola podem penetrar em quasi todas as plantas, nas mais diversas familias (1929), ao passo que o parasita só pode desenvolver-se em *Vitis vinifera*. *Schweizer* (1919) verificou, por meio de infecções artificiaes, que a especie *Bremia Lactucae* se subdivide numa serie de sub-especies. Assim, a *Bremia* que cresce sobre *Lactuca* não pode infectar as variedades de *Cirsium* da mesma familia e vice-versa, a *Bremia* que vive sobre *Cirsium* não pode infectar *Lactuca*. Mas, talvez fosse possivel que, apesar da alta especialização do parasita, as primeiras phases da infecção pudessem dar-se mesmo em plantas immunes, como acontece com *Plasmopara* e com os *Uredosporos*.

Para examinar a questão, fizemos algumas experiencias de infecção em diversas plantas nas quaes *Bremia* normalmente não cresce. Os resultados estão expostos na Tab. 1. A infecção foi feita com uma emulsão de conidios em agua bidistillada.

Tabella 1

	Resultado da infecção
<i>Lactuca sativa</i>	+
<i>Senecio cruentus</i>	+
<i>Dahlia variabilis</i>	—
<i>Helianthus cucumifolius</i>	—
<i>Calendula vulgaris</i>	—
<i>Begonia spec.</i>	—
<i>Tropaeolum majus</i>	—
<i>Zantedeschia aethiopica</i>	—
<i>Pteris aquilina</i>	—

Como nos mostra a Tab. 1, os tubos germinativos só penetram nas folhas de *Lactuca sativa* e *Senecio cruentus*. Mas, como pudemos observar, os conidios e os tubos germinativos germinaram sobre as folhas das outras plantas, sem, entretanto, terem penetrado. Em outras experiencias de infecção verificamos que a sub-especie de *Bremia* que parasita em *Lactuca*, não é capaz de continuar a crescer nas folhas de *Senecio*, embóra a principio o tubo germinativo possa penetrar exactamente como na *Lactuca*. Trata-se, pois, de uma «sub-infecção», isto é, o fungo não pode crescer no tecido de *Senecio*. *Senecio* é immune, mas sua epiderme tem uma particularidade que permite ao fungo chegar á primeira phase da infecção, isto é, á penetração. As outras plantas têm uma immunidade ainda maior, pois sua epiderme não possibilita a penetração. Talvez produza até um chemotropismo negativo. Só nas folhas da *Lactuca sativa* pode a *Bremia* desenvolver-se normalmente, de maneira que as hyphas ás vezes atravessam a folha toda.

Ao examinar esse mycelio intercellular, notamos a seguinte peculiaridade: as hyphas principaes, apresentam a tendencia de ramificar-se dichotomicamente como conidiophoros que crescem fóra da

folha. A fig. 1 mostra uma hypha principal que percorre o interior da folha e apresenta dichotomia. O mycelio foi corado com cotton-blue, fervendo-o em acido acetico concentrado. Obtem-se, desse modo, hyphas azues brilhantes, no tecido da folha tornado perfeitamente transparente.

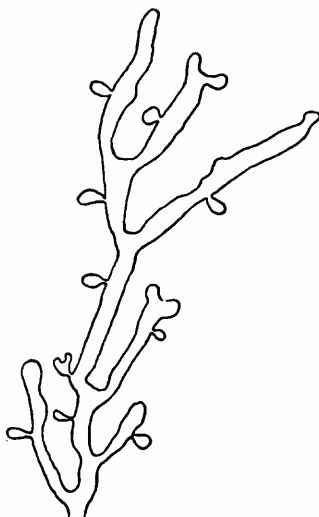


Fig. 1

Fig. 1 — Hypha principal, intercellular, com haustorios. A tendencia de ramificação é nitidamente dichotomica, como nos conidiophoros.

Interzellular verlaufende Haupthyphne mit Haustorien. Die Verzweigungstendenz ist ausgesprochen dichotom, wie bei den Konidientraegern.

Sorauer (1921) cita no seu trabalho que a infecção de *Bremia Lactuca* se produz exclusivamente atravez dos estomatos. Em nossas observações obtivemos resultados diferentes. Nas condições de temperatura que usamos, a germinação por meio de zoosporos parece rara. Só a pudemos observar uma vez. Portanto, os resultados que se seguem referem-se á germinação por meio do tubo germinativo, isto é, á germinação directa dos conidios. As observações feitas revelaram que a penetração dos tubos germinativos se faz quasi exclusivamente atravez das paredes dos anticlinios das cellulas epidermicas.

