

J. PINTO PEIXOTO • F. R. DIAS AGUDO • J. TIAGO DE OLIVEIRA • J. CAMPOS FERREIRA
MARGARITA RAMALHO • A. RIBEIRO GOMES • ARMANDO POLICARPO • F. DUARTE SANTOS
J. GOMES FERREIRA • L. A. MENDES VICTOR • MANUEL LARANJEIRA • M. GOMES GUERREIRO
J. CÂNDIDO DE OLIVEIRA • ROBALO CORDEIRO • J. CELESTINO DA COSTA • A. CASTRO CALDAS
BARAHONA FERNANDES • ARANTES E OLIVEIRA • A. F. CARVALHO QUINTELA • A. BARBOSA
DE ABREU • GOUVÊA PORTELA • L. BRAGA CAMPOS • J. J. DELGADO DOMINGOS • A. F.
OLIVEIRA FALCÃO • DOMINGOS MOURA • H. CAMPOS NETO • A. LARCHER BRINCA • J. F.
QUINTINO ROGADO • M. AMARAL FORTES • M. BAPTISTA BRAZ • M. PEREIRA COUTINHO
FERNANDO ESTÁCIO • P. O. PEREIRA SANTOS • A. A. MONTEIRO ALVES • BRITALDO RODRI-
GUES • L. AIRES DE BARROS • MATOS ALVES • M. PORTUGAL FERREIRA • ANTÓNIO RIBEIRO
FRANCISCO GONÇALVES • TELLES ANTUNES • LUÍS ARCHER • J. MONTEZUMA DE CARVALHO
J. FIRMINO MESQUITA • ABÍLIO FERNANDES • J. MALATO-BELIZ • ARSÉNIO PATO DE
CARVALHO • A. XAVIER DA CUNHA • ALLEN DEBUS • J. SIMÕES REDINHA • SEBASTIÃO
J. FORMOSINHO • A. M. A. ROCHA GONSALVES • L. ALMEIDA ALVES • OLIVEIRA CABRAL
FRAÚSTO DA SILVA • JOSÉ V. PINA MARTINS • AMÉRICO COSTA RAMALHO • FERNANDO
REBELO • C. ALBERTO MEDEIROS • ILÍDIO DO AMARAL • MANUEL GARRIDO ARAÚJO
MANUEL VIEGAS GUERREIRO • A. SIMÕES LOPES • A. SOUSA FRANCO • ONÉSIMO T. ALMEIDA
JUSTINO MENDES DE ALMEIDA • FRANCISCO GAMA CAEIRO • RÓMULO DE CARVALHO

HISTÓRIA E DESENVOLVIMENTO DA CIÊNCIA EM PORTUGAL NO SÉC. XX

II VOLUME



PUBLICAÇÕES DO II CENTENARIO DA ACADEMIA DAS CIÊNCIAS DE LISBOA
LISBOA • 1992

HISTÓRIA DA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA EM PORTUGAL — APLICAÇÕES EM BIOLOGIA VEGETAL

J. F. MESQUITA *

Summary

In the scope of an historical report of the electron microscopy in Portugal, the following aspects are considered:

1. Origin and evolution of the Microscopy in the Scientific World, and its influence on the history of Cytology and Cell Biology in our country.
2. Implantation of the electron microscopy in Portugal: historical aspects and their correlation with the pioneers and the portuguese Institutions or Laboratories where the electron microscopy firstly was used in the scientific research.
3. Portuguese Electron Microscopy Society (P.E.M.S.): history of its foundation and evolution; statistical analysis of the activity developed by the portuguese electron microscopists, in the ambit of this Society.
4. Applications of the electron microscopy to Plant Biology in our country: the most significant research fields and Institutions where they are being developed; reference to the principal subjects the investigation of which was already carried out or is running. Bibliography. Conclusions.

A Microscopia Electrónica é apenas uma das faces duma técnica mais ampla e multifacetada — a Microscopia — cuja história começou há mais de 300 anos quando Robert Hooke (1665), físico da «Royal Society of London», procurando aplicações dos microscópios em vários domínios, observou os mais diversificados materiais num microscópio

* Instituto Botânico, Laboratório de Microscopia Electrónica e Ficologia, Universidade de Coimbra.

construído por ele mesmo¹. Dos resultados destas observações dá conta na célebre obra *Micrographia*, onde figura o clássico desenho do fragmento de cortiça com os pequenos compartimentos aos quais é dada pela primeira vez a designação de *cellullae* (latim).

Não cabe aqui, obviamente, fazer a história da Citologia, nem mesmo, numa perspectiva crítica, apreciar a evolução do conceito de organização dos seres vivos (animais e vegetais) na qual, como se sabe, dominaram dois pontos de vista essenciais: a *teoria tecidular* (com Malpighi e Grew como pioneiros e Brisseau-Mirbel como principal defensor — séc. XVII e XVIII) e a *teoria celular* cuja autoria é normalmente atribuída a Matthias Schleiden (1838), para os vegetais, e a Theodor Schwann para os animais, mas que, na realidade, foi enunciada mais de uma década antes (1824), por Dutrochet.

De qualquer modo, quanto a nós, seria sempre injusto e ferido de omissão qualquer escrito sobre microscopia que não referisse, embora sucintamente, o árduo e brilhante caminho trilhado pelos pioneiros nesta área.

A este propósito, é curioso citar o primeiro número de uma nova revista acabada de sair «European Microscopy and Analysis» - Setembro, 1989), na qual o artigo de abertura aborda precisamente esta problemática.

O seu autor Brian J. Ford (1), microscopista e membro da Royal Microscopical Society há 25 anos, critica o esquecimento, muitas vezes deliberado, a que são votados os primeiros microscopistas e o descrédito que por vezes se tenta lançar sobre os seus trabalhos e descobertas, alegando que estas não teriam sido possíveis com o equipamento disponível na época! ...

Brian J. Ford vai ainda mais longe: utilizando o microscópio original ou uma réplica, examinou os mesmos materiais e nas mesmas condições, tendo confirmado inequivocamente a capacidade (em ampliação e resolução) que estes microscópios simples tinham e têm para observar as células e microorganismos descritos há mais de três séculos por Leewenhoek¹.

Aqui fica, portanto, em jeito de homenagem, esta breve referência aos pioneiros da microscopia ... O aperfeiçoamento das lentes e a sua associação em microscópios compostos com as consequentes melhorias em ampliação e resolução, a célebre descoberta da continuidade celular por Rudolf Virchow (1855) («*omnis cellula e cellula*»), o desenvolvimento de técnicas de preparação das amostras para estudo microscópico

(nomeadamente a invenção do micróto e a utilização de fixadores e corantes), são marcos fundamentais na história da Citologia. Efectivamente, com estas novas possibilidades técnicas, uma pléiade ilustre de investigadores implementou de tal modo os estudos citológicos que, nas décadas 30 e 40 deste século, pareceria nada mais haver para descobrir na morfologia e estrutura das células. Foi, digamos assim, a «1.ª ÉPOCA DE OURO» da Citologia! É altura de realçar, com toda a justiça, que a grande maioria das figuras eminentes desta geração, foram botânicos (ou pelo menos utilizaram material vegetal nos seus estudos), nomeadamente de nacionalidade francesa e germânica, que então constituíam as duas Escolas mais prestigiadas do Mundo ... Exceptuando Robert Brown (1830-1835) que era inglês, relembremos os nomes de von Mohl, Schimper, Meyer, Benda, Meves, Regaud, Guilliermond, Dangeard, Hofmeister, Strasburger, Heitz, Guignard e, já mais recentemente, Guilliermond, Mangenot, Dangeard, Plantefol, Buvat, entre outros, todos eles oriundos da França e da Alemanha.

Contudo, apesar desta predominância de franceses e alemães, também os botânicos portugueses têm jus a um lugar de relevo nesta geração. Com efeito, por ordem cronológica, Ruy Telles Palhinha, Aurélio Quintanilha, Abílio Fernandes e Flávio Rezende, entre outros, são prestigiados citologistas deste período. Não cabe, no âmbito desta palestra, historiar a sua obra científica que, por razões óbvias, se desenvolveu essencialmente no domínio da microscopia óptica. Contudo, sem desprimor para ninguém, relembro a justa projecção nacional e internacional que então alcançaram os trabalhos realizados por dois destes ilustres botânicos Professores-Investigadores: Aurélio Quintanilha e Abílio Fernandes. Com efeito, Aurélio Quintanilha (discípulo e colaborador de Hans Kniep e Max Hartmann em dois importantes Institutos de Investigação alemães da época — Pflanzenphysiologisches Institute e Kaiser Wilhelm Institute für Biologie, respectivamente), com os estudos sobre a sexualidade dos Fungos (Basidiomycetes do gén. *Coprinus*), contribuiu decisivamente para o esclarecimento do chamado fenómeno de Buller (4), para além de outras importantes contribuições, em matérias até então quase completamente desconhecidas, como eram os problemas citofisiológicos envolvidos nos «enigmáticos processos» de digestão das plantas carnívoras (5).

Por sua vez Abílio Fernandes, com os seus estudos cariológicos, cariosistemáticos e citogenéticos no género *Narcissus* iniciados há mais de 60 anos³, realizou uma obra notável neste domínio, que, para satis-

fação de todos nós, ainda hoje continua com idêntica lucidez, a bem de todos nós e do prestígio da nossa Universidade. Além dos trabalhos cario-sistemáticos propriamente ditos, incluindo o estudo de poliplóides e do seu importante papel na evolução de taxa infragenéricos, A. Fernandes estudou e obteve importantes resultados num tema de extrema actualidade na época, isto é, o da heterocromatina, quer nas suas relações com o núcleo, quer no seu papel de agente determinante de equilíbrio genético (heterocromatinização de cromossomas supranumerários, seu comportamento durante a mitose e meiose, etc. ...) (8) (9).

Embora não sendo botânicos, e para além de outros ilustres investigadores como José Antunes Serra cuja obra será também justamente evocada neste colóquio, dois grandes vultos da Ciência e da Cultura Portuguesa têm lugar de honra na História da Microscopia e da Citologia em Portugal.

Um deles foi Abel Salazar, cujo centenário do nascimento, por curiosa coincidência, se comemora exactamente este ano. Investigador e professor, artista plástico e Homem de letras, dos maiores entre os maiores, é quanto a nós, um verdadeiro paradigma pela universalidade com que sempre encarou a formação dos Homens de Ciência. Director do Instituto de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto e, mais tarde, do Centro de Estudos Microscópicos do Instituto para a Alta Cultura, desenvolveu nas décadas de 20, 30 e 40 um importante trabalho de investigação no domínio da Citologia, Histologia Animal e Hematologia, salientando-se a descoberta dos novos métodos de coloração tano-férrica e a consequente introdução em Citologia dos conceitos de substâncias tanófilas e de tanofilia (10). Estas descobertas vieram a ter importante repercussão na prática histológica de Laboratórios portugueses e estrangeiros e, facto curioso, contribuíram também para o esclarecimento de um problema polémico em Citologia Vegetal, na época: a existência ou não de dualidade do condrioma em células meristemáticas vegetais¹.

Numa época em que a competição e a especialização, não raras vezes exacerbada e sem sentido, domina a investigação e os investigadores, quantas vezes cegos a tudo que não caiba no seu Universo restrito, merece reflexão a frase lapidar de Abel Salazar quando diz «um médico que só sabe Medicina, nem Medicina sabe! ...».

O outro grande vulto das Ciências Biomédicas a merecer especial referência, é esse eminente cientista que durante mais de 50 anos se

dedicou com inteligência, perseverança e rara eficácia ao ensino e investigação da Histologia e Embriologia Animal. Refiro-me ao Prof. Augusto Celestino da Costa de quem David-Ferreira, um dos seus ilustres discípulos, disse recentemente: «O ensino foi o campo de acção do seu civismo militante. Numa sociedade em que quase todos se dizem qualquer coisa para logo acrescentarem que não são praticantes, ele (o Prof. Celestino da Costa ...) foi professor e investigador praticante» (12).

Entretanto a evolução da Ciência não pára, os progressos tecnológicos são constantes ... e a interdisciplinaridade no domínio da Biologia, como, aliás, noutras áreas científicas, não deixou de se acentuar a partir do segundo quartel deste século! ... Longe vão os tempos, portanto, em que a Citologia, a Bioquímica e a Genética «nasceram» e evoluíram como disciplinas independentes, não raras vezes, ignorando-se ostensivamente umas às outras! Hoje, a realidade é outra bem diferente ... Com efeito, o termo Citologia (que se continua, por vezes, a manter mais por razões de ordem histórica, do que de outra natureza ...) adquiriu um significado muito mais amplo do que o que tinha no início da década de 30, no qual sobressai, com particular relevância, o conceito do binómio estrutura-função.

Ao entrarmos na segunda metade deste século, passa-se definitivamente da Citologia Clássica para a Citologia Moderna, que, com mais profundidade e rigor se deve designar Biologia Celular.

Para este virar de página, contribuíram importantes descobertas no domínio da Bioquímica, Genética e Citologia propriamente dita levadas a cabo, a partir dos anos 30, por cientistas de grande nomeada, alguns dos quais viram os seus méritos reconhecidos com a atribuição de prémios Nobel. Da convergência e interpenetração dessas descobertas nestes três importantes ramos do conhecimento científico nasce a Moderna Biologia Celular. Relembramos alguns desses notáveis avanços:

— Na área da Bioquímica, em seguimento dos trabalhos efectuados no séc. passado por F. Wohler, Pasteur e Buchner salientam-se, entre 1920 e 1940, a descoberta da via glucolítica da degradação anaeróbia da glucose (Gustav Embden-Otto Meyerhof) e do ciclo dos ácidos tricarboxílicos (Hans Krebs), o desenvolvimento da ultracentrífuga (Svedberg) e a aplicação destas técnicas de centrifugação no isolamento de fracções subcelulares (Albert Claude) (2) (3).

- No domínio da Genética, as importantes descobertas efectuadas a partir dos anos 30 têm raízes profundas no século XIX, com Mendel, Miescher, Roux, Weissman e Sutton, entre outros. Essas descobertas fundamentais consistiram em demonstrar que o DNA era a única substância com propriedades de transformação genética (4) e que esse DNA é não só agente de transformação mas o próprio material genético (15) para além, obviamente, da proposta de Watson e Crick (16) para a estrutura da molécula do DNA, isto é, o famoso modelo em hélice dupla que veio revolucionar a Biologia e constituir o pilar de toda a genética molecular.
- Finalmente, na área da Citologia, a que mais nos interessa aqui considerar, é sabido que a sua história está indissoluvelmente ligada, desde as origens, ao aperfeiçoamento dos microscópios e das técnicas de preparação das amostras. Assim, a invenção do micróto e o desenvolvimento de corantes e fixadores a partir da segunda metade do século passado, muito contribuíram para o enorme progresso da Citologia até aos anos 30-40. No referente aos microscópios e apesar dos constantes aperfeiçoamentos das lentes, a limitação do poder resolvente imposta pelos comprimentos de onda da luz visível, parecia uma barreira intransponível (o limite de resolução nos melhores aparelhos não vai além de 200-400 nm).

O derrube desta barreira da resolução só veio a verificar-se no início do década de 30, mais concretamente em 1932, quando Ruska e Knoll inventaram na Alemanha o microscópio electrónico. Substituindo a luz visível por um feixe de electrões, de comprimento de onda incomparavelmente mais curto, e as lentes ópticas por lentes electromagnéticas, estes dois cientistas conseguiram o que, na altura, era inimaginável: baixar o limite de resolução teórico de 200-400nm (no microscópio óptico) para 0.1-0.2nm.

É sabido que na prática, nomeadamente com material biológico, nunca se consegue atingir este valor, por razões de vária ordem entre as quais sobressaem os problemas de contraste, contaminação e estabilidade das amostras. De qualquer modo, e sem falar nos sucessivos e constantes aperfeiçoamentos dos M.E., ao aumentar-se a gama das ampliações directas em cerca de 100 vezes e, simultaneamente, baixar-se

o limite de resolução na mesma ordem de grandeza, estava dado um passo de gigante no domínio da microscopia.

Contudo, os biólogos, e em particular os citologistas, não puderam desde logo aproveitar este salto incomensurável! ... Porquê?! Porque «não há bela sem senão» ... É que as amostras normalmente utilizadas em M.O., com espessuras de 1-2 dezenas de micra, são completamente opacas em M.E., em virtude do baixo poder de penetração dos electrões. Por outro lado, permitindo ver mais e melhor, o M.E. veio «descobrir misérias», isto é, revelar que, com os métodos histológicos correntes e abaixo do limite de resolução imposto pelo M.O., pouco havia que ver ... para além de um amontoado grosseiro de artefactos!

Assim, foi preciso aguardar cerca de duas décadas para que o M.E. começasse a ser verdadeiramente eficaz em estudos citológicos. Durante esse período, numerosos investigadores, num trabalho persistente e não raras vezes frustrante, aperfeiçoaram e inventaram micrótomos, experimentaram fixadores e corantes variando as suas condições de aplicação, seleccionaram meios de inclusão, etc.

Entre estes verdadeiros pioneiros da M.E. merecem particular realce, não só pelas técnicas que aperfeiçoaram e inventaram, mas também pelos notáveis resultados que obtiveram com a sua aplicação, G.E. Palade, F.J. Sjöstrand e K.R. Porter.

Estávamos então na década de 50, que, com propriedade, se pode considerar como o início da Citologia Moderna ou Citologia Ultrastrutural: é a «2.ª ÉPOCA DE OURO» da Citologia! ...

Os microscopistas, ultrapassadas que foram as principais barreiras na preparação adequada das amostras, senhores de um aparelho com um poder resolvente 100× superior ao que era habitual, operaram uma «autêntica revolução» nos conhecimentos da morfologia e estrutura da célula! ... Tal como na «1.ª ÉPOCA DE OURO», de que falámos atrás, também agora os Investigadores portugueses não ficaram insensíveis a estas mudanças notáveis no domínio da Biologia Celular ...

E assim começa, no anos 50, a «História da Microscopia Electrónica em Portugal».

Em 1954, era titular da cadeira de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina de Lisboa o Professor Xavier Morato que, como discípulo e continuador da obra de Celestino Costa, sempre dedicou particular atenção durante a sua vida de professor e investigador a

temas de Citologia e aos avanços técnicos que condicionaram o seu progresso. Após ter convidado David-Ferreira para assistente da disciplina de Histologia e Embriologia, orientou-o para estudos de ultraestrutura relacionados com a diferenciação celular os quais, ontem como hoje, constituem assunto aliciante e de grande importância em Biologia.

