

Acerca do transporte polar das auxinas

II—Da estase do transporte e das formações neoplásicas

pelo

Prof. CARLOS REBELLO MARQUES DE ALMEIDA

da Cadeira de Viticultura e Ampelografia

Verificámos em trabalho anterior (1950) que da intercepção do transporte basípeto da auxina resultava a rediferenciação de tecidos juvenis que se mantinham em proliferação activa originando granulomas. Ao procurarmos interpretar esta reacção relacionámo-la com a maior concentração auxínica, que nos domínios do parafisiológico conduziria à diferenciação de neoplasias.

Na continuação daquele trabalho verificámos que as estacas das plantas mesófitas com que trabalhámos reagiam da mesma forma. Não obstante os ensaios ainda se encontrarem em curso e serem numerosos os pontos de dúvida, não queremos protelar a divulgação dos resultados que seguem.

A título de esclarecimento informamos que a maior parte dos resultados agora referidos dizem respeito a ensaios conduzidos com estacas de 1 e 2 anos de idade colhidas em plantas adultas das seguintes espécies: *Populus nigra* L., *Montanoa bipinnatifida* C. Koch, *Ficus elastica* Roxb. e *Phytolacca dioica* L., mantidas em soluto de Knop e em atmosfera saturada de humidade, mas frequentemente renovada de forma a que se não verificasse carência de oxigénio.

Aspecto morfológico dos tumores

É bastante variável a morfologia destes granulomas que tanto podem apresentar-se compactos como frouxos, chegando a assumir uma configuração rizomórfica.

Dentro da mesma espécie o aspecto morfológico do tumor mantém-se constante qualquer que seja a fase do ciclo vegetativo em que o ensaio é realizado.

Examinando mais detidamente estas formações verifica-se que os tumores caulinares do choupo se apresentam compactos — Fig. 1 —, ao passo que os da montanoa — Figs. 2 e 3 — são menos densos e de aspecto frouxo e observados à lupa apresentam-se como que constituídos por um enfeltrado de hifas. Em relação ao *Ficus elastica* e à *Phytolacca dioica* os tumores assumem a configuração duma raiz — Figs. 4 e 5 — que surge do centro dum pequeno tumor constituído a partir da actividade dos tecidos dos bordos da lenticula.

Encarando o aspecto morfológico dos tumores das espécies com que trabalhámos é-se levado a admitir, em relação a elas e em princípio, que os tumores caulinares das espécies próprias dos climas quentes se apresentam rizomórficos, ou frouxos, ao passo que os das espécies de folha caduca das regiões temperadas são, normalmente, compactos. Note-se que esta sistematização se altera quando em vez dos tumores caulinares se encara os radiculares.

É ainda de ter em consideração que o aspecto morfológico dos tumores, pelo menos em relação à montanoa, se altera em função do pH do meio em que se mantêm as estacas; pois os meios alcalinos tornam-nos compactos.

Segundo a nossa forma de ver o tipo do tumor depende mais do grau de habituação da espécie à auxina do que da sua concentração, pois o tipo de tumor, para uma mesma espécie e para um mesmo órgão, mantém-se sensivelmente constante ao longo do ciclo vegetativo da planta se bem que durante ele variem as disponibilidades auxínicas do indivíduo.

Aspecto histológico da organização tumoral

A organização tumoral difere consoante as espécies. Assim, e em relação aos tumores caulinares do choupo observámos:

O tamanho das células não é constante, pois as que de início se constituem apresentam-se hipertrofiadas. A maioria destas células é nucleuada e por vezes binucleuada, mas a frequência dos núcleos e das divisões mitóticas é, sobretudo elevada na calote periférica do tumor — Fig. 6. Numa fase mais avançada da evolução dos tecidos tumorais aparecem elementos desordenados de traqueidos — Fig. 7. Na se-

quência da evolução destes tecidos muitas células passam a apresentar inclusões de tanino ou de substância com reacções histoquímicas semelhantes.

É de salientar que nos granulomas em crescimento se não observa a impregnação das paredes das células da sua calote periférica com suberina, tal como se regista uma intensa amilolise em toda a sua extensão.

Estes tumores têm desde o início uma origem endógena, pois provêm principalmente da rediferenciação do parenquima cortical interno. Seguidamente a rediferenciação estende-se ao floema, câmbio e raios medulares o que lhe confere uma origem progressivamente mais profunda. Numa fase ainda mais avançada para a constituição dos granulomas concorre principalmente a zona medular adjacente ao lenho primário. A frequência dos traqueidos é então muito grande.