Tabella 2

	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Senecio cruentus</i>
Anticlinios	94,1 % (48)	97,2 % (36)
Periclinios	5,8 % (3)	2,7 % (1)
Estomatos	0,0 % (0)	0,0 % (0)

Na tabella 2 damos os resultados percentuaes das infecções observadas e que se deram em uma das tres regiões citadas. Os numeros em parenthesis indicam o n.º de casos observados de cada vez. Portanto, em nossas observações a infecção não se dá pelos estomatos, como o indica *Sorauer*, mas, sim, pelos anticlinios. Nas figuras pode-se

ver melhor o comportamento do fungo. Na fig. 2 vemos o phenomeno da infecção num corte de Lactuca. O conidio que está sobre a epiderme germinou formando um tubo germinativo. A hypha germinativa se

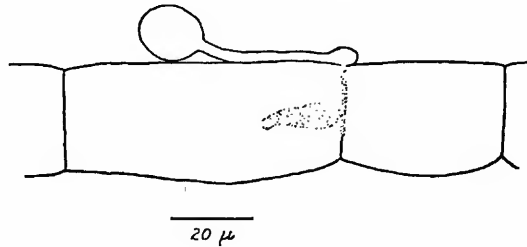


Fig. 2

Fig. 2 — Conidio que germinou sobre a epiderme de uma folha de alface. O tubo germinativo formou, sobre a parede anticlinal, um appressorio que penetrou no anticlinio, emittindo um haustorio para a cellula epidermica. A escala que se encontra sob a figura é valida para todas as figuras seguintes.

Ausgekeimte Konidie auf der Epidermis eines Salatblattes. Der Keimschlauch hat ueber der antiklinen Wand ein Appressorium gebildet und ist in sie eingedrungen unter Entsendung eines ersten Haustoriums in die Epidermiszelle. Der unter der Figur befindliche Masstab gilt auch fuer alle folgenden Abbildungen.

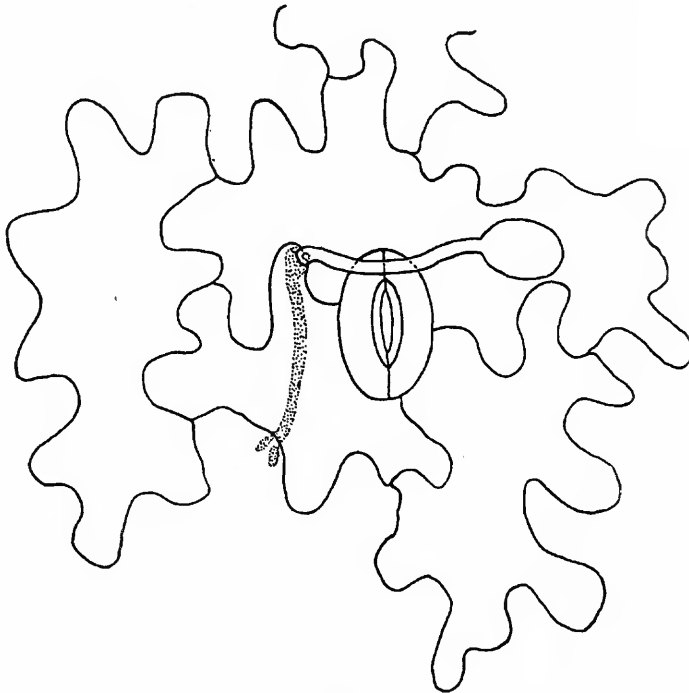


Fig. 3

Fig. 3 — O tubo germinativo do conidio que cresceu sobre a epiderme de uma folha de alface passou junto de um estomato aberto, onde não penetrou, para entrar mais adiante num anticlinio.

Der Keimschlauch der Konidie ist auf der Epidermis eines Salatblattes dicht an einer offenen Spaltoeffnung vorueber gewachsen, aber nicht in diese sondern in eine Antikline eingedrungen.

desenvolve sobre a parede exterior (periclinal) da cellula e ao chegar à parede anticlinal forma essa pequena intumescencia que se designa tambem por appressorio. Desse appressorio sae uma hypha fina que penetra na parede anticlinal, seguindo ahi ao longo da lamella media. Desse fio de infecção saem lateralmente para as cellulas epidermicas varias hyphas ricas em plasma, que provavelmente representam os primeiros haustorios. Em todas as figuras representamos a parte das hyphas que fica sob a epiderme, por meio de traços pontuados. As figuras 3 e 4 mostram o processo de infecção em *Lactuca*, visto de cima. Na fig. 3 vemos que o tubo germinativo passa justamente sobre um estomato, sem penetrar nelle. Na fig. 4 ha um conidio bem

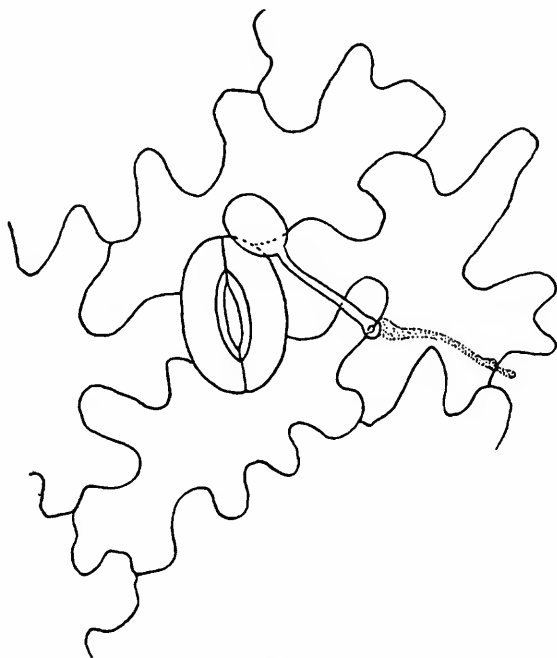


Fig. 4

Fig. 4 — Um conidio que se encontra bem junto de um estomato (alface) emittiu um tubo germinativo em direcção opposta. A infecção se deu atravez de um anticlinio.