Correspondeu o Dr. David-Ferreira, inteiramente, às expectativas do seu Mestre pois em Abril de 1960 é discutida, pela 1.^a vez no nosso país, uma tese de microscopia electrónica ou melhor dizendo, um trabalho em que problemas de diferenciação celular são estudados ao nível das estruturas submicroscópicas. Este estudo foi parcialmente levado a cabo em Paris no «Institut de Recherches sur le Cancer (Villejuif)», sob a orientação do Dr. W. Bernhard, pioneiro da microscopia electrónica e investigador de renome internacional que é credor do respeito e admiração dos microscopistas de todo o Mundo pela valiosíssima obra que legou no domínio da Biologia Celular e Molecular. O trabalho então realizado por David-Ferreira constitui, no dizer do próprio Autor e com todas as limitações inerentes à época, uma tentativa para, com métodos ultraestruturais, traçar a origem e diferenciação dos organitos celulares.

Foi ainda ao Dr. David-Ferreira que coube a tarefa de organizar o Laboratório de Microscopia Electrónica do Instituto de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina de Lisboa que, sendo o pioneiro no nosso país, foi também o primeiro laboratório da Península Ibérica a poder realizar investigação no domínio da ultraestrutura celular.

A instalação desta, como mais tarde, de outras unidades de investigação em M.E. só foi possível graças à colaboração inestimável da Fundação Calouste Gulbenkian, através do seu Serviço de Ciência superiormente dirigido por essa personalidade de reconhecida competência e elevada estatura moral que foi o saudoso Dr. Ribeiro dos Santos. Entre as primeiras dessas unidades figuram o Centro de Microscopia Electrónica Calouste Gulbenkian da Universidade do Porto, em 1965-66, e alguns anos mais tarde o Laboratório de Microscopia Electrónica da Universidade de Coimbra dos quais falaremos mais adiante.

Uma análise detalhada e devidamente documentada do que tem sido a acção desenvolvida por esta Instituição, no âmbito das Ciências Biomédicas no nosso país, pode encontrar-se na comunicação apresentada pelo Prof. J. David-Ferreira, aquando da homenagem pública à Fundação Calouste Gulbenkian promovida recentemente (1986) pela Direcção da Sociedade de Ciências Médicas de Lisboa. Por isso, limitar-

-nos-emos a citar duas passagens dessa comunicação que, só por si, ilustram cabalmente o papel desempenhado pela Fundação no desenvolvimento da microscopia electrónica em Portugal. Diz o Dr. David-Ferreira: «dos 12 microscópios electrónicos que hoje equipam as várias Faculdades de Medicina (estava-se no ano de 1986), nove foram oferecidos pela Fundação Calouste Gulbenkian». E mais adiante: «Todos os actuais professores de Histologia e Embriologia das Faculdades de Medicina do país assim como os seus discípulos fizeram a sua preparação ou tiveram em devido tempo meios de trabalho graças a subsídios, bolsas e doações da Fundação» (13). Acrescentarei apenas que esta colaboração se estendeu a outras áreas, para além das Ciências Médicas, nomeadamente a Botânica (eu próprio fui bolseiro da Fundação ...) podendo dizer-se, sem receio de errar, que há 30 anos, falar de microscopia electrónica em Portugal era falar da Fundação Calouste Gulbenkian! ...

Então é de toda a justiça realçar aqui uma verdade insofismável: no âmbito das actividades científico-culturais subsidiadas pela Fundação Calouste Gulbenkian, esta Instituição é credora do reconhecimento dos microscopistas portugueses pela inestimável ajuda que dela receberam nomeadamente numa fase tão crucial para o desenvolvimento desta área do conhecimento como foram as décadas de 50 e 60.

— Mas continuemos a nossa história ...

No final dos anos 50, portanto, o Instituto de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina de Lisboa era o único Centro português onde se podia fazer investigação em M.E.. Aí surgiram os primeiros trabalhos efectuados em Portugal na área da Botânica, nomeadamente dos vírus vegetais, mercê da frutuosa colaboração entre David-Ferreira e Maria de Lourdes Borges. Simultaneamente, alguns, poucos, portugueses iniciaram-se no estrangeiro nesta aliciante técnica de investigação biológica como complemento de trabalhos que vinham realizando. É o caso de Montezuma de Carvalho (biólogo) que no Instituto John Innes em Inglaterra, preparava a sua tese de doutoramento e de Miguel Mota (agrónomo) que em 1958 se iniciava em microscopia electrónica em Argonne (Illinois) nos E.U.A., ambos utilizando, pelo menos inicialmente, material vegetal e, coincidência curiosa, interessando-se por um problema comum: o da estrutura do cromossoma, nomeadamente da região centromérica.

E aqui, uma referência especial é devida a este segundo investigador, pois, com toda a justiça o digo, foi uma das pedras basilares na implantação da M.E. no nosso país. Incansável, dinâmico, crítico pertinente, mordaz quando necessário, o Eng. Miguel Mota foi, desde a primeira hora, um entusiasta da M.E.

Este entusiasmo, não raras vezes matizado por laivos de idealismo que o tornavam mais aliciante, contagiava saudavelmente tudo e todos!... Foi este estado de espírito que o levou, desde o início da década de 50 (ou seja, logo após a realização do 1.º Congresso Internacional da especialidade que teve lugar em 1949 em Delft, na Holanda) a pugnar denodadamente pela aquisição de um M.E. para o Serviço em que trabalhava o que, certamente por incompreensão das entidades responsáveis, só bastante mais tarde viria a conseguir. Este interesse pelos avanços tecnológicos no domínio da microscopia, este vanguardismo no bom sentido da palavra..., tem aliás sido uma constante em toda a sua vida de investigador. Efectivamente, vinte anos mais tarde, é ainda ele dos primeiros no nosso país a interessar-se pela microscopia de «scanning» e mais tarde a fazer observações em microscopia electrónica de muito alta voltagem. Os reveses nunca o fizeram esmorecer!... Ansioso por acompanhar de perto essa autêntica maré de evolução que por todo o Mundo começava a revolucionar a biologia celular, regressa aos E.U.A. (Filadélfia – Institute for Cancer Research) em 1962 onde vem a conhecer o seu compatriota Manuel Teixeira da Silva, oriundo do Serviço de Bacteriologia da Faculdade de Medicina do Porto, que então se iniciava em M.E. para desde logo começar a trilhar de modo brilhante os ainda obscuros caminhos da infraestrutura dos Procarióticos bacterianos. Estava encontrada outra pedra essencial dos alicerces da M.E. em Portugal. Com a sã amizade que imediatamente se desenvolveu entre os dois jovens investigadores, na sequência deste encontro fortuito em terras estrangeiras, muito vieram a beneficiar os microscopistas portugueses.

E entretanto o que se passava por cá? Os ventos de mudança nos métodos de investigação em biologia celular eram imparáveis, o M.E. instalado na Faculdade de Medicina de Lisboa e as primeiras imagens de ultraestrutura celular aí obtidas constituíam um foco de atracção para os citologistas portugueses. O entusiasmo pela microscopia electrónica cresce em flecha!... Em algumas Instituições, nomeadamente universitárias, pugna-se pela aquisição de equipamento e solicitam-se

bolsas de estudo para especialização nesta área. É justo salientar que este entusiasmo dos mais novos foi, em alguns casos, acompanhado do caloroso apoio de Mestres esclarecidos que, numa atitude antirotineira, pouco vulgar na época, incentivaram os seus colaboradores, proporcionando-lhes condições, removendo dificuldades, enfim facilitando-lhes a prossecução dos seus objectivos. Sem pretender ser exaustivo, posso dizer que, para além de outros já citados nesta comunicação, os Profs. Sarmiento Beires e Larose Rocha da Universidade do Porto, Abílio Fernandes de Coimbra e Flávio Rezende de Lisboa são credores do reconhecimento dos microscopistas portugueses.

Citemos então alguns dos acontecimentos mais significativos integrantes deste movimento que se operou na década de 60 e foi decisivo para a ulterior evolução da microscopia electrónica no nosso país.

Em 1962, David-Ferreira pede a demissão de assistente da Faculdade de Medicina de Lisboa, na sequência de um convite que lhe é endereçado pela Fundação Calouste Gulbenkian e parte para os E.U.A. (onde continua o seu trabalho de investigação e visita várias Instituições), enquanto prosseguem as obras do futuro Centro de Biologia de Oeiras.

No mesmo ano, Rezende-Pinto, então professor agregado no Instituto Botânico da Universidade do Porto e Roberto Salema, assistente da mesma Instituição, iniciam-se nas técnicas de microscopia electrónica graças à aquisição recente de um ultramicrotomo «Porter-Blum», «peça rara» e única no nosso país, a norte do Tejo!... Nas observações utilizam o único M.E. então existente em Portugal que, como já se referiu, era o «RCA» do Instituto de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina de Lisboa. Durante meia dúzia de anos, mercê da disponibilidade e colaboração do seu Director Prof. Xavier Morato, este Instituto foi, por assim dizer, um «lugar de peregrinação dos militantes» da M.E. em Portugal pois, entre 1958-65, a quase totalidade dos pioneiros por ali passaram durante períodos de tempo mais ou menos longos. Para além de David-Ferreira e Maria José Correia, recordo Maria de Lourdes Borges, Rezende-Pinto, Roberto Salema, Teixeira da Silva, Nascimento Ferreira, Teixeira Pinto e eu próprio.

Em 1964, em Coimbra, o Prof. Abílio Fernandes, Director do Instituto Botânico, e eu mesmo, concordámos ser de grande utilidade para o Departamento e para a própria Universidade a minha especialização em microscopia electrónica. Neste contexto parto para o Porto onde, em

princípio sob a orientação do Prof. Rezende-Pinto, trabalho nas condições atrás referidas, durante cerca de um ano. Porém, entre outras dificuldades, é evidente que preparar amostras num Laboratório e ir observá-las a 300 km de distância não era uma solução aliciante, nem garantia de rendimento minimamente satisfatório. Eis porque, no ano seguinte (Novembro, 1965) embarco para Paris para fazer um estágio no Instituto Botânico d'Orsay dirigido pelo Prof. Mangenot e, pouco tempo depois (Abril, 1966), Roberto Salema toma resolução idêntica, ao ausentar-se para o Canadá onde trabalha no Departamento de Botânica da Universidade de Toronto, sob a orientação do Prof. N. P. Badenhuizen. Aí realiza uma parte fundamental da sua tese de doutoramento que contém significativos avanços no domínio da ultraestrutura e regulação da amilogénese em plantas superiores.

Entretanto (1964-65), António Coimbra, 1.º Assistente no Instituto de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina do Porto, de que era Director o Prof. Manuel Silva Pinto, tinha-se também ausentado para o Canadá onde, no Departamento de Anatomia da Universidade de McGill dirigido pelo Prof. C. Leblond, fazia investigação nomeadamente em autorradiografia ultraestrutural. De salientar o alto significado que estes trabalhos viriam a ter na evolução da microscopia electrónica em Portugal, pois pode dizer-se que António Coimbra, para além de pioneiro, foi o principal responsável pela implementação, no nosso país, desta técnica tão importante em estudos de dinâmica intracelular.

No mesmo laboratório havia de estagiar também Mário Nascimento Ferreira, outro médico a figurar na lista dos que primeiramente utilizaram o M.E. em Portugal. Enfim, Cunha Vaz, oftalmologista de Coimbra a trabalhar nos E.U.A. incluía aspectos ultraestruturais na sua tese.

Assim vai a microscopia electrónica entre os portugueses, em meados da década de 60...

Estava próximo o acontecimento que se viria a revelar o mais importante em toda esta história — a criação da Sociedade Portuguesa de Microscopia Electrónica (S.P.M.E.).

Miguel Mota e Teixeira da Silva já tinham voltado dos E.U.A. e procuravam melhorar as condições de trabalho nos seus Serviços; David-Ferreira acaba de chegar, também da América, para se ocupar da organização do Centro de Biologia da Fundação Calouste Gulbenkian

em Oeiras; António Coimbra regressara do Canadá e Roberto Salema ainda não tinha deixado o nosso país. Pois foram estes jovens investigadores, oriundos de Instituições diferentes e trabalhando em áreas diversificadas, que, em reunião havida na Faculdade de Ciências de Lisboa, se propuseram fundar em Portugal uma Sociedade de Microscopia Electrónica, à semelhança de outras congéneres, já então existentes em vários países da Europa e da América. De um modo geral a proposta foi bem aceite e eu mesmo, entretanto chegado do estrangeiro, incluo-me entre os que, desde a primeira hora, aderiram à ideia com entusiasmo. Apesar de tudo, e como sempre acontece em «tempos de mudança», uma certa resistência e alguma incompreensão tiveram de ser vencidas...

Assim nasceu a S.P.M.E., que em princípio ficou filiada na S.P.C.N., para maior rapidez na aprovação dos Estatutos, e da qual se veio a separar em 1971, era então Presidente da Sociedade o Prof. Tavares de Sousa da Universidade de Coimbra.

Uma Sociedade Científica digna desse nome, porém, tem de ser uma Associação que pugne deliberada e entusiasticamente pelo desenvolvimento do saber na sua área específica. Assim o entenderam, e bem, os membros da S.P.M.E. ao aprovarem os Estatutos que impõem, como actividade fundamental da Direcção eleita anualmente, a realização de um colóquio para apresentação dos resultados obtidos na investigação desenvolvida ao longo do ano. Aí, no dizer de António Coimbra (17) «esses resultados são criticados e filtrados num salutar processo de maturação, antes da sua publicação no estrangeiro». E, com efeito, a Sociedade que comemora este ano o seu 23.º aniversário vai promover a realização, no próximo mês em Coimbra, da sua 24.ª Reunião. Convenhamos, que não serão muitas as Sociedades Científicas que no nosso país se podem orgulhar deste palmarés!...

A partir de agora, pode dizer-se que a história da microscopia electrónica em Portugal, pelo menos no que se refere às Ciências Médicas e à Biologia em geral, se identifica com a actividade da S.P.M.E.

Uma análise desta actividade foi feita recentemente, de modo brilhante, por um dos mais distintos fundadores desta Agremiação Científica, concretamente o Prof. A. Coimbra, numa comunicação apresentada na 21.ª Reunião Anual, aquando da comemoração dos 20 anos da Sociedade (17). Com a devida vénia, respigo duas passagens esclarecedoras, por um lado das motivações que levaram à criação da Sociedade, e por outro lado, das brilhantes facetas que têm enquadrado a sua actividade.

Diz o Prof. A. Coimbra: «Cogitou-se finalmente que a actividade de uma sociedade moderna e eficiente ajudaria talvez a diminuir o trágico isolamento dos investigadores portugueses trabalhando em Faculdades quase exclusivamente polarizadas para o ensino pré-graduado profissionalizante». E mais adiante: «Promovem-se simpósios, quase sempre confiados a eminentes cientistas convidados, realizam-se cursos técnicos ..., publica-se a relação da bibliografia portuguesa do género». Ou ainda, a propósito da disposição estatutária que obriga à eleição anual do Corpo Directivo: «Direcções novas, cultivando um sã perfeccionismo e uma activa emulação entre si, constituiriam antídoto seguro contra a rotina e o culto do consagrado 'senhor professor', eterno presidente!» (17).

Retomando a nossa história, a partir de 1.^a Reunião da Sociedade (1966), em consonância com a distribuição do equipamento e do pessoal preparado para o utilizar, a microscopia electrónica como que se vai polarizando progressivamente em três regiões do país: zona da grande Lisboa, Porto e, mais tarde, Coimbra.

Assim, no âmbito do Serviço de Ciência da Fundação Calouste Gulbenkian é inaugurado o Centro de Biologia em Oeiras (10 de Julho de 1967) dirigido interinamente por David-Ferreira, em consequência do recente falecimento do Prof. Flávio Rezende. O Laboratório de Biologia Celular, excelentemente equipado, torna-se assim, nesta zona do país, um importante núcleo de divulgação e investigação em microscopia electrónica. Aí, sob a orientação do seu Director David-Ferreira, iniciam-se e desenvolvem trabalho nesta área, bolseiros provenientes de várias Instituições portuguesas e estrangeiras, nomeadamente as Faculdades de Medicina e Ciências de Lisboa e Coimbra, Estação Agronómica Nacional (EAN), Escola Superior de Medicina Veterinária, Universidades Brasileiras do Rio de Janeiro e S. Paulo. Dos referidos bolseiros portugueses, com estada significativa, recordo Guerra-Rodrigo, Cardoso Pessoa e Lucinda Mata, de Lisboa, Rogério Teixeira, de Coimbra, entre outros. No capítulo das relações internacionais e post-graduação, salienta-se a colaboração do Centro nos Estudos Avançados de Oeiras e principalmente a organização da «III International School of Electron Microscopy», acontecimento marcante para a história da Microscopia portuguesa, pelo elevado número de especialistas estrangeiros de renome que então se reuniram em Portugal.

Entretanto, no Porto, acaba de ser inaugurado o Centro de Microscopia Electrónica Calouste Gulbenkian (Outubro de 1966).

O interesse e dedicação do seu primeiro Director, Prof. Laroze Rocha, a elevada idoneidade das pessoas que de facto constituíram o embrião deste Centro (nomeadamente Teixeira da Silva, António Coimbra, Roberto Salema e Carvalho-Guerra), tudo isto associado a uma franca colaboração e excelente camaradagem, fizeram milagres!... A afluência ao «Campo Alegre» era muito grande...; trabalhava-se de dia e de noite... em «sessões contínuas»!... Duvido mesmo que em algum canto do Mundo haja microscópio que tanto tenha aguentado!... E, por mais incrível que pareça, esse Elmiskop 1, autêntico «Volkswagen» da microscopia electrónica..., ainda hoje lá está... operacional... e «rindo-se muitas vezes dos azares dos seus colegas mais novos e altamente sofisticados»!

Apesar desta sobrelotação, durante a meia dúzia de anos que precederam a instalação do segundo microscópio electrónico no Porto (Faculdade de Medicina) desenvolveu-se no «Campo Alegre» uma actividade científica a todos os títulos notável, para a época!... Com efeito, ressaltando alguma omissão involuntária, recordo que nesse período ali iniciaram ou terminaram as suas teses de doutoramento, nas áreas mais diversificadas, Teixeira da Silva, Roberto Salema, Manuel Miranda Magalhães, António Lopes Vaz, Vítor Faria, Maria da Conceição Magalhães, Alexandre de Sousa Pinto, Mesquita Guimarães e eu próprio. Todos prosseguiram as suas carreiras académicas e são hoje professores catedráticos ou investigadores nas nossas Universidades.