Nos tumores que se encontram numa fase adiantada da sua constituição verifica-se a destruição dos tecidos mais idosos que vão sendo substituídos por novas formações que se constituem no seu embasamento. Em alguns casos e a partir destes granulomas obtivemos formações do tipo embrioma e casos de fasciação.

Passando a examinar a organização dos granulomas observados na montanoa há que apontar a possibilidade de existir mais do que um tipo de tumor, pois, ou resultam da actividade dos tecidos juvenis da lentícula — Fig. 8 —, ou provêm de tecidos mais profundos; raios medulares e medula.

Os tumores lenticulares da montanoa diferem dos observados no choupo, pois apresentam-se constituídos por um parenquima indiferenciado formado por células rectangulares e de paredés finas, não deixando entre si meatos, e orientadas no sentido radial. Nestes tumores ainda não observámos formações vasculares — Fig. 9. Em relação aos tumores profundos a organização assemelha-se à referida para os tumores mais diferenciados do choupo, pois para a sua constituição concorrem a medula, os raios medulares, o câmbio e o liber secundário.

Comparando a frequência com que na montanoa se constituem estes dois tipos de tumores é de notar que os granulomas se formam rapidamente a partir da actividade das lentículas, com mais dificuldade quando têm uma origem endógena e ainda mais quando provêm das lentículas ou dos raios medulares das formações ainda não atempadas.

Em relação às formações que se observam no *Ficus elastica* estas assumem, conforme dissemos, o aspecto rizomórfico e a sua estrutura,

ainda que bastante particular, é bem definida. Elas constituem-se nas lenticulas a partir da rediferenciação das células que se localizam imediatamente a seguir ao tecido frouxo. As novas células obtidas através duma proliferação intensa alongam-se e rapidamente tornam-se prismáticas ou cilíndricas — Fig. 10 — conservando os seus núcleos. Com a continuação do processo diminui o número de células nucleadas, mas, ao contrário do que se observava no choupo e na montanoa, não se estabelece ligação entre a formação rizomórfica e o cilindro central.

É ainda de registar que na zona de contacto da formação rizomórfica com os tecidos normais existe um anel de células meristemáticas em actividade. Este aspecto é sobretudo flagrante na *Phytolacca dioica*, onde existem distintamente dois granulomas, o primeiro crateriforme e o segundo rizomórfico.

Da possível origem destes tumores

A constituição de granulomas do tipo que acabamos de descrever coincide com as manifestações de numerosas doenças infecciosas e desequilíbrios funcionais. Seja porém qual for a sua origem julgamos encontrar naquele síndrome um mesmo denominador comum — o desequilíbrio auxínico.

Assim, trate-se do efeito dum agente patogénico, seja consequência da aplicação local duma auxina sintética, resulte da não utilização da auxina natural por ablação do órgão em que esta deveria ser utilizada (castração das flores), seja ainda motivada pelo bloqueio do transporte polar (estase), afigura-se-nos que, em todos os casos, se trata dum mesmo fenómeno primário.

Realmente, encarando os tumores provocados pelo *Phytomonas tumefaciens* sabemos que a primeira fase da proliferação e crescimento parece estar relacionada com a produção duma «endotoxina» — o ácido β -indol acético — que actuaría directamente sobre os tecidos onde se acumulasse. Note-se ainda que o excesso da auxina provoca um fenómeno a que poderemos chamar «estase química do transporte polar», o que ainda mais acentua o seu efeito, pois intercepta a translocação do ácido β -indol acético natural.

Quando consideramos os tumores resultantes da supressão sistemática das flores de algumas espécies do género *Brassica*, ou os que se constituem nas *Solanaceas* em consequência das enxertias inter-específicas, mais uma vez se nos afigura de considerar o desequilíbrio auxínico

como sendo a determinante do processo tumoral. Assim, no primeiro caso a eliminação das flores impede a utilização duma parte da auxina; no segundo a menor afinidade dos simbiontes cria, ao nível da enxertia, uma barreira anatômica que dificulta o seu transporte.

Também são da mesma origem os granulomas que se diferenciam quando, através dum factor do meio ambiente, interceptamos o transporte polar da auxina, pois a suspensão ou o retardamento do movimento basípeto provoca a acumulação da(s) substância(s) específica(s) do equilíbrio metabólico e morfogénico das plantas.