Eine dicht bei einer Spaltöffnung (Salat) liegende Konidie hat einen Keimschlauch von dieser fort getrieben. Die Infektion ist durch eine Antikline erfolgt.

junto de um estomato, mas o tubo germinativo se afasta do estomato para finalmente penetrar num anticlinio. As figuras 5 a 8 mostram a infecção em *Senecio cruentus*. Na fig. 5 vemos um conidio exactamente sobre um estomato; o tubo germinativo, entretanto, não penetra no estomato, mas, sim, na parede anticlinal da cellula de fechamento. Outro conidio proximo forma um tubo germinativo extremamente pequeno que penetra no anticlinio visinho. Na fig. 7 o tubo germinativo penetra no anticlinio que fica sob o conidio. Muito instructivo é o caso da fig. 6. Forma-se um tubo germinativo junto de um estomato, que passa junto a este e mais adiante passa ao lado

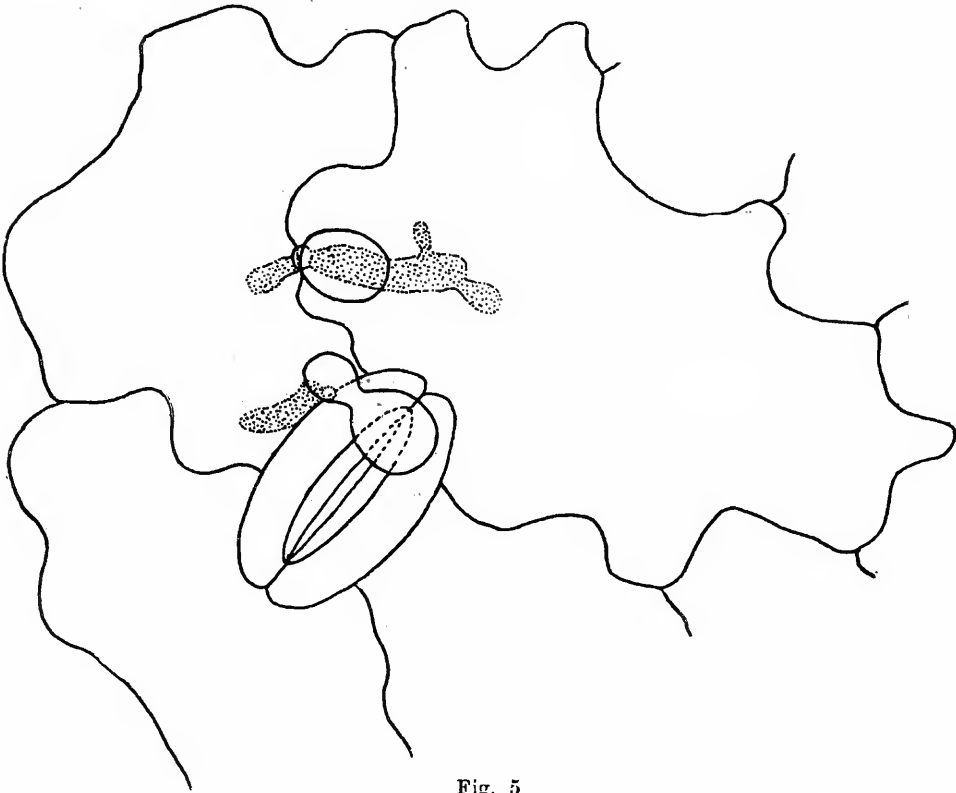


Fig. 5

Fig. 5 — Os tubos germinativos de dois conídios sobre a folha de *Senecio cruentus* entraram pelos anticlinios, embora um dos conídios esteja justamente sobre um estomato.

Die Keimschlaeucher zweier Konidien auf dem Blatt von *Senecio cruentus* haben ihren Weg durch die Antiklinien genommen, obwohl eine Konidie direkt ueber einer Spaltoeffnung liegt.

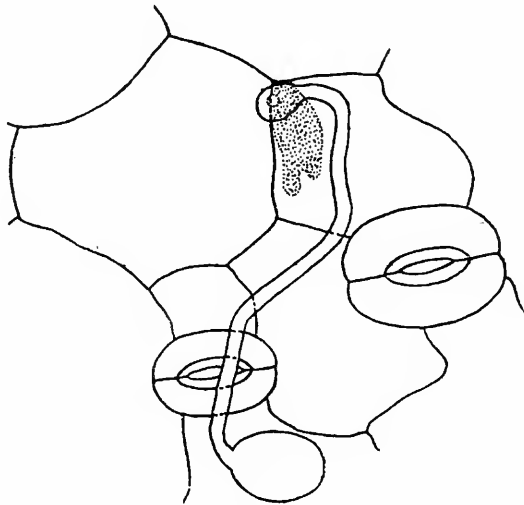


Fig. 6

Fig. 6 — O tubo germinativo de um conídio que cresceu sobre a epiderme de *Senecio* passou sobre um estomato aberto e depois de passar sobre alguns anticlinios, penetrou num destes que provavelmente exerceu uma irritação maior do que os anteriores.