É sabido que na investigação experimental, o pessoal técnico de laboratório tem um papel de destaque. Em microscopia electrónica, então, este aspecto reveste-se de uma importância vital dada a delicadeza dos métodos e técnicas e consequente morosidade da preparação de pessoal competente. Assim, nesta história da microscopia electrónica em Portugal, também o pessoal técnico pioneiro tem um lugar de relevo... Sem desprimor para os técnicos mais jovens, relembro os que, no Porto, nos acompanharam mais de perto nos tempos difíceis da década de 60 e que, felizmente, ainda hoje se mantêm fiéis à M.E.. Refiro-me a Andréa Filipe, Maria Helena Pereira, Maria Alice Guimarães e Maria Irene Barros. Em Lisboa, além de José Carlos Lemos, impõe-se um destaque particular para Karin Ferreira, técnica de formação superior com importante *curriculum* no domínio da colaboração científica. A sua preparação iniciou-se em Villejuif (França) com Wilhelm Bernhard, tendo deixado este laboratório após o seu casamento com David-Ferreira. Acompa-

nhando então este investigador no seu regresso a Portugal, no final da década de 50, foi a primeira técnica especializada em microscopia electrónica a trabalhar no nosso país e que muito tem contribuído para a formação de especialistas nesta área.

Entretanto, na investigação levada a cabo por docentes do Instituto Botânico de Lisboa, a citologia ultrastrutural aparece também, como complemento de trabalhos de outra índole (caso de Fernando Mangas Catarino) ou como metodologia fundamental (caso de Maria Salomé Pais que, em Marselha, se inicia em microscopia electrónica com Roger Buvat). Maria Salomé Pais, com entusiasmo digno de realce virá, aliás, a revelar-se um importante elemento dinamizador da M.E. aplicada à Biologia Vegetal na Faculdade de Ciências de Lisboa, na última década.

A Universidade de Coimbra, por razões de vária ordem e em flagrante contraste com o que se passou em Lisboa e no Porto, chegou ao início da década de 70 com muita pouca gente a fazer realmente investigação em microscopia electrónica (2-3 pessoas contando comigo!). Reconheça-se que foi um atraso, cuja recuperação se tem revelado difícil! ... Talvez em consequência deste escasso número de potenciais utentes, foi necessário esperar até 1973 para se ter em Coimbra um M.E. operacional, quando já existiam quatro em Lisboa e dois no Porto. A aquisição, na mesma altura, pela Faculdade de Medicina, de um pequeno M.E. - «JEOL-50» («lupa electrónica»!!) veio a revelar-se uma medida pouco acertada, pela ineficácia e quase completa inutilidade deste aparelho.

A história da microscopia electrónica em Coimbra desenvolveu-se, por assim dizer, em duas fases: a primeira, que nunca chegou à etapa da concretização, começou há mais de 30 anos, em 1955, aquando da inauguração do edifício da Faculdade de Medicina. No discurso então proferido pelo Ministro da Educação Professor Leite Pinto, este governante anunciou dotações orçamentais que permitiriam a aquisição de um M.E. não só para esta Faculdade, mas também para as suas congéneres de Lisboa e Porto. Ao que parece, por transferência de verbas de equipamento para outras rubricas, nomeadamente construções, a instalação do aparelho nunca chegou a concretizar-se.

Por razões de vária ordem que não cabe aqui pormenorizar, fracassaram também as tentativas ulteriores do Prof. Tavares de Sousa para equipar o seu Serviço de Histologia e Embriologia com um M.E.,

nomeadamente as iniciativas efectuadas junto da Fundação Calouste Gulbenkian.

No início da década de 60 renasceram as esperanças quando Mário Nascimento Ferreira, médico recém-licenciado em Coimbra, demanda terras lisboetas para se iniciar em microscopia electrónica com David-Ferreira (como já atrás referimos).

Não seria ainda desta vez, porém, que a microscopia electrónica ganharia raízes em Coimbra! ... Com efeito, Nascimento Ferreira, acompanhando o seu colega Teixeira Pinto, de Lisboa, em breve parte para Lourenço Marques afim de integrar o corpo docente do Curso Médico-Cirúrgico recém-criado no âmbito dos Estudos Gerais Universitários de Moçambique. Daqui, partiria como bolsheiro para o Canadá, sendo então substituído nas suas funções docentes por Vasco Bairos. Este investigador, desde muito cedo interessado pela microscopia electrónica, regressou efectivamente à sua Faculdade de origem onde está desenvolvendo louváveis esforços para que esta recupere, nesta área, o atraso de que foi vítima ...⁵.

Em 1964, portanto, a microscopia electrónica em Coimbra estava, por assim dizer, em «ponto morto» ... quando se inicia a 2.ª fase da sua história.

Tendo sido um dos intervenientes no processo, não vou folhear o longo «dossier», que culminou com a instalação do primeiro aparelho em Coimbra («Siemens-Elmiskop 101») ... Seria porém falsa modéstia ou lacuna injustificável desta resenha histórica, se deixássemos de referir que nesta 2.ª fase realmente conducente à introdução da microscopia electrónica na Universidade de Coimbra, o Instituto Botânico foi o verdadeiro motor.

Na verdade, embora com apoio de outras entidades universitárias nomeadamente a Direcção da Faculdade (Prof. Coteló Neiva), o Senado e a Reitoria (Prof. Andrade Gouveia), as principais iniciativas nasceram sempre no Instituto Botânico por intermédio do seu Director Abílio Fernandes e de mim próprio. Em jeito de conclusão, direi apenas que não é fruto do acaso o facto do Laboratório de Microscopia Electrónica (apesar de inicialmente previsto para toda a Universidade de Coimbra), ter sido instalado na Faculdade de Ciências e hoje estar, de direito e de facto, integrado no Instituto Botânico⁶. Aliás, esta correlação Botânica-M.E. na Universidade de Coimbra, está patente na Bibliografia

portuguesa da especialidade e a ela não será também alheia o facto das sete presidências da S.P.M.E. até agora sediadas em Coimbra (incluindo a do presente ano), cinco terem cabido ao Instituto Botânico, presidências que, algumas vezes, contaram com a prestimosa colaboração de consócios da Faculdade de Medicina como António Carvalheira, Adelaide Almeida Santos, Magalhães Santana e Helena Figueiredo.

Contudo, ao Projecto «M.E. em Coimbra» não estavam destinados dias favoráveis! ... Pouco tempo após a instalação do aparelho surgem os acontecimentos do 25 de Abril (1974) que, como é do conhecimento público, abalaram profundamente as Universidades, sendo, como foi, a F.C.T.U.C. uma das mais atingidas do País ... O Projecto ruiu, a criação do Centro de Microscopia Electrónica (com Estatutos e orçamento independente) nunca chegou a concretizar-se, o «timming» perdeu-se! ... Contudo, nos tempos difíceis que então se seguiram, é ainda e mais uma vez o Instituto Botânico (por meu intermédio e com a prestimosa ajuda de colaboradores entretanto preparados, nomeadamente Fátima Santos e Santos Dias) que toma iniciativas no sentido de divulgar e incentivar a prática da microscopia electrónica. Para além de seminários e cursos de reciclagem, recorro a realização de um «Curso de Microscopia Electrónica» para licenciados de Biologia, Medicina e Farmácia, ainda em 1974, e a organização da «X Reunião da S.P.M.E.», que teve lugar no ano «explosivo» de 1975! ...

O tempo, porém, não era propício ..., pelo que os efeitos destas iniciativas ficaram muito aquém do desejável! ... Certamente todas estas situações desfavoráveis não deixaram de ter repercussões e poderão explicar, pelo menos parcialmente, o lento crescimento do número de praticantes de microscopia electrónica em Coimbra.

Ainda no início dos anos 70, mais tardiamente que em Moçambique, mas com mais eficácia, a microscopia electrónica chega também a Angola, mercê da iniciativa e competência de Teixeira da Silva e do dinamismo de um grupo de médicos da Escola do Porto, entre os quais recordo Cadete Leite e Freitas da Fonseca. A eles se ficou a dever, em grande parte, a realização da 8.^a Reunião da S.P.M.E. que teve lugar em Luanda em finais de 1973 e foi precedida de um «Curso de microscopia electrónica» ministrado por especialistas portugueses⁷. Mas, também em Angola, o complicado processo de independência que se seguiu ao 25 de Abril de 1974, veio truncar a actividade de um grupo de investigação nesta área que se adivinhava promissor ...

Entretanto, fora do País, outros portugueses são atraídos pela microscopia electrónica: Carlos Azevedo inicia-se na Suíça e vem a ser pioneiro e um dos grandes impulsionadores em Portugal de estudos estruturais na área da Zoologia (Vertebrados e Invertebrados). Nos E.U.A., Pedro Pinto da Silva começa uma carreira de investigação que em breve se veria a revelar brilhante, nomeadamente pelos notáveis avanços que os seus estudos em criofractura têm representado, na compreensão da arquitectura molecular e funcionamento de biomembranas. Na mesma linha trabalha Fernando Henriques em Berkeley (Califórnia) obtendo importantes resultados no estudo das relações estrutura-função em membranas fotossintéticas de plantas superiores. Finalmente, Luís Oliveira, após a sua iniciação no Centro de M.E. (Porto), parte para o Canadá, onde desenvolve trabalho na área da Ficologia (Algas castanhas).

Em Portugal, Lisboa/Oeiras, Porto e Coimbra, continuam a ser os três pontos habituais de reunião dos microscopistas portugueses.

Um relance pelo calendário das reuniões anuais da Sociedade (Quadro I) mostra isso mesmo, pois, exceptuando Luanda (com motivações específicas ...) essa alternância mantém-se até 1983.

A participação frequente de espanhóis nas nossas reuniões e o salutar entendimento e cooperação que desde início caracterizaram as relações entre as Sociedades Portuguesa e Espanhola de Microscopia Electrónica, conduziram à resolução de se realizarem reuniões conjuntas de 4 em 4 anos (alternadamente em Portugal e Espanha), na presunção, quanto a nós já confirmada, de que daí resultariam benefícios para os microscopistas dos dois países Ibéricos. Este facto, e o alargamento das Reuniões a outras cidades, nomeadamente universitárias, como forma de incentivar a formação de novos núcleos de investigação em microscopia electrónica, conduziram à interrupção do ciclo habitual Lisboa-Porto-Coimbra, a partir de 1984 (Quadro I).

Este interesse crescente pela investigação na área da microscopia electrónica no nosso país é bem patente quando se analisa a distribuição dos M.E. e a sua evolução ao longo de 30 anos (Quadros II e III e Figs. 1 e 2). Contudo, a existência de apenas um aparelho no sector fabril, mostra, por outro lado, que a consciencialização dos industriais portugueses pelas enormes potencialidades da microscopia electrónica, é ainda muito débil (Quadro II).

<i>Local</i>	<i>Data</i>	<i>Presidência</i>
Porto	DEZEMBRO/1966	A. Laroze Rocha
Oeiras	DEZEMBRO/1967	A. Laroze Rocha
Coimbra	DEZEMBRO/1968	Abílio Fernandes
Oeiras	DEZEMBRO/1969	Miguel Mota
Porto	DEZEMBRO/1970	António Coimbra
Coimbra	DEZEMBRO/1971	A. Tavares de Sousa
Oeiras	NOV.-DEZ./1972	J. F. David-Ferreira
Luanda	DEZEMBRO/1973	A. Cadete-Leite
Porto	DEZEMBRO/1974	M. Teixeira da Silva
Coimbra	DEZEMBRO/1975	J. F. Mesquita
Lisboa	DEZEMBRO/1976	J. Moura Neves
Porto	DEZEMBRO/1977	Roberto Salema
Coimbra	DEZEMBRO/1978	J. F. Mesquita
Oeiras	DEZEMBRO/1979	J. F. David-Ferreira
Porto	NOVEMBRO/1980	M. Miranda Magalhães
Coimbra	NOVEMBRO/1981	J. F. Mesquita
Oeiras	DEZEMBRO/1982	Miguel Mota
Porto	NOVEMBRO/1983	Carlos Azevedo
Ronda (Espanha)	OUTUBRO/1984	J. F. Mesquita
Lisboa	OUTUBRO/1985	M. Nascimento Ferreira
Porto	OUTUBRO/1986	M. Conceição Magalhães
Évora	OUTUBRO/1987	Miguel Mota
Lisboa	DEZEMBRO/1988	J. F. David-Ferreira

Reuniões científicas organizadas anual e ininterruptamente pela SPME desde a sua fundação: indicam-se as cidades em que tiveram lugar as reuniões, os presidentes das Direcções responsáveis pela sua organização e as datas respectivas. Em 1980 e 1985 as reuniões foram realizadas conjuntamente com a Sociedade Anatómica Portuguesa e em 1984 e 1988 com a Sociedade Espanhola de M.E., respectivamente sob a designação de CIME-84 e IBEREM-88.

QUADRO II

<i>Ano</i>	<i>Marca (Modelo)</i>	<i>Local</i>
1958	RCA EMU-3	Faculdade de Medicina - Lisboa
1960	AKASHI - TRS-50 EI	Instituto de Medicina Tropical - Lisboa
1965	SIEMENS - ELMISKOP 1 A	Centro de M. E. Calouste Gulbenkian - Porto
1966	SIEMENS - ELMISKOP 1 A	Centro de Biologia - Oeiras
1969	SIEMENS - ELMISKOP 101	Centro de Biologia - Oeiras
1970	PHILIPS - EM 300	Estação Agronómica Nacional - Oeiras
1971	AEI	Centro de Ciotlogia Experimental - Porto
1971	PHILIPS - EM 300	Faculdade de Medicina - Lisboa
1972	SIEMENS - ELMISKOP 101	Faculdade de Medicina - Porto
1972	HITACHI 12	Fac. de Ciências (Inst. Botânico) - Lisboa
1973	SIEMENS - ELMISKOP 101	Instituto Botânico - Coimbra
1973	JEOL - JM-50	Fac. de Medicina (Inst. de Hist.) - Coimbra
1973	JEOL - JEM-100U	Hospital de S. João (Serv. Anat. Pat.) - Porto
1973	JEOL - JEM-100B	Fac. de Ciências (Centro de Gen.) - Lisboa
1974	JEOL - JEM-100C	Lab. Nac. Invest. Vet. (Serv. Bioq.) - Lisboa
1974	JEOL - JEM-100B	Hosp. de S. João (Inst. Hist. Emb.) - Porto
1974	PHILIPS - EM 301	Instituto Ricardo Jorge - Lisboa
1979	SIEMENS - ELMISKOP 102	Centro de Citologia Experimental - Porto
1981	JEOL - JEM-100S	CIRES (Comp. Ind. Res. Sint.) - Estarreja
1982	JEOL - JEM-100S	Fac. de Medicina (Inst. de Hist.) - Coimbra
1982	JEOL - JEM-100CXII	Faculdade de Medicina (Anat. Pat.) - Porto
1982	JEOL - JEM-100CXII	Centro de Biologia - Oeiras
1983	JEOL - JEM-100CXII	Fac. Ciênc. Méd. - Univ. Nova - Lisboa
1983	JEOL - JEM-100CXII	Faculdade de Medicina (Inst. Hist.) - Lisboa
1984	JEOL - JEM-100S	Hospital Central (Anat. Pat.) - Coimbra
1984	JEOL - JEM-200CX	Faculdade de Ciências (Dep. Biol.) - Lisboa
1986	JEOL - JEM-100CXII	Inst. Ciênc. Biom. Abel Salazar - Porto
1987	JEOL - JEM-100SX	Hospital Curry Cabral (Anat. Pat.) - Lisboa
1987	JEOL - JEM-100CXII	Lab. Nac. Invest. Vet. (Bioq.-M.E.) - Lisboa
1988	JEOL - JEM-100CXII	Faculdade de Medicina (Inst. Hist.) - Porto
1988	PHILIPS CM 10	Instituto Português de Oncologia - Lisboa

Microscópios de transmissão (TEM) em Portugal: cerca de 80% dos aparelhos encontram-se instalados em Universidades ou Instituições com elas relacionadas.

QUADRO III

Ano	Marca (Modelo)	Local
1976	ISI - SUPER MINI SEM	Univ. Nova - FCT (Dep. de Geol.) - Lisboa
1978	ISI - ALPHA 9	Depart. de Cerâmica - Univ. de Aveiro
1980	ISI - DS-130	Estação Agronómica Nacional - Oeiras
1981	JEOL - JSM-35C	Fac. Eng. (Depart. Tecn. Mat.) - Porto
1982	JEOL - JSM-35CF	L.N.E.T.I. (Depart. Tecn. Mat.) - Lisboa
1983	ISI	Univ. Nova (Fac. Ciênc. Méd.) - Lisboa
1983	JEOL - JCXA-733	Univ. Nova - FCT (Cent. de Geol.) - Lisboa
1986	JEOL - JSM-840	I.S.T. (Depart. de Met.) - Lisboa
1986	JEOL - JSM-T300	L.N.E.T.I. (Depart. Energ. Ren.) - Lisboa
1987	JEOL - JSM-T220	Fac. de Ciências (Depart. de Biol.) - Lisboa
1987	JEOL - JSM 330A	Fac. de Medicina (Inst. Hist.) - Coimbra
1987	JEOL - JSM 840A	F.C.T.U.C. (Lab. de Geol.) - Coimbra
1988	JEOL - JSM-T100	Fac. de Ciências (Lab. de Mic.) - Lisboa
1988	JEOL - JSM T330A	Univ. Nova (Cent. Estr. Paleo.) - Lisboa
	STEREOSCAN 600	Governo Reg. dos Açores - Ponta Delgada

Microscópios electrónicos de varrimento («scanning») (SEM) em Portugal: mais de 73% dos microscópios estão instalados em Instituições Universitárias.