Afigura-se-nos portanto lógico antever uma origem comum aos tumores dos tipos referidos, pois eles revelam na sua própria morfologia a anulação do determinismo da polaridade, quer esta anulação resulte duma estase química, quer se manifeste em consequência duma estase provocada pela humidade.

Passando a encarar a evolução dos granulomas de estase provocados pela humidade há que registar duas alternativas: se se trata da fase inicial de formações superficiais estes só continuam a proliferar enquanto subsistir a causa que os determinou e uma vez esta anulada o tumor regressa — esbate-se a hipertrofia e inicia-se a suberização das paredes das células — ; quando se trata dum tumor profundo a anulação da causa pode atenuar, e em alguns casos anular, a proliferação dos tecidos, mas, pelo menos no caso da montanoa, as novas folhas que se constituem apresentam-se juvenis e a planta tende a caducar.

Esta última circunstância afigura-se-nos interessante, pois tudo indica que o desequilíbrio fisiológico a que se submeteu a planta imprime carácter indelével às células. Só assim explicamos que as plantas resultantes daquelas estacas apresentem e mantenham carácter juvenil.

Da manutenção da acção excitante; suas relações com o ácido β -indol acético

Apontados os factos mais importantes referentes à origem dos granulomas de estase procuraremos analisar as circunstâncias que determinam, uma vez eliminada a causa que lhes deu origem, que se mantenha a acção excitante.

Durante estes ensaios verificámos que os tumores de estase não necessitam do estímulo do ácido β -indol acético para se diferenciarem e se manterem em evolução, tal como sabíamos suceder aos tecidos tumorais resultantes do *Phytomonas tumefaciens* que proliferam em

vitro» independentemente daquela auxina. Note-se que o mesmo já não sucede aos tecidos normais cultivados «in vitro», pois a sua multiplicação anárquica esta condicionada à presença daquele ácido no meio de cultura, isto é, a correlação dos novos tecidos só se altera desde que se provoque a estase química.

Sem procurarmos analisar a causa que determina comportarem-se os tecidos dos tumores provocados pelo *Phytomonas tumefaciens* diferentemente dos tecidos normais, o que os faz comparáveis a verdadeiros tecidos neoplásicos, não podemos todavia deixar de ter presente que o ácido β -indol acético se encontra naqueles tecidos em dose anormal como excreta do parasita.

Passando a analisar os resultados dos nossos ensaios de acordo com estes conhecimentos, verificámos que os troços caulinares reagem à estase determinada pela humidade, independentemente da presença do ácido β -indol acético no soluto nutritivo. Até à data só as cactáceas e as higrófitas, bem como os tubérculos de batata, se mostraram insensíveis ao tratamento.

Resumindo os resultados dos ensaios estabelecidos em 1950 e 1951 e conduzidos com estacas caulinares e radiculares mantidas à luz, em meio saturado de humidade e em soluto de Knop com, e sem ácido β -indol acético, verificámos que o tipo das reacções manifestadas por cada uma das espécies estudadas era independente da época em que se colhiam as estacas, mas variava consoante as espécies.

Assim, nas estacas caulinares de todas as espécies arbóreas de folha caduca até agora estudadas e desde que, natural ou artificialmente, se não encontrassem em repouso o ácido β -indol acético, ainda que não indispensável, estimula a constituição dos granulomas, sendo a sua acção muito importante para a obtenção dos granulomas (do tipo rizomórfico) a partir dos troços radiculares. Na ausência da luz e do ácido β -indol acético e nas estacas caulinares as raízes aéreas adventícias tendem a substituir os granulomas.

Note-se ainda que os granulomas se constituem principalmente a partir da assentada de abscisão da folha ou no ponto de inserção do gomo ao ramo e raras vezes no pecíolo e que o seu tipo não é alterado pela presença do ácido β -indol acético.

Quando em vez das espécies de folha caduca se considerou duas plantas de folha permanente próprias da zona temperada (sobreiro e oliveira) observámos uma reacção inconsistente, pois não obstante e em ambos os casos o ácido β -indol acético não ter estimulado a constituição dos granulomas todavia na oliveira não se verificou proliferação

celular sempre que ao líquido de Knop se juntou a auxina. De resto nestas espécies também é diferente o tipo de granuloma; frouxo no sobreiro, rizomórfico na oliveira — Fig. 11 — que em ambos os casos se constituem a partir das lenticulas. As folhas que se constituíram nestas estacas apresentavam-se juvenis.