Der Keimschlauch einer Konidie ist auf der Epidermis von *Senecio*

ueber eine geoeffnete Spaltoeffnung hinweg gewachsen und nach Ueberquerung einiger Antiklinen in eine solche eingedrungen, die offenbar einen staerkeren Reiz ausgeuebt hat als die vorhergehenden.

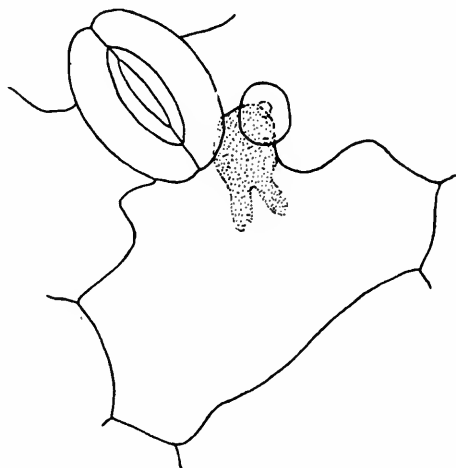


Fig. 7

Fig. 7 — Um conidio que se encontra junto de um estomato de Senecio, penetrou num anticlinio que se encontra sob o estomato, sem formar um tubo germinativo longo, provavelmente porque esse anticlinio exerceu uma irritação sufficientemente forte para isso.

Eine dicht neben einer Spaltoeffnung von Senecio liegende Konidie ist in die darunter liegende Antikline ohne Bildung eines laengeren Keimschlauchs eingedrungen, offenbar weil diese Antikline bereits einen genuegend starken Reiz geliefert hat.

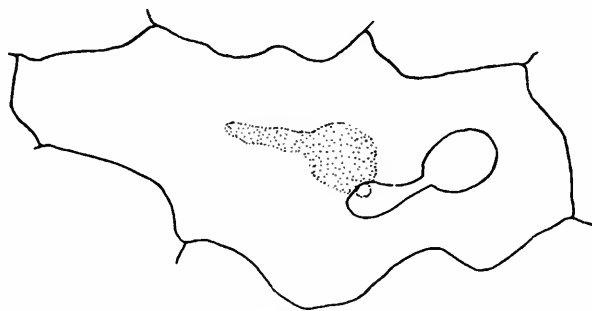


Fig. 8

Fig. 8 — Caso raro de infecção através da parede externa, periclinal de uma cellula epidermica de Senecio.

Seltener Fall der Infektion durch die perikline Aussenwand der Epidermizelle von Senecio.

de outro estomato para, finalmente, penetrar num anticlinio. A fig. 8 reproduz o caso raro de uma infecção nas paredes periclinaes da epiderme. Em Lactuca como em Senecio a infecção se dá principalmente nos anticlinios da epiderme. Parece, pois, que essas regiões da epiderme exercem uma irritação especial que faz com que o fio de infecção que sae do appressorio penetre numa parede anticlinal. O tubo germinativo pode até passar sobre um estomato sem penetrar nelle.

b) O COMPORTAMENTO DOS ZOOSPOROS

Como se dará a infecção quando os conídios não formam tubo germinativo, mas germinam indirectamente por meio de zoosporos dotados de motilidade? Parece que os conídios formam zoosporos principalmente em temperaturas baixas (*Milbrath, 1923*). Só conseguimos zoosporos uma unica vez e com elles produzimos infecção em folhas de *Lactuca*. De accordo com nossas observações sobre o comportamento dos zoosporos de *Plasmopara viticola*, que são da mesma

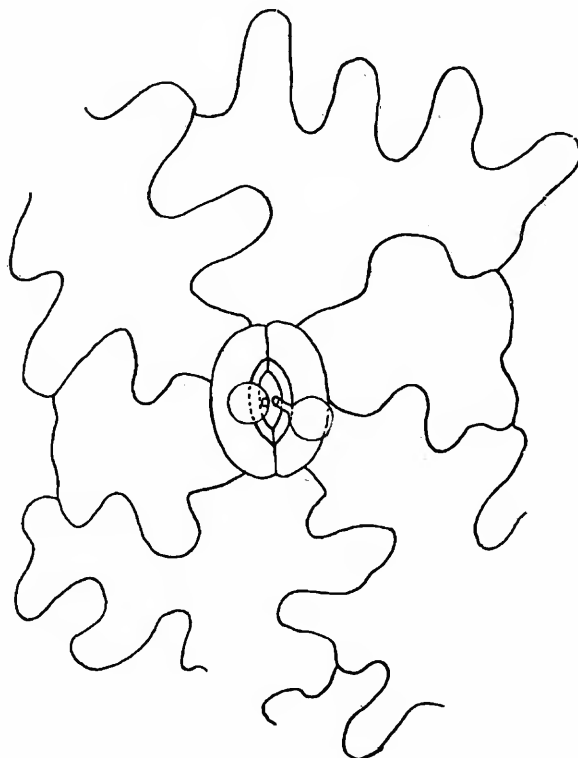


Fig. 9

Fig. 9 — Dois zoosporos foram attrahidos chimotacticamente por um estomato de *Lactuca*. Recobriram-se de uma membrana e emittiram um tubo germinativo para o interior do estomato.