Uma apreciação global da actividade dos microscopistas portugueses, patente nas 23 Reuniões da Sociedade que já tiveram lugar, permite-nos algumas considerações:

1. O constante intercâmbio científico traduzido, quer na vinda de especialistas estrangeiros às reuniões da S.P.M.E., quer na participação de investigadores em Congressos Internacionais e em programas de cooperação, a organização de cursos, «Workshops» e outras iniciativas congêneres mostra bem a preocupação dos

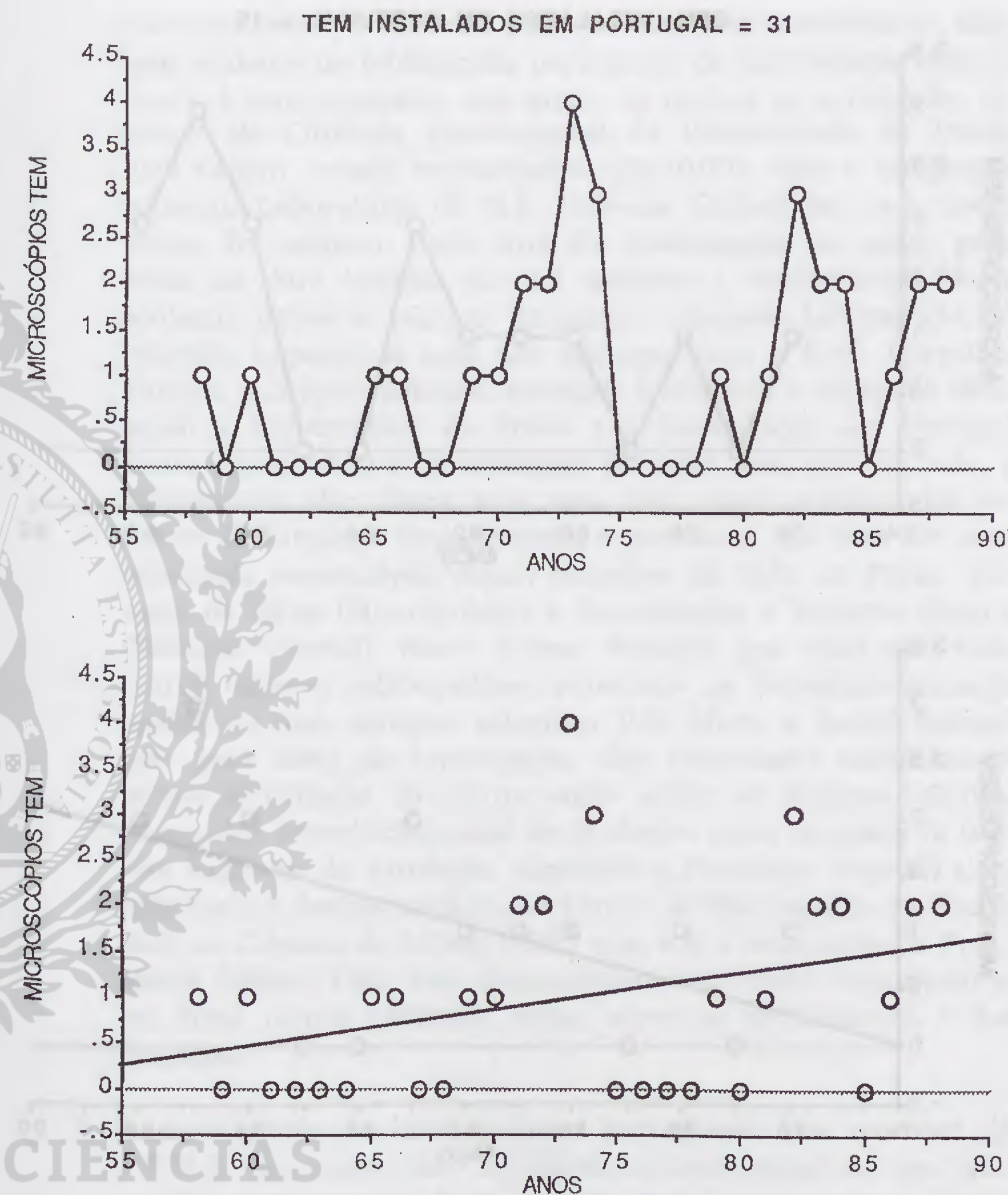


Figura 1

Gráfico da variação do número de microscópios electrónicos de transmissão (TEM) instalados em Portugal ao longo de 30 anos (1958-1988) (em cima) e respectiva curva de crescimento (em baixo).

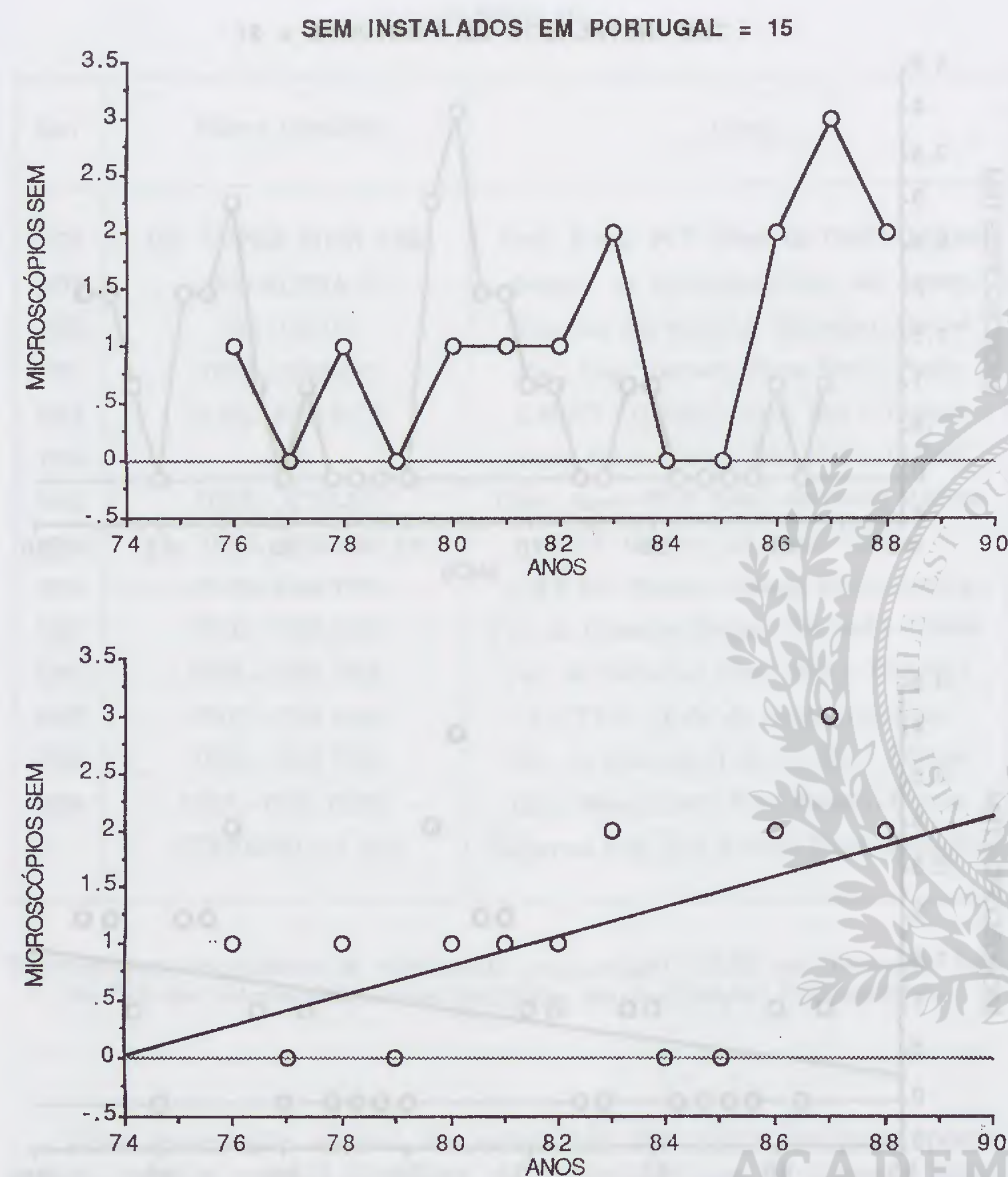


Figura 2

Gráfico da variação do número de microscópios electrónicos de «scanning» (SEM) instalados em Portugal (em cima) e respectiva curva de crescimento (em baixo). (Comparar com a Fig. 1).

microscopistas portugueses pela sua constante actualização, aliás bem evidente na bibliografia portuguesa de microscopia electrónica⁸. A este propósito, são ainda de realçar as actividades do Centro de Citologia Experimental da Universidade do Porto. Este Centro, criado recentemente (25/10/87), veio a integrar o primeiro Laboratório de M.E. Calouste Gulbenkian, que, como vimos, foi pioneiro nesta área de investigação no nosso país. Aliás, na dura batalha que foi também a concretização deste projecto, esteve o «Grupo Formativo» daquele Laboratório, já referido, impondo-se aqui um destaque para o Prof. Carvalho-Guerra, a cujo dinamismo, actuação inteligente e abnegada dedicação a Universidade do Porto e a investigação em Portugal muito devem. Não é de estranhar portanto que, por um lado, a microscopia electrónica seja uma das áreas privilegiadas no Centro de Citologia Experimental, e por outro, que dois dos seus principais responsáveis sejam pioneiros da M.E. no Porto: Teixeira da Silva (Microbiologia e Imunologia) e Roberto Salema (Biologia Vegetal). Neste último domínio que mais nos toca, outros valiosos colaboradores entretanto se formaram (citando apenas os mais antigos, relembro Ilda Abreu e Isabel Santos) que, para além da investigação, dão importante contributo a outras actividades do Centro como sejam os recentes «Cursos Avançados Interdisciplinares de Biologia» entre os quais já tiveram lugar os de Virologia, Algologia e Fisiologia Vegetal. Uma referência é devida também ao Centro de Microscopia da Faculdade de Ciências de Lisboa (1983) que, sob a orientação da Prof.^a Maria Salomé Pais, tem desenvolvido actividades significativas em áreas menos habituais, como sejam as da Didáctica e dos Serviços.

2. A participação de investigadores portugueses nas reuniões da S.P.M.E. tem aumentado significativamente, atingindo um total de 899 participações. Este número inclui comunicações livres, quer orais quer em Poster, sobre Biologia Animal (472), Biologia Vegetal (265), Microbiologia (107), Ciências dos Materiais (15) e ainda conferências de interesse geral ou comunicações sobre temas diversos (40). O valor médio do número de comunicações por ano que era de 37,5 até 1985 (18), passou para 38,7, subindo portanto 1,2 pontos em 3 anos (Fig. 3).

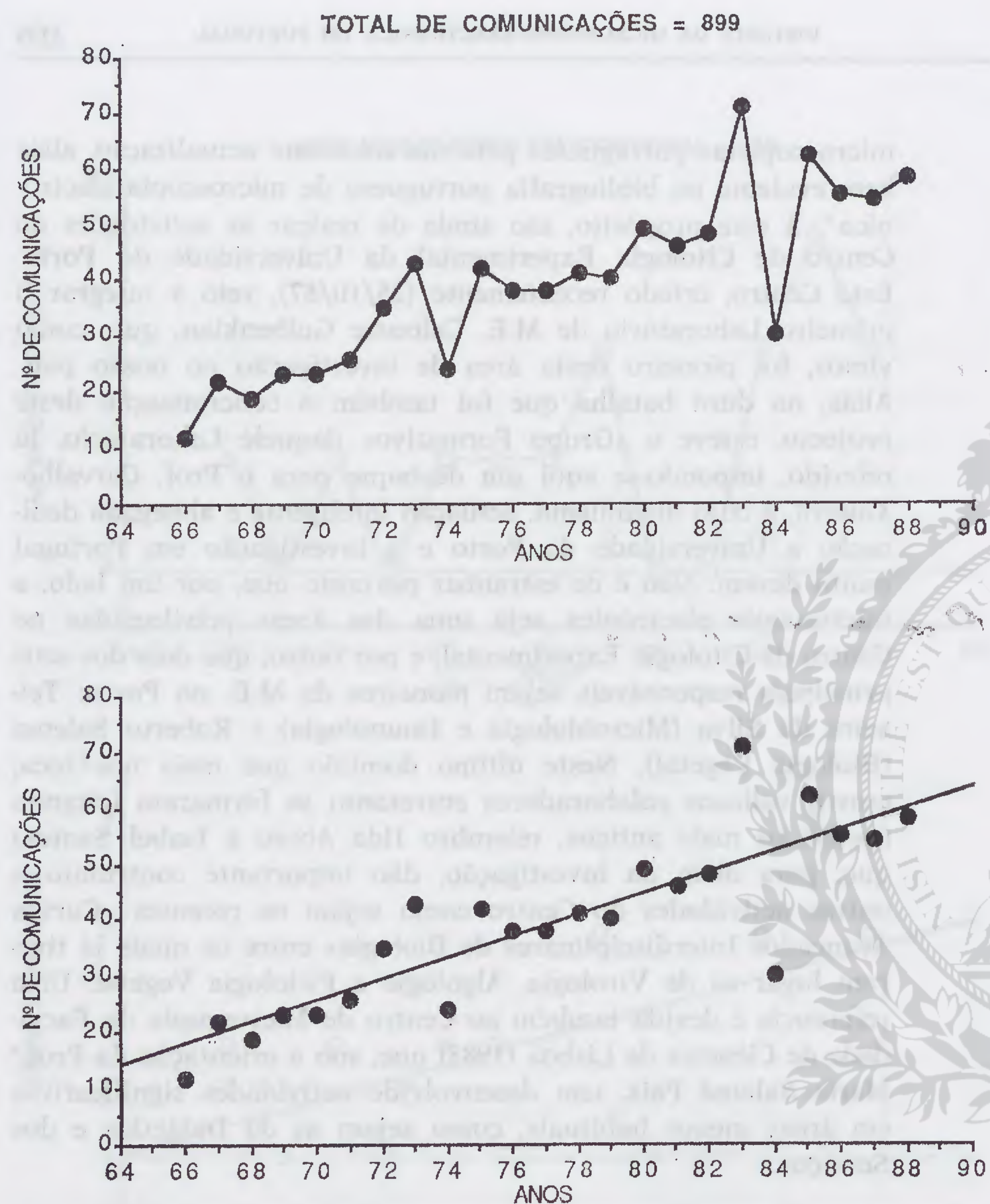


Figura 3

Gráfico da participação dos microscopistas portugueses nas Reuniões Anuais da SPME (1966-1988) (em cima) e respectiva curva de crescimento (em baixo). O incremento regular da participação é bem evidente. As duas quebras mais acentuadas que se observam no gráfico, correspondem aos anos de 1974 e 1984 e são facilmente explicáveis: a primeira, pela proximidade da Revolução de Abril com todas as modificações na Sociedade Portuguesa dela decorrentes; a segunda, pelo facto de se ter realizado em Espanha com as dificuldades financeiras normalmente inerentes às deslocações ao estrangeiro. O número total (899), inclui diferentes modalidades de participação (ver texto).

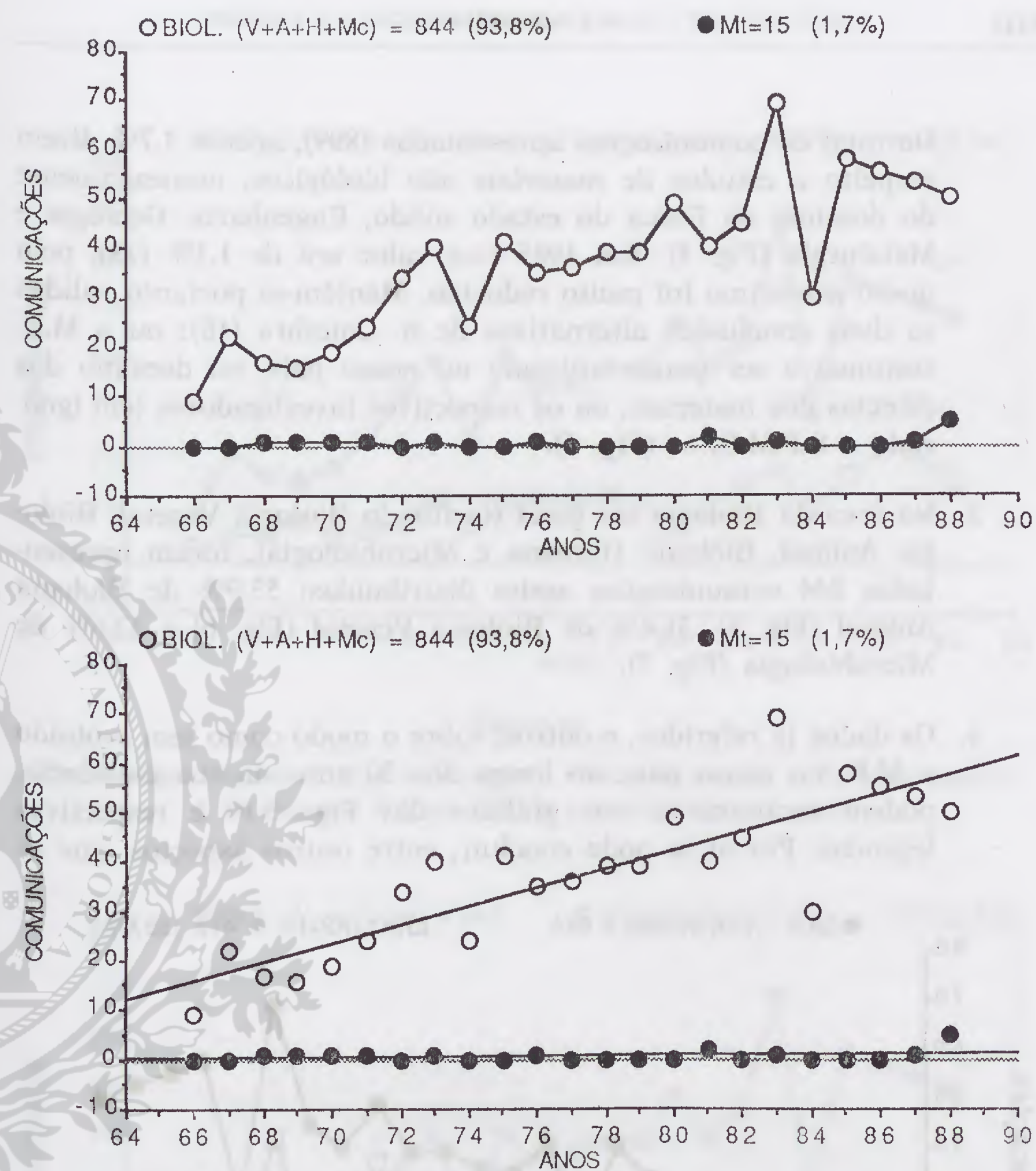


Figura 4

Comparação do número de comunicações apresentadas nas Reuniões da SPME nas áreas da Biologia (93,8%) e das Ciências dos Materiais (1,65%) (em cima) e respectivas curvas de crescimento (em baixo). Se o crescimento é muito significativo na primeira área ($y = 1.893$), na segunda, é quase nulo ($y = 0.043$).

LEGENDA VALIDA PARA TODOS OS GRÁFICOS:

- V — Biologia Vegetal (V1, células e tecidos vegetais; V2, vírus vegetais).
- A — Biologia Animal (A1, células e tecidos animais; A2, vírus animais).
- H — Biologia Humana - Ciências Médicas - (células e tecidos humanos).
- Mc — Microbiologia.
- Mt — Ciências dos Materiais.