Considerando agora duas espécies de folha permanente próprias das zonas quentes (*Ficus elastica* e *Phytolacca dioica*) verificámos que a evolução dos granulomas tanto das estacas caulinares como das radiculares é insensível à presença do ácido β -indol acético.

Nestas espécies os granulomas radiculares apresentam-se freáveis.

Encarando as respostas referentes à *Montanoa bipinnatifida* verificámos que, o ácido β -indol acético prejudica de início a constituição dos granulomas, mas passado este período e em virtude de fenómeno desconhecido as estacas caulinares passam a reagir mais intensamente na modalidade tratada pelo ácido β -indol acético. Os granulomas são então constituídos, principalmente, à custa da actividade dos raios medulares.

A dependência, ou a independência, da reacção neoplásica da presença do ácido β -indol acético coloca-nos perante um problema que, na sua essência se não afasta do apontado em relação ao comportamento dos tecidos infectados pelo *Phytomonas tumefaciens* quando cultivados «in vitro».

Sem procurarmos estreitar os pontos de contacto, não podemos deixar de reconhecer que, pelo menos em relação aos tecidos infectados pelo crown-gall, aquela independência deve estar relacionada com a maior concentração auxínica presente nos tecidos (Kulescha, 1949). Da mesma forma não nos parece de rejeitar que os diferentes comportamentos verificados nas espécies com que trabalhámos se filie em causa semelhante, pois segundo a nossa forma de ver seria o grau de habituação, ou adaptação, das espécies a uma concentração auxínica mais ou menos elevada que determinaria as diferenças que apontámos.

Para que o estudo deste problema possa entrar numa fase construtiva falta determinar as circunstâncias que se verificam e que conferem às células e aos tecidos que delas resultam as características da não correlação e o seu acentuado carácter juvenil.

Os elementos de que dispomos são insuficientes para nos esclarecerem os pontos em dúvida, ainda que em estacas de montanoa tivéssemos ocasião de verificar, tal como já dissemos, que o seu tratamento em meio saturado de humidade, após ter provocado o aparecimento de neoplasias profundas conferiu aos seus tecidos características tais que os lançamentos que posteriormente se formaram apresentavam simul-

tâneamente folhas com carácter juvenil e, por vezes, tumores secundários para não referir os casos de fasciação que conduziam os indivíduos à morte.

Se o que escrevemos noutra parte é verdadeiro (1950), o carácter juvenil traduziria uma dose elevada de auxina retida nos eixos, dose esta que explicaria o aparecimento das neoplasias observadas.

Para compreendermos o que se passa é-nos, todavia, indispensável conhecermos a causa determinante do aumento da dose auxínica e em relação a este particular existem dúvidas. Assim, e não obstante sabermos que o carácter juvenil da folhagem e as recidivas neoplásicas surgem concomitantemente com a constituição de tecidos meristemáticos capazes de elaborarem a auxina, subsiste dúvida quanto à causa que assegura a manutenção do carácter juvenil da folhagem quando os ulteriores crescimentos fariam supor a diminuição da concentração auxínica, em consequência do maior volume da planta.

Tanto quanto, de momento, podemos apreciar o fenómeno em questão julgamos que para além do despertar da actividade neoplásica, a manutenção do ritmo mitótico seja independente da auxina própria dita e, possivelmente, governada por qualquer outra substância cuja constituição depende da própria concentração auxínica. De qualquer forma essa substância exigiria para a sua própria auto-manutenção a existência de células vivas.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

In continuation of a previous work (1950) stem and root cuttings of a certain number of species were maintained in a moisture saturated atmosphere. With the resulting blocking of the basipetal transport of auxin a redifferentiation of juvenile tissues originating granulomes was obtained.

Tumor morphology was quite variable: compact (*Populus nigra*), friable (*Montanoa bipinnatifida*) or even rhizomorphic (*Ficus elastica*, *Olea europaea*). Within a species it was constant and independent of the phase of vegetative cycle at which the cuttings were obtained.

The type of tumor seemed more dependent on the degree of habituation of the species to auxin than to its concentration. Morphology was influenced, at least in the case of *Montanoa*, by the pH of the medium for maintainance of the cuttings: compactness was induced by alkalinity.