Zwei Zoosporen sind von der Spaltoeffnung von *Lactuca* chemotaktisch angelockt worden, haben sich mit einer Membran umgeben und einen Keimschlauch in das Innere der Oeffnung geschickt.

estructura morphologica que os de *Bremia*, a infecção deveria dar-se atravez dos estomatos e não dos anticlinios. Pudemos, de facto, observar a infecção atravez dos estomatos. A fig. 9 mostra dois zoosporos já em repouso, junto de um estomato aberto de *Lactuca*. Ambos emittiram tubos germinativos para o interior do estomato. Não pudemos encontrar outro typo de infecção por meio de zoosporos, quasi não pode haver duvida que a infecção se dá, em suas particularidades, exactamente como observamos em *Plasmopara viticola*. Os zoosporos com certeza tambem soffrem uma irritação chimica por parte dos es-

tomatos que os faz perder a motilidade, envolvem-se então com uma membrana. Em seguida o tubo germinativo é dirigido para o interior do estomato aberto.

Observamos, pois, no mesmo cogumelo um comportamento inteiramente diferente dos tubos germinativos dos conídios e dos zoosporos. Os tubos germinativos dos conídios penetram nos anticlinios, ao passo que os dos zoosporos se introduzem nos estomatos abertos. Já sabemos que os zoosporos, nas primeiras phases de vida, nadam livremente, reagindo por tactismo, ao passo que os tubos germinativos dos conídios immotis reagem, desde o inicio, chimotropicamente. Mas, os zoosporos, na segunda phase de vida, tendo perdido a motilidade, tambem só podem reagir chimotropicamente, formando tubos germinativos. Pode-se, pois, concluir que o chimotropismo dos tubos germinativos dos conídios differe do dos zoosporos em repouso. As irritações que determinam o chimotactismo positivo dos zoosporos pelos estomatos seriam differentes das que provocam a penetração dos conídios em germinação, nos anticlinios.

Causas específicas da infecção

a) INFECCÃO PELOS ESTOMATOS

Se considerarmos irritações chímicas como responsaveis pelos diversos typos de reacção, seria interessante saber a que substancias podemos attribuir taes papeis. Como, em geral, efeitos chímicos só são exercidos por substancias dissolvidas (na agua), deveriam manifestar-se nos pontos da epiderme em que se dão as infecções typicas. Se considerarmos o ultimo typo de infecção, pelos zoosporos, é muito provavel que elles se comportem como os zoosporos de *Plasmopara viticola*. Estes reagem nitidamente ás soluções de reacção alcalina, portanto aos ionios OH (*Arens*, 1929). Com o material escasso de zoosporos, de que pudemos dispôr, verificamos que os zoosporos se agglomeram de preferencia na abertura de tubos capillares feitos de vidro commum. A reacção de agua distillada introduzida nesses tubos capillares, em poucos minutos se eleva a um pH = 9, como consequencia da dissolução de substancias alcalinas das paredes do vidro. Neste caso, têm os zoosporos de *Bremia* exactamente o mesmo comportamento que os de *Plasmopara viticola*. Nos zoosporos de *Plasmopara* foi possivel observar que a superficie da folha de *Vitis* provoca nelles chimotactismo positivo. Já suppunhamos, então, que a superficie da folha tinha reacção alcalina. Nesse interim pudemos provar (*Arens*, 1934) que a superficie de innumeradas folhas, entre as quaes *Vitis vinifera*, provocam na agua uma reacção alcalina; fica assim comprehensivel o comportamento dos zoosporos de *Plasmopara*. Terá tambem reacção alcalina a superficie da folha de *Lactuca sativa*? O facto dos zoosporos de *Bremia* reagirem positivamente aos ionios OH, suggere essa supposição.

As experiencias correspondentes, feitas com folhas de *Lactuca* do Jardim do Departamento de Botanica, estão resumidas na tab. 3.

Tabella 3

		em H ₂ O distill.	em orvalho
Exp. n.º	1/2	7,2	7,5
»	» 3/4	7,5	7,3
»	» 5/6	7,2	7,7
»	» 7/8	7,9	7,4
»	» 9/10	8,0	7,4
»	» 11/12	7,3	7,6
»	» 13/14	7,7	7,9
»	» 15/16	7,6	8,2

Para uma serie de experiencias empregamos agua bi-distillada, na outra medimos apenas o pH do orvalho natural. A agua distillada era collocada sobre a parte superior das folhas, com uma pipeta. Em seguida, para evitar a rapida transformação pelo acido carbonico do ar, recobriam-se as folhas com laminulas grandes, perfeitamente parafinadas. A agua possuia no inicio, devido ao conteúdo de CO₂ proveniente do ar, um pH=5,8. Como o mostram as experiencias da primeira columna da tabella, o pH subiu de 5,8 até acima de 7. O orvalho natural sobre as folhas de *Lactuca* tambem apresenta reacção alcalina. Convem notar que somente folhas frescas (naturalmente sem nenhum fermento) têm reacção alcalina, ao passo que folhas murchas têm reacção acida. Explica-se assim o comportamento especifico de infecção dos zoosporos de *Bremia Lactuca* e dos de *Plasmopara viticola* da maneira seguinte:

1.º) Os zoosporos approximam-se da superficie folhear, attrahidos chimotacticamente pelas substancias alcalinas excretadas.