Do total de comunicações apresentadas (899), apenas 1,7% dizem respeito a estudos de materiais não biológicos, nomeadamente do domínio da Física do estado sólido, Engenharia, Geologia e Metalurgia (Fig. 4). Em 1985 esse valor era de 1,3% (18), pelo que o acréscimo foi muito reduzido. Mantêm-se portanto válidas as duas conclusões alternativas de A. Coimbra (18): ou o M.E. continua a ser pouco utilizado no nosso país, no domínio das ciências dos materiais, ou os respectivos investigadores têm ignorado a S.P.M.E.!... (Fig. 4).

3. Na área da Biologia em geral (incluindo Biologia Vegetal, Biologia Animal, Biologia Humana e Microbiologia), foram apresentadas 844 comunicações assim distribuídas: 55,9% de Biologia Animal (Fig. 5), 31,4% de Biologia Vegetal (Fig. 6) e 12,6% de Microbiologia (Fig. 7).
4. Os dados já referidos, e outros, sobre o modo como tem evoluído a M.E. no nosso país, ao longo dos 30 anos da sua existência, podem encontrar-se nos gráficos das Figs. 3-10 e respectivas legendas. Por aí se pode concluir, entre outros aspectos, que as

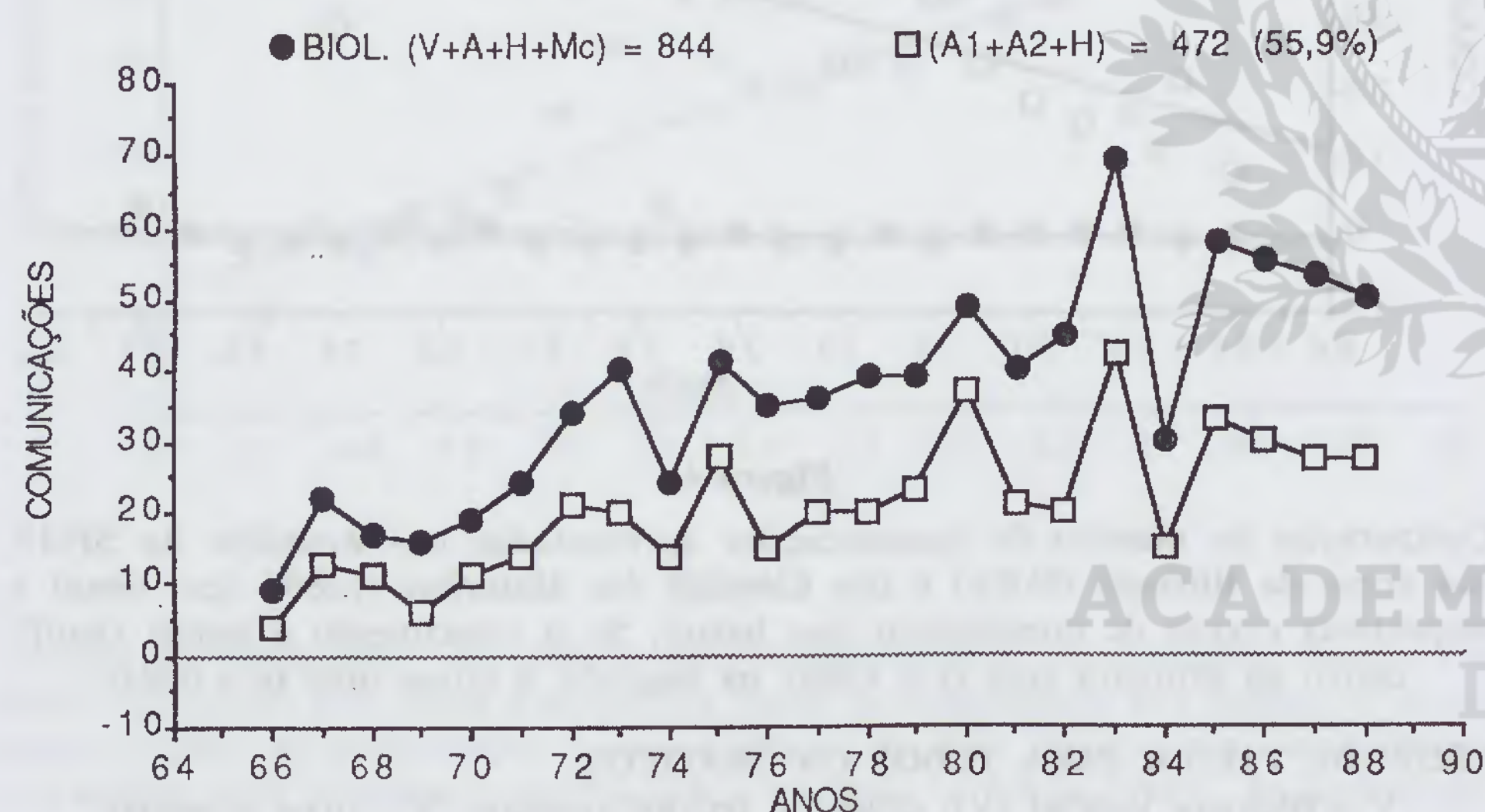


Figura 5

Na área da Biologia Animal, em que a participação é nitidamente superior à das outras áreas (55,9%), a variação acompanha de perto a da Biologia em geral.

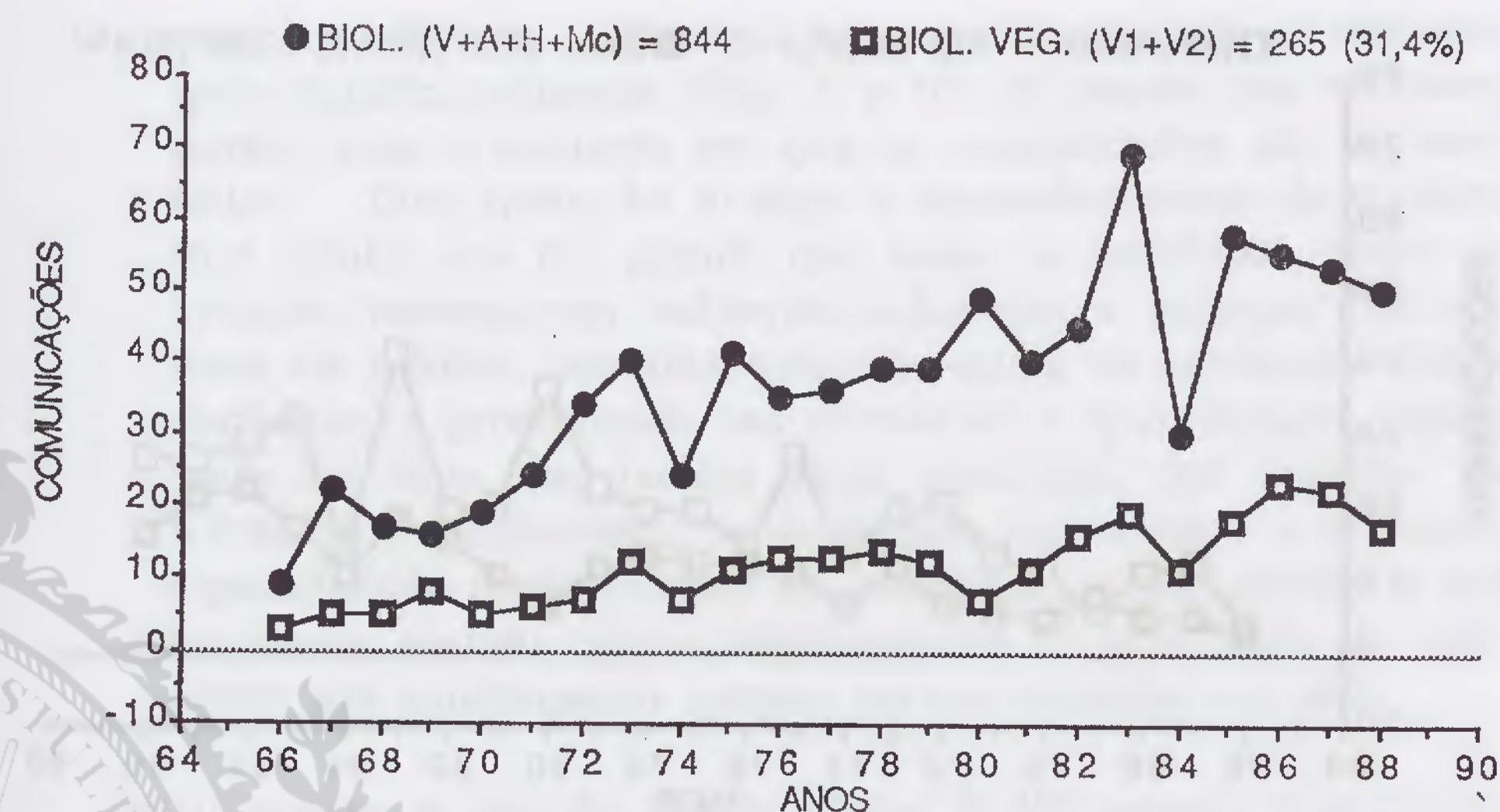


Figura 6

Em Biologia Vegetal (31,4%) a variação é menos acentuada, comparativamente à da Biologia Animal (Fig. 5) e da Biologia em geral.

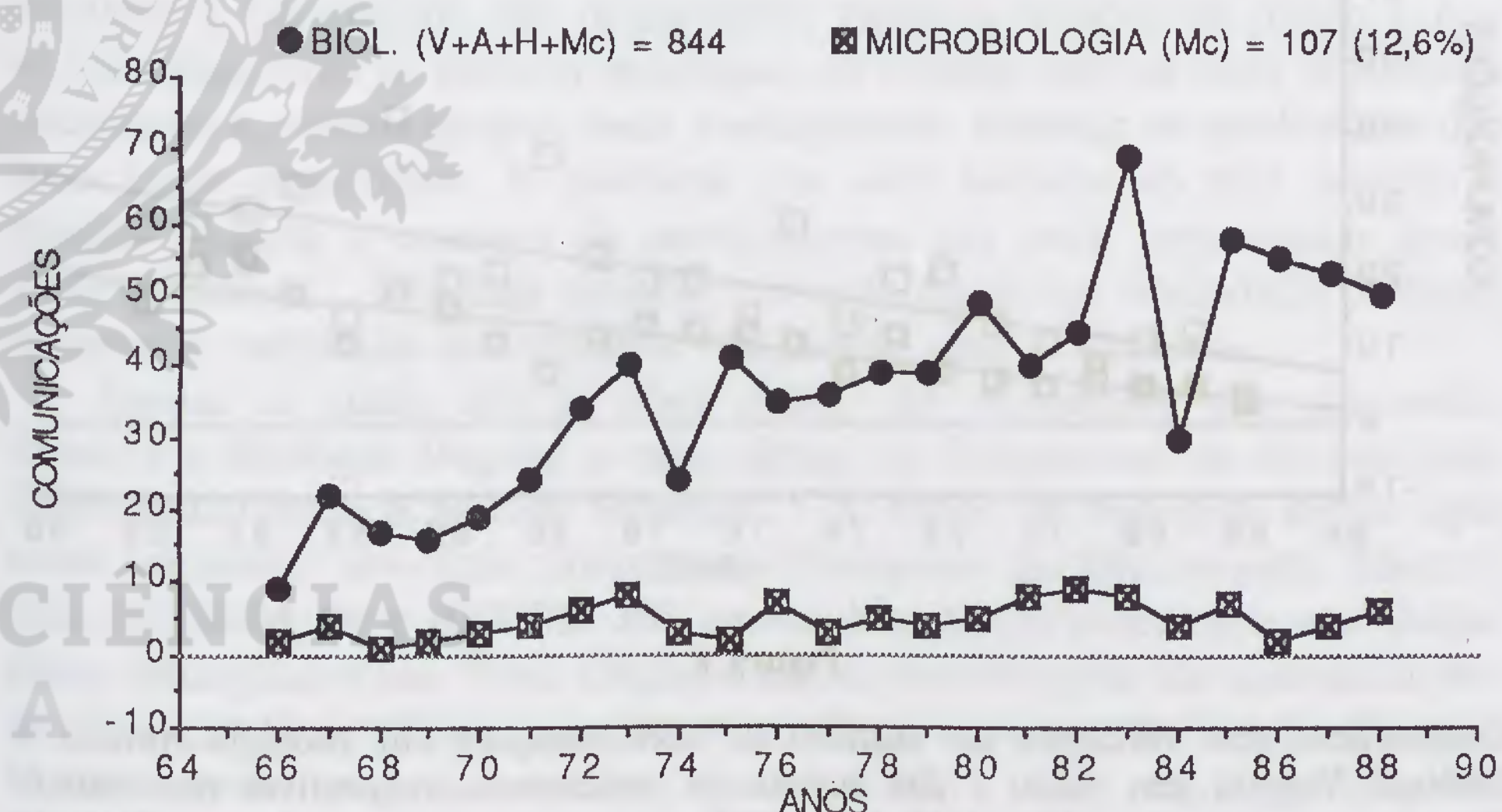


Figura 7

A Microbiologia corresponde à área da Biologia com participação mais reduzida (12,6%) e sem variações significativas (comparar com as Figs. 5 e 6).

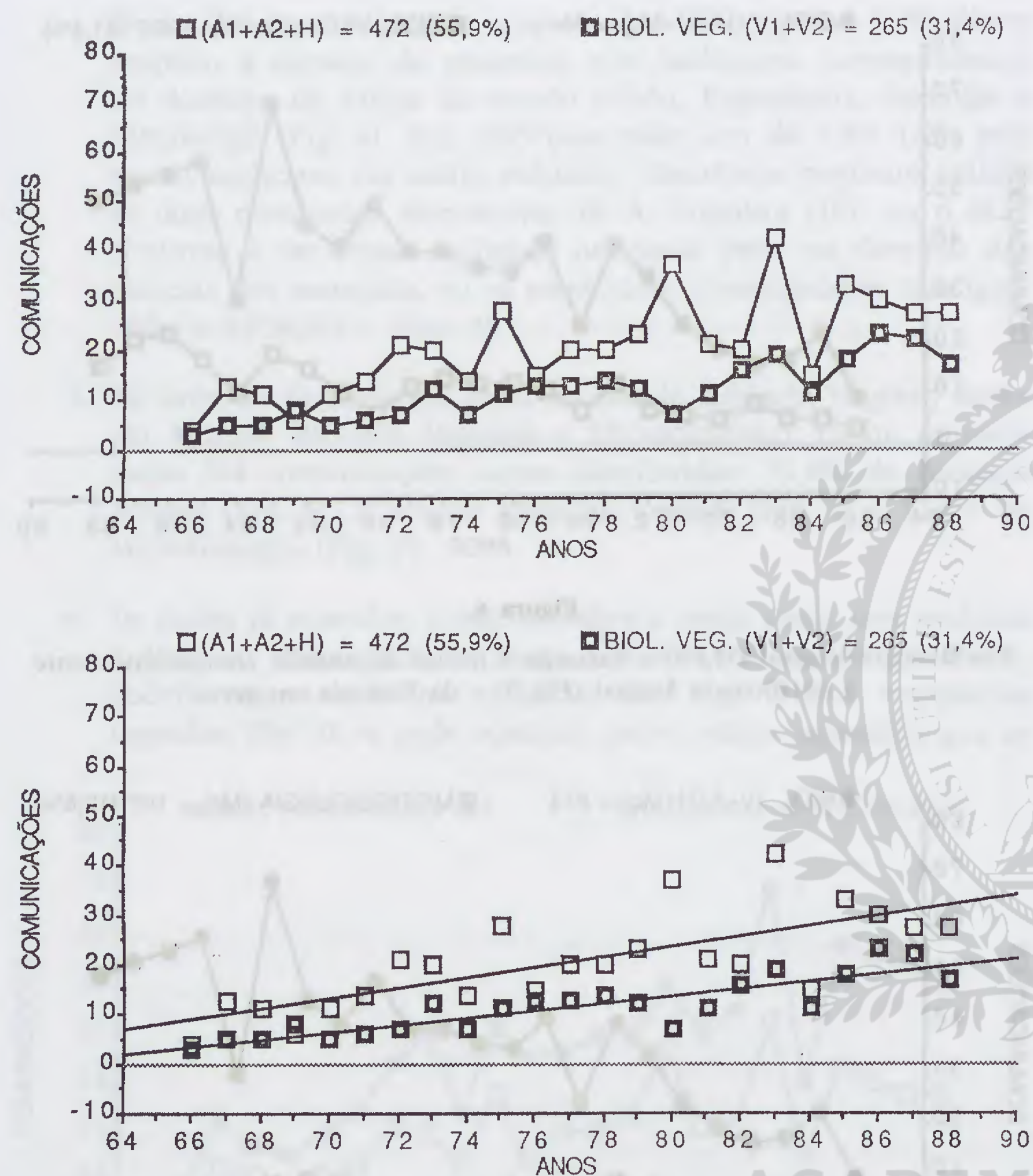


Figura 8

Comparação das variações do número de comunicações em Biologia Animal e Biologia Vegetal (em cima) e das curvas de crescimento respectivas (em baixo). Com poucas excepções (1966, 1969, 1976, 1984), a participação numérica em Biologia Vegetal tem-se situado sempre em níveis inferiores aos da Biologia Animal. De qualquer modo, embora menos acentuado em Biologia Vegetal ($y = 0.721$) do que em Biologia Animal ($y = 1.027$), o crescimento é evidente nas duas áreas. (As percentagens estão calculadas em relação ao Total de Biologia).

posições relativas da Biologia Animal e Vegetal não se têm alterado significativamente (Figs. 8 e 10). O mesmo não acontece, porém, com o contexto em que as comunicações são apresentadas! ... Com efeito, há 30 anos, o desconhecimento da subestrutura celular era tão grande que todas as novidades, todos os avanços interessavam indiscriminadamente a qualquer biólogo, fosse ele médico, botânico, microbiologista ou agrônomo. Daí a participação generalizada nas discussões o que, durante alguns anos, foi uma das facetas mais atractivas das reuniões da S.P.M.E.! ... Obviamente, os progressos científicos e a crescente especialização diversificaram os interesses ... Hoje começa a não ter muito sentido reunir investigadores só pelo facto de utilizarem um equipamento comum no seu trabalho — o M.E.

Então, porque se mantêm as Sociedades de Microscopia Electrónica e se continuam a realizar Congressos e Colóquios por todo o Mundo?