Histology varied according to species. In *Populus nigra* the tumor consisted of a parenquima of cells, hypertrophied from the beginning, the majority of which nucleated, sometimes binucleate. In a more advanced stage polarly disorientated traqueid units appeared and the tumor showed an endogenous

origin being formed through the activity of the phloem, cambium, medullary rays and later by the medulla. In these granulomes suberin impregnation of the cells of the periferical calotte did not take place and intensive amilolysis was observed throughout. From some of these granulomes formations of the embriome type and cases of fasciation were obtained.

In Montanoa granulomes originated either from the activity of lenticular juvenile tissue or from medullary rays and medulla. Those of lenticular origin were constituted of an undifferentiated parenquima; the deep ones were similar, as to origin, to those observed in Populus.

The granulomes observed in *Ficus elastica* were formed by the activity of the cells immediatly beneath the loose tissue of the lenticules. These cells elongate and rapidly become prismatic, or cylindric, retaining their nuclei. In no case linkage of the rhizomorphic formation with the central cylinder was observed.

In discussing these results a parallel was made between granulomes obtained through hydric stasis and those resulting from: local application of synthetic auxin, ablation of the flowers of certain *Brassicae*, interspecific grafts in some *Solanaceae* and also those originated by *Phytophomas tumefaciens*. A common origin is suggested for any of the above tumors, namely, auxinic unbalance: morphologically they show an annulation of polarity determinism resulting either from chemical stasis of from one originated by humidity.

As to the evolution of granulomes provoked by hydric stasis the following was noted: in the initial prase of surface formation these only continue proliferation as long as the determinative cause is present, annulment leading to the regression of the tumor; in the case of deep tumor nullifying the cause may attenuate, and sometimes nullify, tissue proliferation but, at least with Montanoa, the new leaves found are of the juvenile type and the plant tended to die out. This result seems to lead to the conclusion that the physiological unbalance imposed on the plant confers a permanent character to the cells.

In the sequence of the discussion it is pointed out that the tissues of stasis tumors, as in the tissues of crown-gall «in vitro», proliferate independently of β -indol acetic acid. Up to the present, only cactaceae and hygrophytes have shown to be insensitive to treatment.

Summarizing the 1950 and 1951 results of experiments carried out with stem and root cuttings (maintained in day light, in moisture saturated environment, and in Knop's medium with and without β -indol acetic acid) it was seen that the type of reaction shown within each species was independent of the season in which the cuttings were obtained but was variable among species.

Accordingly with stem cuttings of the deciduous species studied β -indol acetic acid, though not indispensable, stimulated the formation of granulomes from the radicular segments. In the absence of light and β -indol acetic acid, with stem cuttings, adventitious aerial roots — uninfluenced by geotropism — tend to substitute granulomes.

With *Quercus suber* and *Olea europaea* reactions were inconsistent. In both cases β -indol acetic acid did not stimulate granulome formation but with *Olea europaea* no proliferation at all took place when auxin was added to Knop's medium. In this species, however, the granulome type was rhizomorphic while in *Quercus suber* it was friable.

In *Ficus elastica* and *Phytolacca dioica* granulome evolution was insensitive to the presence of β -indol acetic acid. Root tumors were friable in this species.

With *Montanoa bipinnatifida* β -indol acetic acid stimulated the proliferation of neoplasias derived from the medullary rays.

In view of the above observations and considering the behaviour in culture of crown-gall tissue, it is suggested that the different types of behaviour of the species studied may be associated with a greater or lesser concentration of auxin present in the tissues; the degree of habituation, or adaptation, of the species would determine the differences observed.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, C. R. Marques de

1950 Acerca do transporte polar das auxinas. *An. Inst. Sup. Agron.* 17: 261.

KULESCHA, Z.