2.º) No espaço livre dos estomatos deve formar-se uma membrana superficial, no limite entre a gotta d'agua que cobre a folha e o ar que enche o estomato. Como pudemos constatar em 1929 e, mais minuciosamente em 1934, as folhas deixam sahir tanto substancias organicas como inorganicas, de modo que, por isso, a tensão superficial da agua e sua reacção são de facto modificadas. E' nessa membrana superficial que se fixam os zoosporos para germinar. O tubo germinativo sae desse ponto da membrana superficial.

b) INFECÇÃO PELAS ANTICLINAS

Quanto aos conidios, talvez o comportamento differente dos seus tubos germinativos possa igualmente ser posto em connexão com a eliminacão de substancias alcalinas pelas folhas. Seria preciso, então, suppôr que as regiões anticlinaes têm uma *produccão* mais forte do que as periclinaes.

As pesquisas já mencionadas, que mostraram a secreção de substancias alcalinas pelas folhas, provaram tambem a saída de saes mineraes e substancias organicas (Confirmação dos resultados por *Th. Lausberg*, 1935). Trata-se de grandes quantidades de material eliminado. Ha muitas folhas que quando são molhadas por agua de chuva, por orvalho ou agua distillada, eliminam, em poucas horas, 20 a 30 % de seu conteúdo total em substancias mineraes. Se os tubos germinativos dos conidios apresentarem uma reacção chimotropica positiva em relação a essas substancias, sejam ionios de OH sejam outras substancias, então esse chimotropismo positivo se torna comprehensivel se os anticlinios forem os pontos electivos de eliminação. Ha realmente muitas constatações favoraveis á idéa de ser a epiderme das folhas mais permeavel nos anticlinios do que nos periclinios.

Rawitscher observou (1933) que os aphidios para as picadas escolhem os mesmos lugares anticlinaes. Sem duvida tal preferencia indica uma secreção qualquer nestes lugares. Já *Buesgen* (1893) faz notar que justamente sobre os anticlinios as bacterias se agglomeram, o que fala em favor da idéa de que principalmente ahi sejam eliminadas as substancias de irritação. *Buscalioni e Pollaci* (1901-02) observaram, com o seu methodo de collodio, que a transpiração cuticular das folhas é mais forte sobre os anticlinios do que sobre os periclinios. Isto indica maior facilidade de acesso da agua a essas regiões. Mas, onde existe maior permeabilidade á agua, ahi tambem ha maior facilidade da diffusão de substancias dissolvidas. Assim, *Rudolf* pode mostrar (1925) que substancias toxicas penetram mais facilmente nos anticlinios das folhas do que nos periclinios. E' pois muito provavel que nos anticlinios haja maior excreção. Provavelmente isso tambem diz respeito á excreção cuticular referida na pg. 51. E' pois muito comprehensivel a razão pela qual os tubos germinativos dos conidios de *Bremia* e outros fungos penetram de preferencia nos anticlinios. Se nos anticlinios são excretadas as mesmas substancias que nos periclinios, então nestes, devido á menor quantidade de excreção, o limite de irritação (a reacção minima para produzir uma irritação — «*minimum stimulation*» ou «*Reizschwelle*») só será attingido raramente. Mesmo sobre os anticlinios não haverá sempre a mesma quantidade de substancias irritantes, de modo que pode acontecer que um tubo germinativo passe sobre varios anticlinios (o que nos mostram as figuras). Entretanto, ainda nos são desconhecidas as substancias que provocam taes reacções.

Discussões

Ha innumeradas questões de infecção e de immuidade que podem ser attribuidas ao effeito de substancias chimicas que podem ser examinadas experimentalmente. Até agora quasi não foram estudados os primeiros estados do ataque do parasita ao hospedeiro, sob o ponto de vista de uma influencia de substancias, provenientes do hospedeiro,

sobre o parasita. Fischer e Gaeumann (1929) citam alguns trabalhos que procuram relacionar a infecção á secreção de substancias. Pode, porém, ser considerado como certo que a penetração do fungo e a preferencia por determinados pontos devem ser attribuidas a efeitos de certas substancias, a efeitos chimicos do hospedeiro sobre o parasita.

Se, entretanto, a superficie da planta hospedeira diffundir substancias de efeito chimotropico ou chimotactico, então é de esperar que a excreção dependa das condições de vida, sobretudo das condições de nutrição da planta. Temos razões para suppôr que uma planta em condições determinadas de nutrição elimine substancias menos efficazes, ou em tão pouca quantidade, que o grau de irritação não é atingido. Como as excreções estão necessariamente ligadas ao metabolismo geral, qualquer modificação se traduz numa transformação qualitativa ou quantitativa das reacções. A frequente observação que plantas, que recebem uma forte adubação com potassio, são immunes aos ataques de fungos, explicaria-se nesse sentido.