Antes de mais, penso que há razões de ordem histórica e a História continua a ter muita importância na comunidade científica ... ou não estivéssemos nós num Colóquio de História! ... Em segundo lugar houve as necessárias adaptações às circunstâncias ... Efectivamente, as actuais reuniões e Congressos são organizados noutros moldes de modo a que os investigadores se possam reagrupar de acordo com as suas afinidades científicas e, nesses grupos mais homogéneos, discutir os problemas das suas áreas específicas. É evidente que este sistema só tem sentido e resulta quando o número de participantes em cada uma destas áreas é significativo ... Por isso mesmo, no caso da nossa Sociedade, defendi sempre a realização de reuniões conjuntas com a Espanha.

Apesar de tudo, não se pode deixar de reconhecer que em certas áreas, e a Biologia Vegetal é uma delas, os Congressos de Microscopia Electrónica estão a perder terreno! ... A título de exemplo deixo aqui estes números: nos dois Congressos Europeus de Microscopia Electrónica (EUREM 84 e EUREM 88) realizados, respectivamente, em Budapeste (Hungria) e em York (Inglaterra), a percentagem de comunicações de Biologia Vegetal (em relação ao total na área da Biologia), cifrou-se curiosamente no mesmo valor: apenas 9,1%! ... Em contrapartida, no último Congresso Internacional de Botânica (XIV), que teve lugar em Berlim (Alemanha), em 1987, só a divisão de Botânica Estrutural (4.º lugar, em sete divisões) compreendeu um total de 330 comunicações de microscopia electrónica que, em termos percentuais, significa 11,4%!

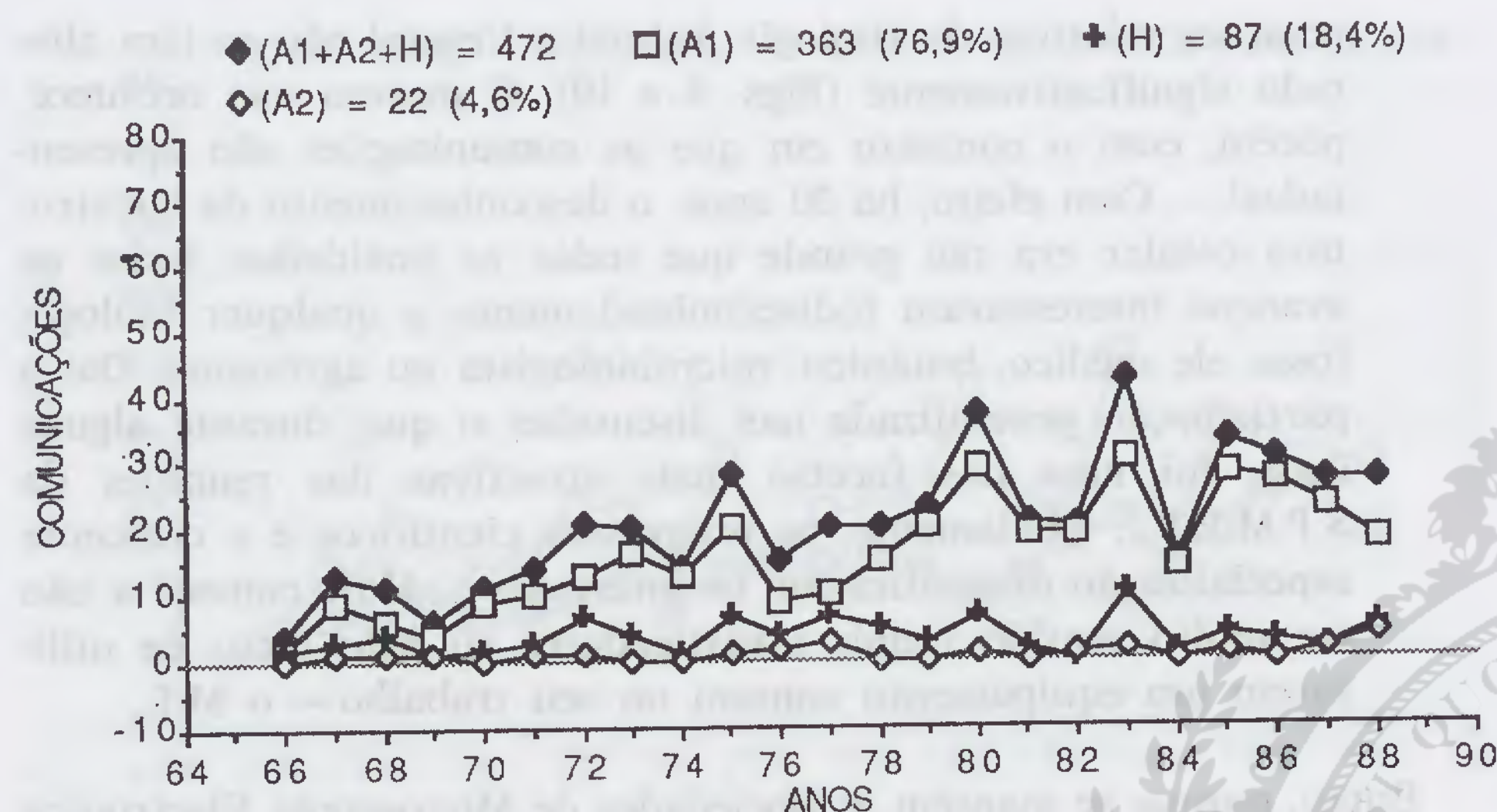


Figura 9

Distribuição das comunicações de Biologia Animal pelos seguintes grupos: A1 - células e tecidos de animais de Laboratório; A2 - vírus animais; H - células e tecidos humanos (normais e patológicos). Sobressaem a supremacia do 1.º grupo (76,9%) e a fraca participação na área da Virologia Animal. (As percentagens estão calculadas em relação ao Total de Biologia Animal).

Passemos agora à parte específica desta comunicação, isto é, «Aplicações da Microscopia Electrónica à Biologia Vegetal».

Pelo que acabámos de referir, é evidente que a história da Citologia Vegetal no nosso país, no decurso dos últimos 30 anos, segue de muito perto a história da M.E. e, por isso, está feita ... Relembremos apenas que durante a primeira dessas três décadas os botânicos, apesar de pioneiros, eram em número bastante reduzido comparado, por exemplo, com o dos médicos! ... Maria de Lourdes Borges e Miguel Mota (Estação Agronómica Nacional), Rezende Pinto e Roberto Salema (Instituto Botânico do Porto), Maria Salomé Pais Antunes (Instituto Botânico de Lisboa) e eu próprio, no Instituto Botânico de Coimbra, éramos os microscopistas electrónicos portugueses, na área da Botânica, no final dos anos 60! ...

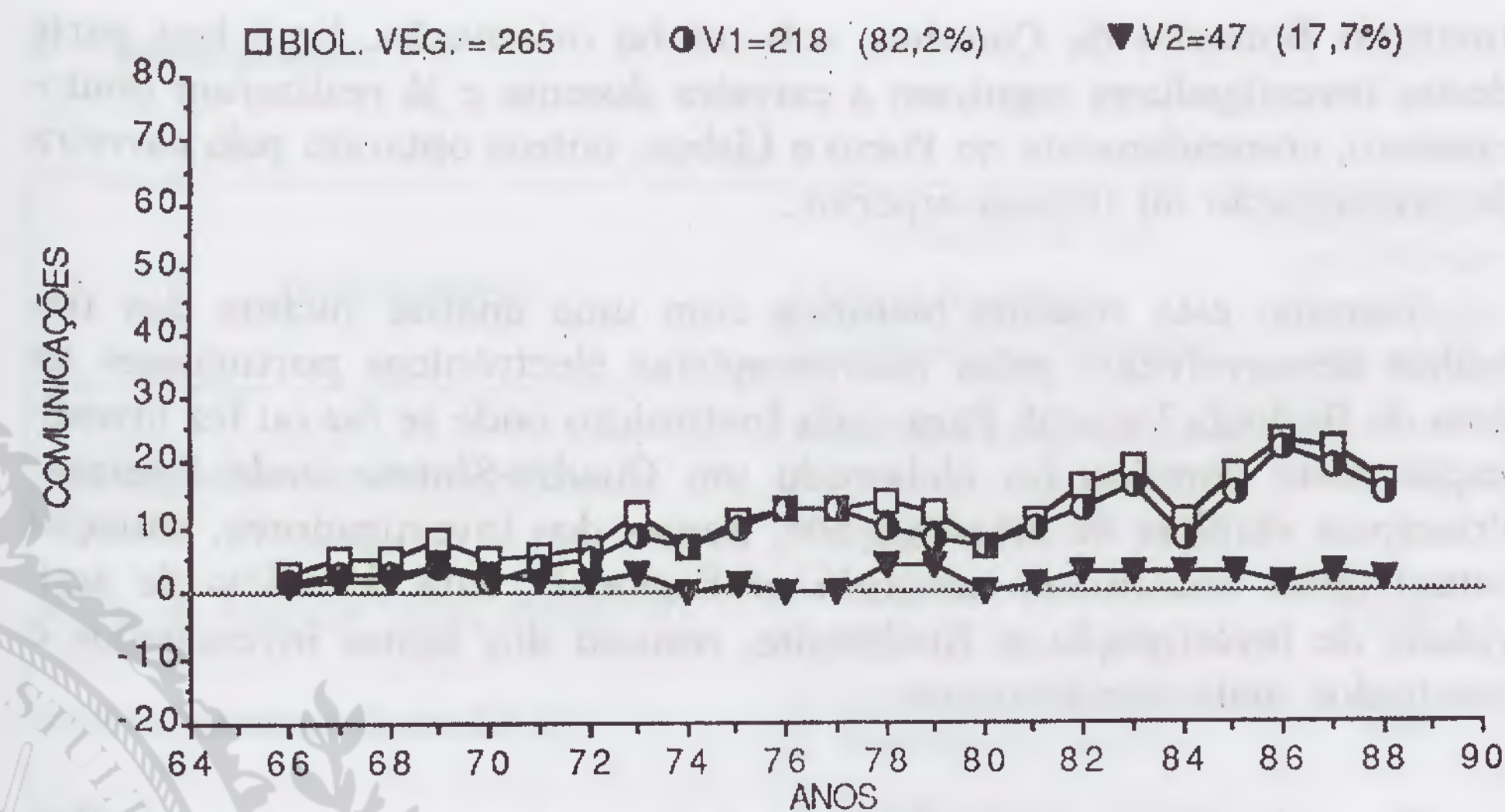


Figura 10

Distribuição das comunicações de Biologia Vegetal pelos seguintes grupos: V1 - células e tecidos vegetais; V2 - vírus vegetais. Comparando com a Fig. 9, verifica-se que o total de Biologia Vegetal ultrapassa, em pouco, a metade do de Biologia Animal. Em contrapartida, em termos percentuais, a participação em Virologia Vegetal é quase quatro vezes mais elevada do que a correspondente em Virologia Animal.

(As percentagens estão calculadas em relação ao Total de Biologia Vegetal).

Assinale-se, porém, que das seis teses de doutoramento defendidas em 10 anos (1962-72) por docentes dos Institutos Botânicos de Lisboa, Porto e Coimbra, cinco incluíam microscopia electrónica, sendo três delas exclusivamente desta especialidade. Se o número de Instituições onde hoje se faz microscopia na área da Botânica não é muito maior, o número dos seus cultores, em contrapartida, tem crescido em ritmo razoável. Assim, até finais da década de 70, iniciaram-se e desenvolveram investigação significativa nesta área, Amarillis Mendonça, Óscar Sequeira e Diamantina Louro na Estação Agronómica Nacional, Lia Ascensão, Sevinete Pinto, Francisco Carrapiço e Teresa Antunes no Instituto Botânico de Lisboa (sob a orientação de Maria Salomé Pais); Ilda Abreu, Isabel Santos e Arlete Santos no Instituto Botânico do Porto (sob a orientação de Roberto Salema); Fátima Santos e Santos Dias no

Instituto Botânico de Coimbra, sob minha orientação. Uma boa parte destes investigadores seguiram a carreira docente e já realizaram doutoramento, nomeadamente no Porto e Lisboa, outros optaram pela carreira de investigação ou técnica-superior.

Termino esta resenha histórica com uma análise sucinta dos trabalhos desenvolvidos pelos microscopistas electrónicos portugueses na área da Biologia Vegetal. Para cada Instituição onde se fez ou fez investigação neste domínio foi elaborado um Quadro-Síntese onde figuram: Principais «Linhas de investigação», nomes dos investigadores, situação actual (grau académico, categoria profissional), data do início de actividade de investigação e, finalmente, resumo dos temas investigados e resultados mais significativos.

Para além da vertente histórica, não tivemos, com este trabalho, outra intenção que não fosse a de elaborar um elemento de consulta, quiçá com alguma utilidade, para os biólogos portugueses que trabalham com material vegetal. Decerto haverá lacunas, mas, com os dados disponíveis, foi o mais completo que conseguimos realizar. No fim de contas, é 1/4 de século de actividade de investigação nos assuntos mais diversificados que vão desde a Virologia à Botânica Metabólica e Estrutural, passando pela Taxonomia Vegetal, todos eles investigados com o recurso mais ou menos acentuado à microscopia electrónica. Passemos então à análise:

ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL (EAN)

OEIRAS

1. Linhas de investigação

- 1.1. Fitopatologia : isolamento e caracterização de vírus e micoplasmas; relações vírus-hospedeiro; viroses e sua etiologia; aplicações.
- 1.2. Citologia Ultraestrutural: aspectos diversos da ultraestrutura da célula vegetal.
- 1.3. Taxonomia e microscopia electrónica.

2. Investigadores

Investigadores	Situação actual		Início da actividade de investig. em M. E.
	1. Grau académico	2. Categoria profissional	
Miguel Galvão de Melo e Mota (1)	1. Licenciatura (Agronomia)	2. Investig.-coordenador	1958
Maria de Lourdes Vieira Borges (2)	1. Licenciatura	2. Invest. princ. (reformada)	
José Constantino Sequeira (3)	1. Dout. (Dundee, Escócia)	2. Investigador auxiliar	1967
Emílio Infante Pedroso (4)	1. Doutoramento (Lisboa)	2. Técnico Superior	1968
Amarilis de Varennes e Mendonça (5)	1. Licenciatura	2. Invest.-coordenador	1970
Oscar Amaro de Sequeira (6)	1. Doutora. (Londres, U.K.)	2. Invest.-coordenador	1970
Diamantina Louro (7)	1. Licenciatura	2. Técnico Superior	1970
Fernando Manuel Santos F. Henriques (8)	1. Doutor. (Berkeley, U.S.A)	2. Prof. Associado na U.N.L.	1973
Maria Isabel Baptista Maia (9)	1. Licenciatura	2. Técnico Superior	1974
Maria Ivone Henriques (10)	1. Doutoramento	2. Prof. Auxliar Univ. Évora	1982
Luís Gerson Lourenço Reis (11)	1. Licenciatura	2. Investigador auxiliar	
José Passos de Carvalho (12)	1. Licenciatura	2. Engenheiro Agrónomo	1986

3. Sumário dos temas investigados e síntese de alguns dos resultados mais significativos

(Nota: para cada tema, referenciam-se apenas, com os números respectivos, os investigadores que alguma vez assinaram, como 1.º autor, artigos da matéria em questão).

- 3.1. Realização de alguns estudos sobre a estrutura do cromossoma, quer em material animal, quer em plantas com cromossomas de centrómero localizado ou não: é dada particular atenção à região centromérica, em seguimento de trabalho anterior onde se propõe uma nova hipótese de movimento anafásico, segundo a qual haveria expulsão de uma substância pelo centrómero na direcção da placa equatorial ...; colaboração em estudos de fitopatologia envolvendo bactérias, vírus e micoplasmas; observações em microscopia electrónica de «scanning» e de transmissão de folhas e frutos de oliveira, e outras materiais (1).
- 3.2. Elaboração dos primeiros trabalhos de microscopia electrónica efectuados em Portugal na área da Fitopatologia, destacando-se, entre outros aspectos, os seguintes: primeiras observações da ultraestrutura das relações vírus-hospedeiro com os vírus X e Y da Batateira (numa altura em que os trabalhos existentes diziam respeito unicamente ao vírus do Mosaico do Tabaco), incluindo as realizadas num hospedeiro comum; primeiras observações do vírus do emangericado do tomateiro no nosso país; estudo comparativo das Potyviroses mais frequentes em Portugal, sob vários aspectos (purificação dos vírus, serologia e relações vírus-hospedeiro), confirmando-se as subdivisões propostas por Edwardson e mostrando-se o interesse dos estudos ultraestruturais no diagnóstico de viroses; estudos ultraestruturais esclarecedores da etiologia de certas doenças, como por exemplo o «Mar Azul» do tomateiro, até aí atribuída a vírus, os quais se revestem de importante significado pelo facto de terem sido efectuados apenas um ano depois da descoberta dos micoplasmas como agentes fitopatogénicos (2).
- 3.3. Elaboração e aperfeiçoamento de métodos de purificação de vírus, estudo morfológico desses vírus e ultraestrutura de tecidos vegetais infectados por eles (viroses). Aplicação destes métodos no estudo do vírus latente da mandioca (inclui-se a análise do seu DNA, com 3 tipos de moléculas diferentes), Potyvírus (demonstra-se a eficácia do uso de polietilenoglicol 6000 e do Triton X-100 no seu isolamento parcial), vírus do mosaico das *Cucurbitaceae* (são obtidos bons resultados com o método de

- Takanami e Tomaru, modificado), viroses do morangueiro (caracterizam-se, pela 1.^a vez em Portugal, os vírus SMV e SCV do morangueiro, que não foi possível transmitir mecanicamente), e vírus do enrolamento do tomateiro - VET (estudam-se as características e propriedades que determinam a sua inclusão definitiva no grupo dos geminivírus) (3).
- 3.4. Contribuição para o conhecimento de alguns vírus e viroses da videira, no âmbito da selecção sanitária desta planta em Portugal (4).
 - 3.5. Contribuição para o conhecimento da etiologia de uma doença da videira (Enrolamento foliar), sugerindo-se que as estruturas vesiculares e pleomórficas (tipo-micoplasma) que se observaram podem ser causadoras da doença. Esta dever-se-á incluir no grupo das que provocam amarelecimentos («Vine yellow diseases»). Utilização da técnica de imunomicroscopia electrónica na detecção e identificação do vírus CM112 da videira, concluindo-se pela sua aplicabilidade em programas de selecção desta planta, eventualmente com vantagens sobre técnicas imunoenzimáticas (ELISA) (5).
 - 3.6. Aperfeiçoamento de técnicas de isolamento de vírus e sua aplicação em macieira e videira: Demonstra-se que o único método de detectar o vírus E36V, causador de doenças na macieira, consiste na inoculação da seiva desta planta em hospedeiros herbáceos; são postos «au point» novos métodos de purificação de vírus filamentosos na mesma árvore fruteira; isola-se, a partir da videira, um vírus até aí desconhecido nesta planta, pela aplicação de testes serológicos em reacção cruzada; fazem-se ensaios da especificidade e sensibilidade das técnicas de imunomicroscopia electrónica de absorção (IMEA) no estudo do vírus CM112 da videira em extractos brutos de hospedeiros experimentais ou no hospedeiro natural (videira) (6).
 - 3.7. Identificação, com o recurso a técnicas diversas (estudo morfológico dos viriões e dos sintomas de plantas indicadoras, imunomicroscopia electrónica, etc. ...), e pela primeira vez em

Portugal, de alguns vírus como por exemplo, os vírus do emagrecimento do tomateiro, vírus do craveiro, reovírus associado ao milho etc.; aplicações no campo fitossanitário; aplicação da técnica pAg (proteína A-ouro) no desenvolvimento de um método de estudo de vírus de plantas, em suspensão, e na localização de antígenos virais em tecidos vegetais (7).