1949 Relation entre le pouvoir de prolifération spontanée des tissus de Topinambour et leur teneur en substance de croissance. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*



Fig. 1

Granuloma compacto numa estaca caular de choupo mantida em meio saturado de humidade e na presença da luz do dia

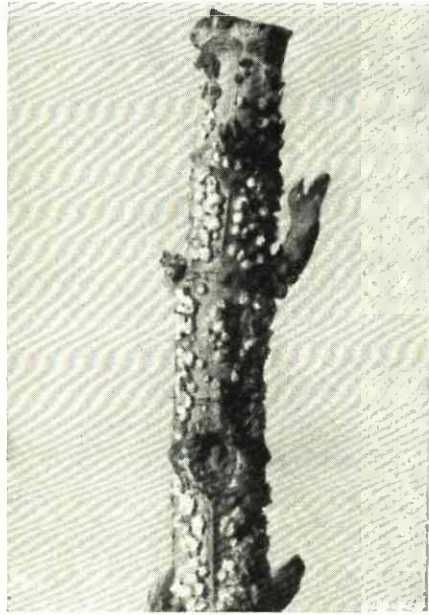


Fig. 2

Granuloma frouxo numa estaca caular de montanoa mantida em meio saturado de humidade e na presença da luz do dia

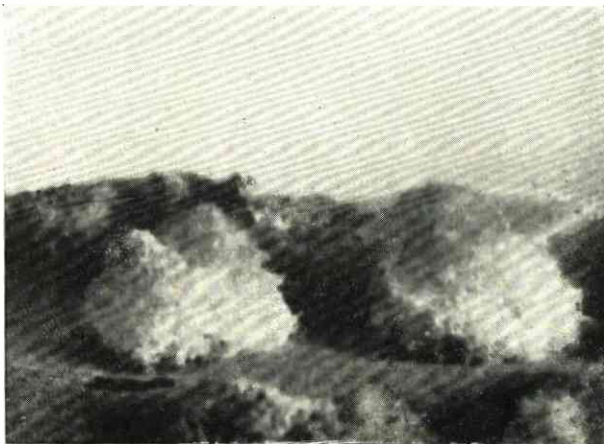


Fig. 3

Pormenor de granulomas lenticulares na montanoa

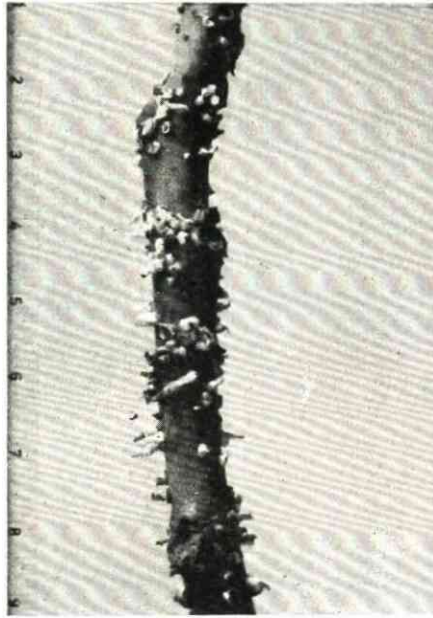


Fig. 4

Granulomas rizomórficos numa estaca caulinar de Ficus elastica mantida em meio saturado de humidade e na presença da luz do dia

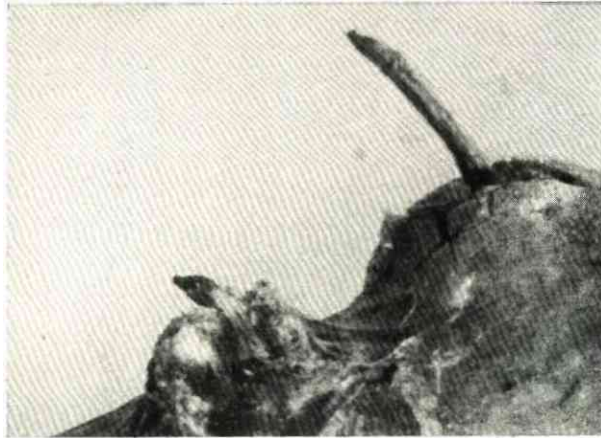


Fig. 5

Granulomas rizomórfico e crateriforme numa estaca caulinar de Phytolacca dioica mantida em meio saturado de humidade e na presença da luz do dia.