Talvez, ha certas condições, onde *Bremia* só possa penetrar pelos estomatos, como indica Sorauer. Como já dissemos acima, os tubos germinativos dos Uredosporos penetram pelos estomatos das folhas, ao passo que os Basidiosporos das mesmas Uredineas, que se formam na primavera, penetram por aberturas formadas por elles mesmos. Mas, os Basidiosporos que se formam no Outomno e que portanto infectam folhas de Outomno, tambem penetram pelos estomatos (Fischer, 1929). E' provavel que as substancias excretadas na primavera e no Outomno sejam differentes e provoquem, por isso, efeitos tambem differentes. Assim, por exemplo, a *Botrytis cinerea*, segundo Blackman e Welsford (1916), penetra atravez da epiderme de fólhas sãs de *Vicia faba*, ao passo que em folhas doentes entra pelos estomatos. Curtis (1928) diz que *Botrytis*, em folhas de ameixa penetra pelos estomatos, em cereja pela epiderme e em abricots por ambos.

Na Phytopathologia merece attenção especial a infecção do parasita, considerada como um effeito final, resultante da reacção do chimotropismo e chimotactismo do fungo, em relação com as excreções attractivas e repulsivas do hospedeiro. Como já vimos, os meios de combate geralmente empregados são toxicos que matam o parasita ou diminuem sua actividade. Talvez seja possivel conseguir outros methodos de combate, não toxicos, que tenham influencia sobre o chimismo da planta hospedeira. Talvez seja possivel encontrar um tratamento que, na alface, attenuie e talvez até inverta as causas do chimotropismo e do chimotactismo positivos do parasita.

ZUSAMMENFASSUNG

Einleitend wird ausgeführt, dass es verschiedene Typen der Infektion gibt. Die Keimschläuche einer Anzahl von Pilzen dringen nur durch die Stomata. Andere wieder bevorzugen die antiklinen Außenwände der Epidermis, um ins Innere des Wirtes vorzudringen. Das Verhalten des einzelnen Pilzes ist dabei im allgemeinen streng spezifisch. Da die frei schwimmenden Zoosporen und die Keimschläuche der Konidien von *Bremia Lactucae* nach unseren Befunden streng spezifische Stellen auf der Oberfläche des Wirtes (Blattes) aufsuchen, um nur dort einzudringen, müssen wir auf streng spezifische Reize schließen.

Unter diesen Gesichtspunkten war es besonders interessant, den Infektionsvorgang von *Bremia* zu studieren, weil zwei verschiedene Möglichkeiten der Infektion, 1) — durch Konidien und 2) — durch Zoosporen gegeben sind. Die Tabelle 1 zeigt das Resultat von künstlichen Infektionen mit Konidien. Das Infektionsmaterial stammte von Spontaninfektionen auf *Lactuca*. Die Keimschläuche drangen nur bei *Lactuca* und *Senecio* ein, wobei die Weiterentwicklung aber nur auf *Lactuca* erfolgte. Beim Studium des Erfolges der Infektion fiel auf, dass die grösseren Hyphen innerhalb des Blattgewebes die Tendenz haben, sich wie die Konidienträger dichotom zu verzweigen (Fig. 1). Die Tabelle 2 gibt die Resultate über den Ort des Eindringens der Keimschläuche auf den Blättern von *Lactuca sativa* und *Senecio cruentus*. Es zeigt sich, dass die Keimschläuche zu mehr als 90 % durch die Antiklinen eindringen (Zahl der beobachteten Fälle in Klammern). Die Figuren 2 bis 8 bringen das Verhalten der Konidien, 2 bis 4 auf *Lactuca* und 5 bis 8 auf *Senecio*. Die Figuren 3, 4 und 6 lassen erkennen, dass der Keimschlauch bisweilen über verschiedene Antiklinen oder selbst über die Stomata (6) hinweg wachsen kann, ohne dort einzudringen. Der Reiz ist dann offenbar nicht geeignet (Stomata) oder an den ersten überquerten Antiklinen zu schwach, um die Bildung eines Appressoriums und die Infektion zu veranlassen. Dagegen zeigen die Figuren 5 und besonders 7, dass der Keimschlauch sofort in die unter der Konidie gelegene Antikline eindringt, weil hier offenbar der Reiz stark genug ist.

Ganz anders ist der Infektionsmodus der Zoosporen. Leider gelang es mir nur einmal, aus den Konidien Zoosporen zu erhalten. Diese reagieren positiv, chemotaktisch auf OH- Ionen wie ich für die Zoos-

poren von *Plasmopara* naeher feststellen konnte (1929). Der Infektionsmodus ist ebenderselbe wie bei den Zoosporen von *Plasmopara viticola*. Die Zoosporen werden von den Spaltoeffnungen chemotaktisch angelockt und schicken nach Verlust ihrer Beweglichkeit die Keimschlaeuche in die Atemhoehle.