- 3.8. Utilização de metodologia diversificada (ultracentrifugação, electroforese, crioactura e M.E.), no estudo da correlação da arquitectura molecular das membranas fotossintéticas com a sua composição química e função, em plantas de *Hordeum vulgare* (normais e mutantes) e *Lactuca sativa*. Discussão, entre outros aspectos, da inexistência de alterações da estrutura intramembranosa dos tilacóides cloroplastidiais em mutantes deficientes de clorofila *b*. Realização de estudos experimentais (digestões proteolíticas) tendentes a demonstrar o papel dos polipéptidos associados à «antena» dos cloroplastos (LHPC), na associação dos tilacóides granulares (8).

— Observações em TEM e SEM com o objectivo de relacionar as características anatómicas de duas gramíneas com o seu habitat e ultraestrutura dos cloroplastos das folhas de beterraba, com deficiências em nutrientes diversos (plantas carenciadas em diferentes iões metálicos) (8).

- 3.9. Estudo comparativo das superfícies de folhas e sementes de *Ceratonis siliqua* (alfarrobeira) em 3 cultivares algarvios (9).
- 3.10. Estudo de alterações ultraestruturais induzidas nos hospedeiros por vírus de diferentes origens, referindo-se, entre outros, os seguintes casos: *Nicotiana glutinosa*/vírus do melão; *N. cleavelandii*/complexo de vírus de Luzerna; *Spinacia oleracea*/Tombusvirus. Primeiras referências de RLB (bactérias semelhantes a Rickettsias) em folhas de milho. Primeiros estudos em Portugal (incluindo isolamento do vírus e observações ao M.E.) de duas viroses da couve (*Brassica oleracea*). Estudo de plantas de *Malva* sp. duplamente infectadas por vírus do grupo Potyvirus (MCVE) e rhabdovirus (10).

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DO PORTO

Instituto Botânico «Dr. Gonçalo Sampaio»

Centro de Citologia Experimental

1. Linhas de investigação

- 1.1. Inter-relações da fotossíntese C_3 , C_4 e CAM a nível ultrastructural e bioquímico.
- 1.2. Citodiferenciação vegetal.
- 1.2.1. Cultura de tecidos, sua citologia e organogénese.
- 1.2.2. Microsporogénese.
- 1.2.3. Xilogénese.
- 1.3. Biologia dos Dinoflagelados.

2. Investigadores

Investigadores	Situação actual	
	1. Grau académico	Início da actividade de investig. em M. E.
2. Categoria profissional		
Roberto Salema (1)	1. Doutoramento (Porto)	1962
	2. Professor Catedrático	
Ilda da Conceição Abreu de Noronha (2)	1. Doutoramento (Porto)	1969
	2. Professor Auxiliar	
Isabel Santos (3)	1. Doutoramento (Porto)	1971
	2. Professor Associado	
Arlete Maria P. Moreira dos Santos (4)	1. Doutoramento (Porto)	1973
	2. Professor Auxiliar	
José Pissarra (5)	1. Licenciatura	1982
	2. Assistente	
Olga Maria Lage (6)	1. Licenciatura	1987
	2. Assistente	
Maria Fernanda Fidalgo (7)	1. Licenciatura	1987
	2. Assistente	

Nota: No início da década de 70, Luís Oliveira, depois de uma curta estada neste Instituto, partiu para o Canadá, onde permanece a trabalhar em Ficologia (*Phaeophyceae*). (Ver Bibliografia).

3. Sumário dos temas investigados e síntese de alguns dos resultados mais significativos

(Nota: para cada tema, referenciam-se apenas, com os números respectivos, os investigadores que alguma vez assinaram, como 1.º autor, artigos da matéria em questão).

3.1. Ultraestrutura de diferentes tipos de plastídeos e suas metamorfoses naturais ou induzidas: a) Estudo das modificações plastidiais que acompanham o verdescimento de tecidos de reserva amiláceos e o amadurecimento de alguns frutos, concluindo-se pela importância do corpo pró-lamelar na estruturação dos cloroplastos e pela natureza não lipofanerótica da transformação cloro → cromoplasto, na qual seria essencial uma etapa amilogénica (1). b) Estudo ultraestrutural e citoquímico da biogénese do amido que levou, entre outras, às seguintes conclusões: o DNA e RNA são constituintes universais dos plastídeos e desempenham papel essencial na síntese das enzimas intervenientes naquele processo metabólico (método autorradiográfico, tratamento com antibióticos, etc. ...); o crescimento do grão de amido faz-se pela aposição progressiva de gotas de coarceado em regiões estromáticas envolvidas ou não por membranas (1).

3.2. Optimização das condições de fixação de células vegetais de diferentes proveniências, tendo em vista a preservação da ultraestrutura e correspondente estabilização molecular: entre outros aspectos referentes à osmolaridade e ao pH, conclui-se pela vantagem do tampão PIPES, face a outros veículos ensaiados. Aplicação deste método a plantas suculentas, nomeadamente *Sedum telephium* onde se descreve pela 1.ª vez uma inclusão intraplastidial tubular, cujo estudo vai ser desenvolvido ulteriormente (1).

3.3. Inter-relações da fotossíntese C_3 , C_4 e CAM a nível ultraestrutural e bioquímico. Estudo ultraestrutural, bioquímico e citoquímico, em plantas naturais e regeneradas (cultura de tecidos),

da inclusão plastidial encontrada em *S. telephium* e outras Crassulaceae, com o objectivo de afirmar a sua natureza microtubular, comparar o seu comportamento com o de outros MTS (face a diferentes condições experimentais) e esclarecer o seu significado fisiológico, nomeadamente nas suas correlações com o metabolismo CAM. Conclui-se tratar-se efectivamente de microtúbulos (MTS) (de comportamento comparável aos dos MTS citoplasmáticos), que intervêm na fotossíntese CAM e são essencialmente constituídos por uma desidrogenase málica (provavelmente dependente do NAD). Outros aspectos deste tema, têm sido abordados, tais como: análise das relações volumétricas entre a inclusão microtubular e os plastídeos (métodos estereológicos) e comportamento da inclusão em condições de CAM modulável (fotoperíodo, temperatura) (3).

3.4. Ultraestrutura da microsporogénese. Estudo ultraestrutural e citoquímico da microsporogénese em Cucurbitaceae, nomeadamente, *Cucumis sativus* L. (2) e *Cucurbita polymorpha* Duch. (4). Com o recurso a metodologia diversificada (observações TEM e SEM, citoquímica de enzimas, análises estereológicas, etc.) analisam-se, nas células esporogénicas e no tapete, as modificações ultraestruturais que acompanham a formação e diferenciação das células polínicas.

Estuda-se a evolução dos diferentes organelos celulares (com ênfase para as mitocôndrias atípicas de *C. sativus*), tendo em vista contribuir para o esclarecimento do seu papel na microsporogénese, nomeadamente na síntese e estruturação da parede complexa do grão de pólen (intina e diferentes camadas de exina). Entre outros aspectos, conclui-se que, neste processo, em *Cucurbita polymorpha*, estarão envolvidas 3 vias metabólicas: a via dos hidratos de carbono referente à degradação das paredes celulósicas do tapete e meiócitos e síntese de intina, a via dos lípidos relacionada com a produção de esporopolenina e «pollenkit» e a via das proteínas respeitantes às enzimas intervenientes nestes processos de degradação e síntese. Propõe-se a origem dupla (tapete e células polínicas) do material esporopolenínico em *C. polymorpha* e conclui-se pela existência

de um tapete misto em *C. sativus*, no qual os dois tipos de células (diferentes em estrutura e comportamento) intervêm, de modo específico, na diferenciação da parede do grão de pólen.

São analisados os efeitos produzidos na microsporogénese por diferentes tipos de drogas (inibidores da síntese proteica, da respiração ou da fotossíntese, venenos microtubulares, etc.) e discutido o seu eventual significado fisiológico. Em *Cucumis sativus* o estudo é complementado com a cultura de anteras o que permitiu uma comparação, sob certos aspectos e em determinadas fases, das microsporogénese em condições naturais e *in vitro*.

Mais recentemente, estes trabalhos têm sido continuados com estudos morfo-anatómicos do androceu e grãos de pólen em microscopia de varrimento e análise dos efeitos produzidos por várias drogas na germinação do grão de pólen e no crescimento do tubo polínico *in vitro*, nomeadamente em *Cucumis sativus* (2).

3.5. Diferenciação celular - Xilogénese. Estudos ultrastruturais e bioquímicos da diferenciação de elementos traqueais do xilema em cultura de tecidos: analisa-se o efeito inibidor do ácido abscísico (ABA) sobre a xilogénese, quando adicionado antes ou depois da esterilização do meio de cultura, concluindo-se que a autoclavagem atenua significativamente esse efeito; questiona-se a utilização da fenilalanina amónia-liase (PAL) como um marcador bioquímico da diferenciação de células xilémicas; estuda-se o efeito produzido neste processo por fitohormonas (auxinas) e por um antimicótico (quinosol) (5).

3.6. Acção de produtos fitofarmacêuticos em plantas de interesse agrícola. Estudam-se os efeitos produzidos pelo Ridomil (anti-fúngico) em plantas de *Solanum tuberosum*, apontando os resultados preliminares, para alterações mais de natureza metabólica (metabolismo do azoto) do que ultrastrutural (7).

3.7. Biologia dos Dinoflagelados. Estudo ultrastrutural de um Dinoflagelado marinho autotrófico (*Prorocentrum micans*) em condições normais de cultura e em obscuridade contínua (6).

**FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA
Instituto Botânico Dr. Júlio Henriques**

1. Linhas de investigação

1.1. Citodiferenciação vegetal.

- 1.1.1. Metamorfoses plastidiais em tecidos diversos.
- 1.1.2. Diferenciação de tecidos secretores
- 1.1.3. Maturação e germinação de sementes.
- 1.1.4. Esporogénese.

1.2. Citologia ultrastrutural das Algas.

2. Investigadores

Investigadores	Situação actual	
	1. Grau académico 2. Categoria profissional	Início da actividade de investig. em M. E.
José Firmino Moreira Mesquita (1)	1. Doutoramento (Coimbra) 2. Professor Catedrático	1964
Maria de Fátima Almeida Santos Leão (2)	1. Licenciatura (Coimbra) 2. Investigador Auxiliar	1973
José Domingos Santos Dias (3)	1. Licenciatura (Coimbra) 2. Assessor	1975
Maria Teresa Baptista (4)	1. Licenciatura (Coimbra) 2. Assistente	1983
Augusto Manuel Ferreira Dinis (5)	1. Licenciatura (Coimbra) 2. Assistente	1986
Lília Maria A. Santos (6)	1. Licenciatura (Coimbra) 2. Assistente	1986

Nota: (2) e (3), optaram, respectivamente, pelas carreiras de investigação e técnica-superior. (4), (5) e (6), continuam a preparação do doutoramento em Portugal (4) (5) e em Inglaterra (6).

3. Sumário dos temas investigados e síntese de alguns dos resultados mais significativos

(Nota: para cada tema, referenciam-se apenas, com os números respectivos, os investigadores que alguma vez assinaram, como 1.º autor, artigos da matéria em questão).

Com metodologia diversificada que inclui microscopia óptica, microscopia de fluorescência, microscopias electrónicas de transmissão (TEM) e de varrimento (SEM), citoquímica óptica e ultrastrutural, análise de fracções por espectrofotometria e cromatografia, métodos estereológicos para quantificação em M.E. etc. ... foram ou estão a ser investigados os seguintes temas:

3.1. Alterações estruturais induzidas em células meristemáticas por substâncias mitoclásicas e radiomiméticas. Foi feito um estudo cito-histológico pormenorizado do ápice radicular de *Allium cepa* L. o qual serviu de controlo na apreciação das modificações produzidas por vários agentes químicos na ultraestrutura de células vegetais quiescentes e em divisão. Assim, detalhes inframicroscópicos da implantação da fibra cromossómica, estrutura dos fragmoplastos e seu comportamento na citocinese em face de tratamentos diversos, aspectos da citofisiologia do nucléolo, foram, entre outros, temas analisados e discutidos (1). Ainda em células meristemáticas radiculares demonstrou-se a resistência dos microtúbulos (MTS) de *Colchicum* sp. à acção da colquicina exógena (1) (3).

3.2. Citodiferenciação em tecidos de plantas superiores. Faz-se o estudo da evolução ultrastrutural de organelos em diferentes tipos de células vegetais e discute-se o seu significado na especialização morfo-fisiológica dessas células. Assim, entre outros, já foram ou continuam a ser analisados os seguintes casos concretos:

a) Evolução e diversidade morfológica do sistema vacuolar, em células meristemáticas, possíveis mecanismos de autofagia e demonstração inequívoca da correlação RER-vacuólos (1).

b) Ontogenia e estrutura de plasmalemassomas e correlação com a síntese da parede celular (autorradiografia) (1).

c) Metamorfoses plastidiais, responsáveis pelo verdescimento de tecidos radiculares (*Lupinus albus*), pela maturação de flores (*Narcissus* sp.) e frutos (*Musa* sp.) e pela variação foliar (*Croton* sp.). Os resultados destes estudos (ultrastruturais, citoquímicos e bioquímicos) proporcionaram discussão sobre os mecanismos inframicroscópicos da morfogénese de leuco e cloroplastos, da transformação cloro → cromoplasto e da ontogenia de células heteroplastídicas. Foram descritos diferentes tipos estruturais de cromoplastos e comprovou-se experimentalmente a sua capacidade amilogénica no estado «adulto» (1).

d) Estudo comparativo de indumentos, diferenciação de tecidos secretores vegetais diversos e biologia da secreção. O papel fundamental do R.E. (cisternal e vesicular) no mecanismo de secreção do látex, nos laticíferos de *Cannabis sativa*, a origem comprovadamente esquizogénica das bolsas secretoras de *Heteropyxis* sp. (*Myrtaceae*) e suas implicações taxonómicas, a ausência de um padrão de marcação estável nas técnicas de impregnação por misturas ósmio/iodetos, a distribuição de actividades fosfatásicas em tricomas glandulares de *Lavandula latifolia* e a demonstração, por métodos estereológicos, de uma correlação volumétrica inversa entre inclusões proteicas nucleares e nucléolos, nesta mesma espécie, para além da descrição de um novo tipo de tricoma, são alguns dos resultados obtidos neste domínio e objecto de discussão (1) (3).

e) Diferenciação de sementes. Estes estudos incluem aspectos ultrastruturais, citoquímicos e bioquímicos da especialização de vários tecidos no decorrer da maturação de sementes de *Ceratonia siliqua* L. (alfarrobeira). Concretamente foram analisados os processos de acumulação de lípidos, proteínas e galactomananas no endosperma e a evolução estrutural e pigmentar dos plastídeos e a formação dos grãos de aleurona

nos cotilédones do embrião. Salientam-se os seguintes resultados: A concentração de reservas proteicas no endosperma efectua-se segundo um mecanismo de vacuolização, via RER, e é simultânea com fragmentação e osmiofilia progressiva dos glóbulos lipídicos; a acumulação de galactomananas no mesmo tecido é um processo secretor essencialmente mediado pelo Golgi numa modalidade de tipo granulocrino; contrariamente ao mais habitual nas Leguminosae, os grãos de aleurona dos cotilédones de *C. siliqua* contêm numerosos globóides, cuja fitina parece começar a sintetizar-se fora dos vacúolos proteicos; a mudança de cor destes cotilédones (de verde para amarela), durante a maturação, não está relacionada com transformações plastidiais, mas antes se deve a uma acumulação de flavonóides, mais concretamente glicosil flavonas derivadas da epigenina (4). O mesmo não acontece, porém, na sarcotesta das sementes de *Magnolia grandiflora* (planta zoocórica) onde a aquisição da cor vermelha parece dever-se essencialmente à metamorfose de plastídeos (3).

- f) Ultraestrutura da esporogénese. Tendo em conta a posição taxonómica muito particular das Magnoliaceae e o seu interesse filogenético, escolheu-se esta família para estudos de esporogénese, estando actualmente em curso o estudo ultrastructural e citoquímico da microsporogénese em *Magnolia soulangeana*. Aspectos ultrastructurais da sinizese, e comportamento das ribonucleoproteínas nucleolares durante a meiose dos microsporócitos, figuram entre os temas já analisados (5).

3.3. Citologia ultrastructural das Algas. O Instituto Botânico da Universidade de Coimbra figura entre as Instituições pioneiras a fazer investigação nesta área, em Portugal. Os trabalhos têm incidido fundamentalmente nos seguintes aspectos:

- a) Ultraestrutura e citoquímica das células algais eucarióticas, de diferentes taxa, e seu significado citofisiológico. Neste

domínio, analisou-se ao M. E. a carotenogénese em culturas de *Haematococcus lacustris* (Volvocales), concluindo-se pelo importante papel do citosol e/ou R.E. na síntese do hematocrómio e não intervenção dos cloroplastos no processo; realiza-se o estudo ultrastructural de algumas Chlorophyta e Cromophyta, sendo de realçar o caso de *Chrysocapsa epiphytica* (nova para Portugal) onde se faz a primeira demonstração inequívoca (por via citoquímica) da existência de peroxissomas no grupo das Chrysophyceae. Iniciaram-se estudos nas Eustigmatophyceae, que actualmente continuam no Laboratório do Prof. Leedale (Universidade de Leeds, Inglaterra) (1) (2) (3).