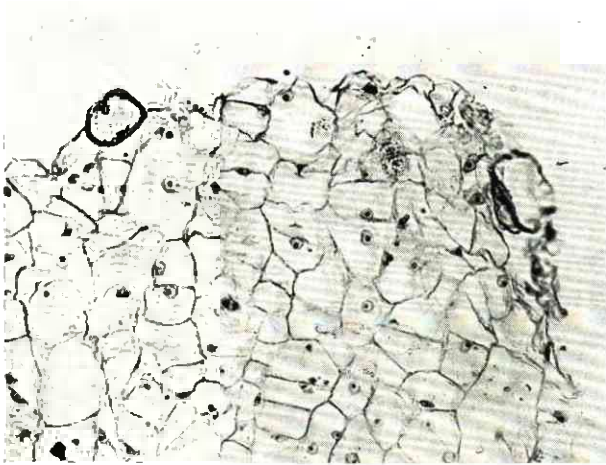


Fig. 6

Calote periférica dum granuloma de choupo

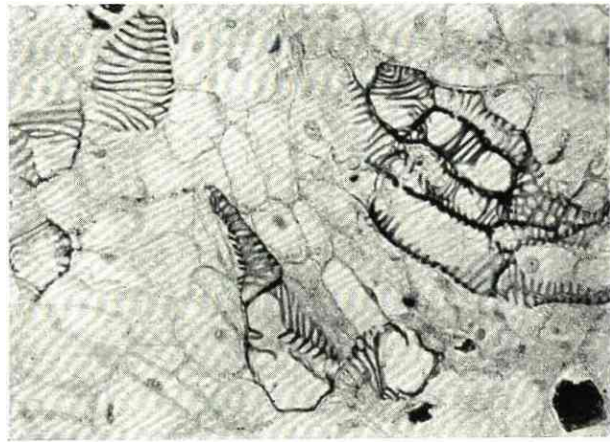


Fig. 7

Esboços de traqueidos num granuloma de choupo

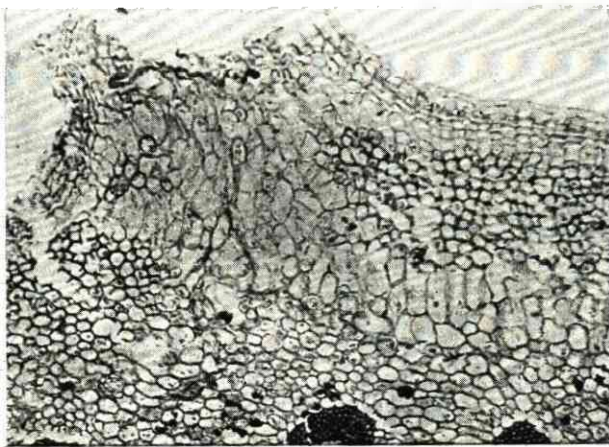


Fig. 8

Início da constituição dum granuloma numa estaca caulinar de montanoa

Fig. 9

Calote periférica dum granuloma de montana

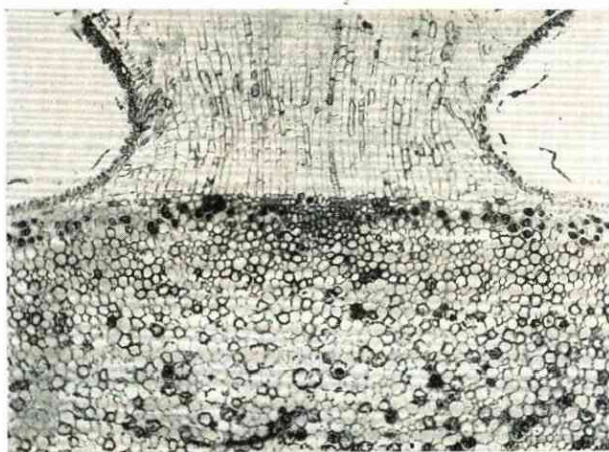
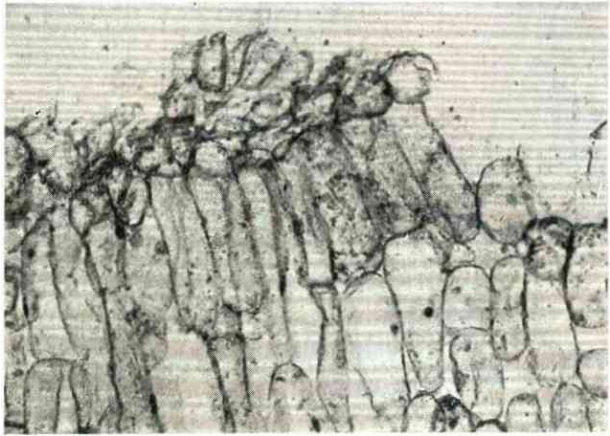


Fig. 10

Inserção dum granuloma rizoformico no Ficus elastica

Fig. 11

Granulomas rizoformicos na oliveira