Es kommen also zwei verschiedene und fuer jeden Fall typische Infektionsarten beim gleichen Pilz vor. Beide muessen wohl auf Reizwirkungen an der Blattoberflaeche zurueckgefuehrt werden. Da die Zoosporen positiv auf OH — Ionen reagieren, lag es nahe eine alkalische Reaktion an der Blattoberflaeche zu suchen. Wie der Autor 1934 nachweisen konnte, reagiert die Oberflaeche vieler Blaetter alkalisch. Auch die Blaetter des Salats verursachen in Aqua destillata und im Tau eine alkalische Reaktion (Tab. 3). Die Zoosporen werden also offenbar von der Blattoberflaeche angelockt und bleiben dann an einem Oberflaechenhaeutchen, das sich an den Stomata befindet, haengen.

Das Verhalten der Keimschlaeuche der Konidien muss ebenfalls als stoffliche Reizwirkung gedeutet werden, zumal wir wissen (Arens 1934, Lausberg, 1935), dass die Blaetter grosse Substanzmengen in darauf befindliches Wasser ausscheiden. Nun gibt es eine Anzahl Untersuchungen, die nachweisen, dass die Kutikula ueber den Antiklinen wegsamer ist, als ueber den Periklinen (Buscalioni 1901-02, Rudolf 1925). So wird auch das Verhalten der Keimschlaeuche der Konidien als stoffliche Reizwirkung verstaendlich. Die Keimschlaeuche duerften daher infolge der staerkeren Konzentration der ausgeschiedenen Stoffe ueber den Antiklinen auf diese positiv chemotropisch reagieren.

Wenn aber beide Infektionstypen von *Bremia* auf einem positiven Chemotropismus bzw. auf einer positiven Chemotaxis beruhen, dann waere es moeglich, anstatt von giftigen Bekaempfungsmitteln, die zudem beim Salat nicht anwendbar sind, ungiftige zu benutzen, wenn sie nur die Faehigkeit haben, beide positiven Reaktionen aufzuheben oder in negative zu verkehren.

BIBLIOGRAPHIA

- ADERHOLD, R., Die Fusikladien unserer Obstbäume. Landw. Jahrb. 25, 1900.
- ARENS, K., Physiologische Untersuchungen an *Plasmopara viticola*, unter besonderer Berücksichtigung der Infektionsbedingungen. Jahrb. f. wiss. Bot. 70, 1929.
- ARENS, K., Die kutikuläre Exkretion des Laubblattes. Jahrb. f. wiss. Bot. 80, 1934.
- BARY, A. DE, Recherches sur le développement de quelques champignons parasites. Ann. Sci. Nat. 20, 1863.
- BLACKMAN, V. H., and E. J. WESFORD, Studies in the physiology of parasitism. II. Ann. Bot., 30, 1916.
- BÜSGEN, M., Über einige Eigenschaften parasitischer Pilze. Bot. Zeitg. 51, 1893.
- BUSCALIONI, L. e G. POLLACCI, L'applicazione delle pellicole di collodio allo studio di alcuni processi fisiologici delle piante e in particular modo della traspirazione. Atti Inst. Bot. Pavia, 7, (1901-02).
- CURTIS, K. M., The morphological aspect of resistance to brownrot in stone fruit. Ann. Bot., 42, 1928.
- FISCHER, E. und E. GÄUMANN, Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze. Jena 1929.
- HARTER, L. L. and WEIMER J. L., The relation of the enzym pectinase to infection of sweet potatoes by *Rhizopus*. Americ. Journ. Bot., 10, 1923.
- HARTIG, R., Die Buchenkeimlingskrankheit, erzeugt durch *Phytophthora Fagi*. Forstwiss. Centralbl., N. F., 1, 1879.
- KLEBAHN, H., Über die Botrytis-Krankheit der Tulpen. Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten, 14, 1904.
- LAUSBERG, TH., Quantitative Untersuchungen über die kutikuläre Exkretion des Laubblattes. Jahrb. f. wiss. Bot. 81, 1935.
- MILBRATH, G. D., Downy mildew of lettuce in California. Journ. Agr. Res., 23, 1923.
- MIYOSCHI, M., Botan. Zeitg., 52, 1894.
- RAWITSCHER, F., Wohin stechen die Pflanzenläuse? Ztschr. f. Bot. 26, 1933.
- RUDOLF, K., Epidermis und epidermale Transpiration. Bot. Archiv. 9, 1925.
- RUTTLE, M. L., and FRASER, W. P., A cytological study of *Puccinia coronata*..... Publ. Botany, Univ. Californ. 14, 1927.
- SCHWEIZER, J., Die kleinen Arten bei *Bremia Lactucae* (Regel) und ihre Abhängigkeit von Milieueinflüssen. Verh. Thurgau. Naturforsch. Ges., H. 23, 1923.
- SORAUER, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Berlin 1921.
- WORONIN, M., Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze. Frankfurt 1882.
- YOUNG, P. A., Penetration phenomena and facultative parasitism in *Alternaria*, *Diplodia* and other fungi. Bot. Gaz., 81, 1926.
-