- b) Alterações estruturais induzidas por agentes químicos, com objectivos diversificados: estuda-se a acção da terbutina (herbicida) em algas infestantes dos arrozais do Mondego e analisaram-se quantitativamente (por métodos estereológicos) os efeitos da monensina no processo de secreção de escamas em *Cricosphaera carterae* (1) (2) (3).
- c) Divisão celular. Neste domínio, foi estudada a ultraestrutura da divisão celular em algumas Volvocales (*Haematococcus lacustris*), Chlorococcales (*Spongiochloris* sp.) e Chrysophyceae (*Coccolithophoraceae*), analisando o comportamento do invólucro nuclear e perinuclear (quando existente) e do nucléolo, as características do fuso e da região centromérica dos cromossomas e, muito particularmente, o mecanismo da citocinese. Dada a importância actualmente atribuída a estes aspectos, os resultados são discutidos numa perspectiva taxonómica e/ou filogenética (1) (2).

FACULDADE DE CIÊNCIAS DE LISBOA

Instituto Botânico

Departamento de Biologia Vegetal

1. Linhas de investigação

- 1.1. Biologia da secreção vegetal.
- 1.2. Morfologia e metabolismo dos peroxissomas.
- 1.3. Biologia das micorrizas e outras associações simbióticas.
- 1.4. Germinação das sementes.

2. Investigadores

Investigadores	Situação actual		Início da actividade de investig. em M.E.
	1. Grau académico	2. Categoria profissional	
Maria Salomé Soares Pais Telles Antunes (1)	1. Doutoramento (Lisboa)	2. Professor Catedrático	1966
Lia Maria Pereira de Ascensão (2)	1. Doutoramento (Lisboa)	2. Professor Auxiliar	1972
Isabel Sevinete-Pinto (3)	1. Doutoramento (Lisboa)	2. Professor Auxiliar	1972
Teresa Antunes (4)	1. Doutoramento (Lisboa)	2. Professor Auxiliar	1972
Francisco José do Nascimento Carrapiço (5)	1. Doutoramento (Lisboa)	2. Professor Auxiliar	1976
José Manuel Gonçalves Barroso (6)	1. Doutoramento (Lisboa)	2. Professor Auxiliar	1982
Maria Margarida M. Girão de Oliveira (7)	1. Licenciatura	2. Assistente	1982
Ana Cristina da Silva Figueiredo (8)	1. Licenciatura	2. Assistente	1985
José Alberto Bernardo de Magalhães Feijó (9)	1. Licenciatura	2. Assistente	1986

3. Sumário dos temas investigados e síntese de alguns dos resultados mais significativos

(Nota: para cada tema, referenciam-se apenas, com os números respectivos, os investigadores que alguma vez assinaram, como 1.º autor, artigos da matéria em questão).

3.1. Citodiferenciação em *Orchidaceae*: para além de observações macro e microscópicas, fez-se o estudo ultraestrutural da ontogenia de organitos celulares durante o desenvolvimento da flor de *Ophrys lutea* Cav. com particular relevância para a superfície estigmática e evolução dos plastídeos (1). Mais recentemente iniciou-se o estudo da microsporogénese na mesma *Orchidaceae*, tendo sido já analisados, entre outros aspectos, a evolução dos plastídeos e peroxissomas, a ocorrência de citomixia nos meiócitos e a biogénese da parede dos grãos de pólen (9).

3.2. Biologia da secreção vegetal: morfologia, ultraestrutura e citotóxica de tecidos e glândulas secretoras vegetais. Neste domínio faz-se o estudo, mais ou menos detalhado, de estruturas secretoras vegetais (nomeadamente de secreção lipofílica), atendendo, entre outros, a dois aspectos fundamentais: a) Morfologia e ontogenia de canais e/ou bolsas secretoras, tricomas glandulares, etc. ... (observações em M.O. e M.E. de varrimento); b) Ultraestrutura das células secretoras e histoquímica do secretado tendo em vista contribuir para o esclarecimento do mecanismo de secreção. São utilizadas, como material de estudo, entre outras, as seguintes plantas: 1. *Artemisia campestris* L. (canais secretores e tricomas glandulares). Conclui-se que esta espécie possui tricomas capitados pluricelulares produzindo uma oleoresina complexa (terpenóides, ácidos gordos e alcalóides) em cuja síntese e transporte devem participar os leucoplastos das células apicais dos tricomas, os cloroplastos do segundo e terceiro par de células, o R.E. e as mitocôndrias. Admite-se a coexistência dos tipos de secreção écrina e granulocrina (3). 2. *Ruta chalepensis* (bolsas secretoras). Apresentam-se alguns dados relativos à ontogenia das bolsas, estrutura das células secretoras e natureza química da secreção nesta espécie (4).

Utilizando metodologia idêntica, continua-se o estudo de tecidos secretores e da biologia da secreção noutras espécies como *Cistus monspeliensis* (3), *Teucrium scorodonia* (2) (3), *Humulus lupulus* (7) e *Limodorum abortivum* (8).

3.3. Estrutura e função dos peroxissomas. Embora mais recentemente estejam a ser usadas sementes de soja (*Glycine max*) no estudo citoquímico da via do glioxilato, durante a germinação, os trabalhos nesta área foram realizados fundamentalmente em *Bryum capillare* (Musgo), e centraram-se em dois aspectos a) Estudo dos esporos maduros e da sua germinação para esclarecimento da morfologia, estrutura e função dos «microbodies». Conclui-se que estes organelos formam um único compartimento ramificado em contacto simultâneo com o glóbulo lipídico, os cloroplastos e as mitocôndrias, no qual, poderão coexistir, numa forma activa, a malato-sintetase (gluconeogénese-glioxissoma) e a glicolato-oxidase (fotorrespiração); b) Estudo da esporogénese para conhecimento da ontogenia do compartimento microbiodial nas suas componentes membranosa e matricial (5). A localização citoquímica de outras enzimas intervenientes no metabolismo lipídico e ureico têm sido outros aspectos abordados (1) (5) (9).

3.4. Biologia das micorrizas e outras associações simbióticas. Estudam-se as micorrizas em *Ophrys lutea* Cav., pesquisando aspectos citológicos, citoquímicos e bioquímicos das relações hóspede-hospedeiro. Procede-se ainda ao isolamento e cultura do endófito que é objecto de estudos microscópico e citoenzimológico, e faz-se o estudo químico dos tubérculos infectados, nomeadamente, das suas fracções neutra e ácida. Salientam-se, entre outros, os seguintes resultados: a) No estabelecimento da micorriza a infecção é exclusivamente intracelular, devendo-se a perfuração da parede das células do hospedeiro à acção de enzimas produzidas pelo endófito; b) A matriz interfacial é essencialmente celulósica e sintetizada conjuntamente pelo hospedeiro e pelo fungo; c) A infecção determina uma proliferação ou hipertrofia de organelos na célula hospedeira, nomeadamente, R.E., plastídeos, peroxissomas e núcleo/núcleolo. Estes dados, assim como as alterações qualitativas e quantitativas reveladas pela análise química dos tubérculos, são inter-

pretadas em termo das relações hóspede-hospedeiro: conclui-se que a associação micorrizal, em *O. lutea*, resulta de um equilíbrio entre a síntese de compostos antifúngicos e enzimas hidrolíticas por parte do hospedeiro e a produção de polifenol oxidases e espessamento da parede, por parte do fungo. Assim se evitará, por um lado, que o endófito se transforme em parasita e, por outro, que ele seja aniquilado pelo hospedeiro (6).

Ainda dentro do mesmo tema das associações simbióticas está em estudo a associação da pteridófita aquática do género *Azolla* com a cianobactéria, *Anabaena*, discutindo-se o significado fisiológico da distribuição da RuBisco (ribulose-1-5-bifosfato carboxilase/oxigenase), detectada por imunocitoquímica, em termos das relações hóspede-hospedeiro (5).

3.5. Germinação de sementes. Analisam-se e interpretam-se as modificações ultraestruturas e citoquímicas que acompanham a germinação das sementes de *Avena sativa* (aveia), nomeadamente ao nível das células da camada de aleurona (2).

INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DR. RICARDO JORGE (LISBOA) (Laboratório de Microbiologia Experimental)

1. Linhas de investigação

1.1. Biologia dos Dinoflagelados.

1.1.1. Ciclo celular.

1.1.2. Relações estruturais da associação Dinoflagelados-Bactérias.

2. Investigadores

Investigadores	Situação actual	
	1. Grau académico 2. Categoria profissional	Início da actividade de investig. em M. E.
Estela Sousa e Silva (1)	1. Licenciatura 2. Investigador principal	1969
Maria Susana Franca (2)	1. Licenciatura 2. Investigador principal	1972

3. Sumário dos temas investigados e síntese de alguns dos resultados mais significativos

(Nota: para cada tema, referenciam-se apenas, com os números respectivos, os investigadores que alguma vez assinaram, como 1.º autor, artigos da matéria em questão).

- 3.1. Biologia dos Dinoflagelados. Para além doutros aspectos relacionados com a toxicidade destes microorganismos, dois assuntos têm recebido especial atenção nas investigações em microscopia electrónica: a) Evolução ultraestrutural do núcleo durante o ciclo celular: conclui-se que o grande aumento de material cromatinico que tem lugar no começo da divisão (politenia) será responsável pela elevada frequência de divisão directa (relativamente à mitose), por vezes desigual, e pelo aparecimento da chamada «forma pequena»; b) Relações estruturais da associação Dinoflagelados-bactérias endocelulares. Descrevem-se e discutem-se estas associações, nomeadamente nas espécies *Gyrodinium instriatum* e *Glenodinium foliaceum*, provenientes de lagoas da costa portuguesa (Óbidos). Estas espécies aparecem infectadas com bactérias, aparentemente não patogénicas, que podem crescer e multiplicar-se no núcleo e/ou no citoplasma das células hospedeiras. As bactérias foram isoladas, mas as tentativas de inoculação experimental não tiveram sucesso. A presença de partículas de tipo viral no citoplasma de *Gyrodinium* sp., não acompanhada de lesão celular, é também referida (1) (2).

CENTRO DE INVESTIGAÇÃO DE FERRUGENS DO CAFEIEIRO (OEIRAS)

1. Linhas de investigação

- 1.1. Histopatologia das relações cafeeiro-ferrugem, a nível óptico e electrónico.

2. Investigadores

Investigadores	Situação actual	
	1. Grau académico	Início da actividade de investig. em M. E.
2. Categoria profissional		
Luisete Riço (1)	1. Licenciatura	1972
	2. Investigador principal	
Maria do Céu Silva (2)	1. Licenciatura	—
	2. Investigador	
Maria Isabel Vasconcelos (3)	1. Bacharel	—
	2. Eng.º Técnico-Agrária	

3. Sumário dos temas investigados e síntese de alguns dos resultados mais significativos

(Nota: para cada tema, referenciam-se apenas, com os números respectivos, os investigadores que alguma vez assinaram, como 1.º autor, artigos da matéria em questão).

- 3.1. Está em desenvolvimento a linha de investigação «Histopatologia das relações cafeeiro-ferrugem a nível óptico e electrónico». Foi estudada a ultraestrutura do fungo *Hemileia vastatrix* (agente causador da ferrugem alaranjada do cafeeiro), a nível do micélio, do uredósforo e do respectivo tubo germinativo, salientando-se, entre outros aspectos, a presença de complexos tubulares funcionalmente equivalentes ao aparelho de Golgi, e existência não habitual de nucléolos em estádios não parasíticos (uredósפורos em germinação) (1).

UNIVERSIDADE DE AVEIRO

Departamento de Biologia

1. Linhas de investigação

1.1. Taxonomia das Algas: estrutura da parede celular.

2. Investigadores

Investigadores	Situação actual		Início da actividade de investig. em M. E.
	1. Grau académico	2. Categoria profissional	
Jorge Manuel Estima de Almeida Rino (1)	2. Doutoram. (Univ. Paris)	2. Professor Associado	1975
Maria Cândida Pereira Gil (2)	1. Doutoramento (Aveiro)	2. Professor Auxiliar	1987

3. Sumário dos temas investigados

e síntese de alguns dos resultados mais significativos

(Nota: para cada tema, referenciam-se apenas, com os numeros respectivos, os investigadores que alguma vez assinaram, como 1.º autor, artigos da matéria em questão).

3.1. Os estudos, que se iniciaram em meados da década de 70 em Paris (1) e foram retomados recentemente (1) e (2), compreendem a análise da estrutura da parede celular de algumas Algas (*Desmidiáceas*, *Euglenophyta*, *Diatomáceas*). Entre os resultados, discutidos numa perspectiva essencialmente taxonómica, salientam-se os referentes às cutículas de *Euglena* sp. e à parede de *Cosmarium anthophorum* (espécie nova, de Couté) oriundas de Moçambique.

*

* *

Esta actividade de investigação a que nos vimos referindo concretizou-se, obviamente, na apresentação de comunicações e na publicação de artigos. Assim, com o máximo de dados que nos foi possível reunir, elaborámos uma lista bibliográfica, se não exaustiva, pelo menos bastante completa, incluindo os artigos publicados por microscopistas portu-

gueses, até 1988, na área da Biologia Vegetal (ver lista bibliográfica). Foram considerados como artigos, não só os trabalhos publicados em revistas nacionais e estrangeiras, mas também os apresentados em Congressos e depois incluídos em livro especificamente editado para o efeito.

Mais tarde, daremos à estampa uma lista mais completa que incluirá também as Comunicações (22).

Alguns aspectos da maneira como se desenvolveu toda esta actividade durante mais de ¼ de século, podem apreciar-se nos gráficos e curvas das Figs. 11, 12 e 13.

No decorrer desta narração, que já vai longa, para além dos aspectos de conteúdo a que acabo de me referir, muitos nomes foram citados ... e certamente alguns outros o poderiam ter sido com igual oportunidade. A História, no fim de contas, é feita por pessoas e com pessoas e é sabido que em qualquer ramo de actividade, os pioneiros são os pilares dessa História ... Não será portanto de estranhar que nesta resenha se tenha dado particular atenção àquela jovem «família», pequena embora mas muito unida, que, na década de 60, apostou forte na microscopia electrónica e conseguiu, neste domínio, que Portugal não ficasse ignorado no Mundo científico. Outras gerações de microscopistas, de real valia já comprovada, vieram entretanto juntar-se a essa família inicial, mas, como se compreende, a sua enumeração seria impossível nestas circunstâncias.

Terminei a parte narrativa desta comunicação no limiar dos anos 80 que, por serem anos actuais, já não entram nesta História ... Decerto, quando esta década estiver um pouco mais longínqua e portanto susceptível de melhor perspectivação, algum jovem microscopista de agora, porventura com mais engenho, se ocupará de a historiar.

Agradecimentos

Para além das consultas bibliográficas habituais, a elaboração de um trabalho desta natureza exige normalmente a recolha de dados que, não estando publicados, só se tornam acessíveis pela via do inquérito, questionário ou diálogo. Porque, ao procedermos deste modo encontramos a melhor receptividade nos colegas microscopistas, e na impossibilidade óbvia de os enumerar individualmente, aqui deixo expresso o meu sincero agradecimento a todos quantos, de algum modo, quiseram colaborar comigo na feitura deste trabalho.

Todos os dados deste trabalho se reportam até 1988/89.

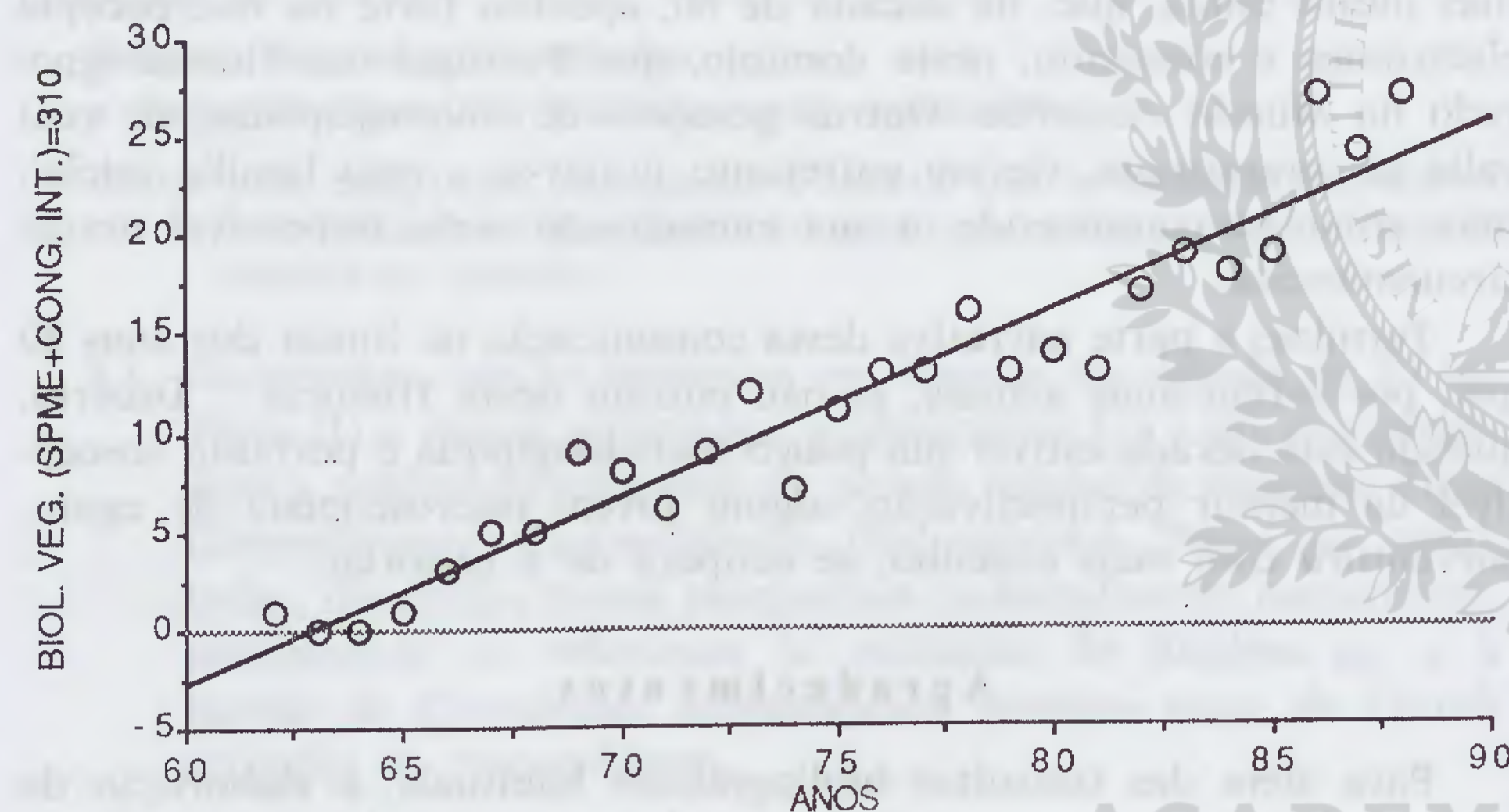
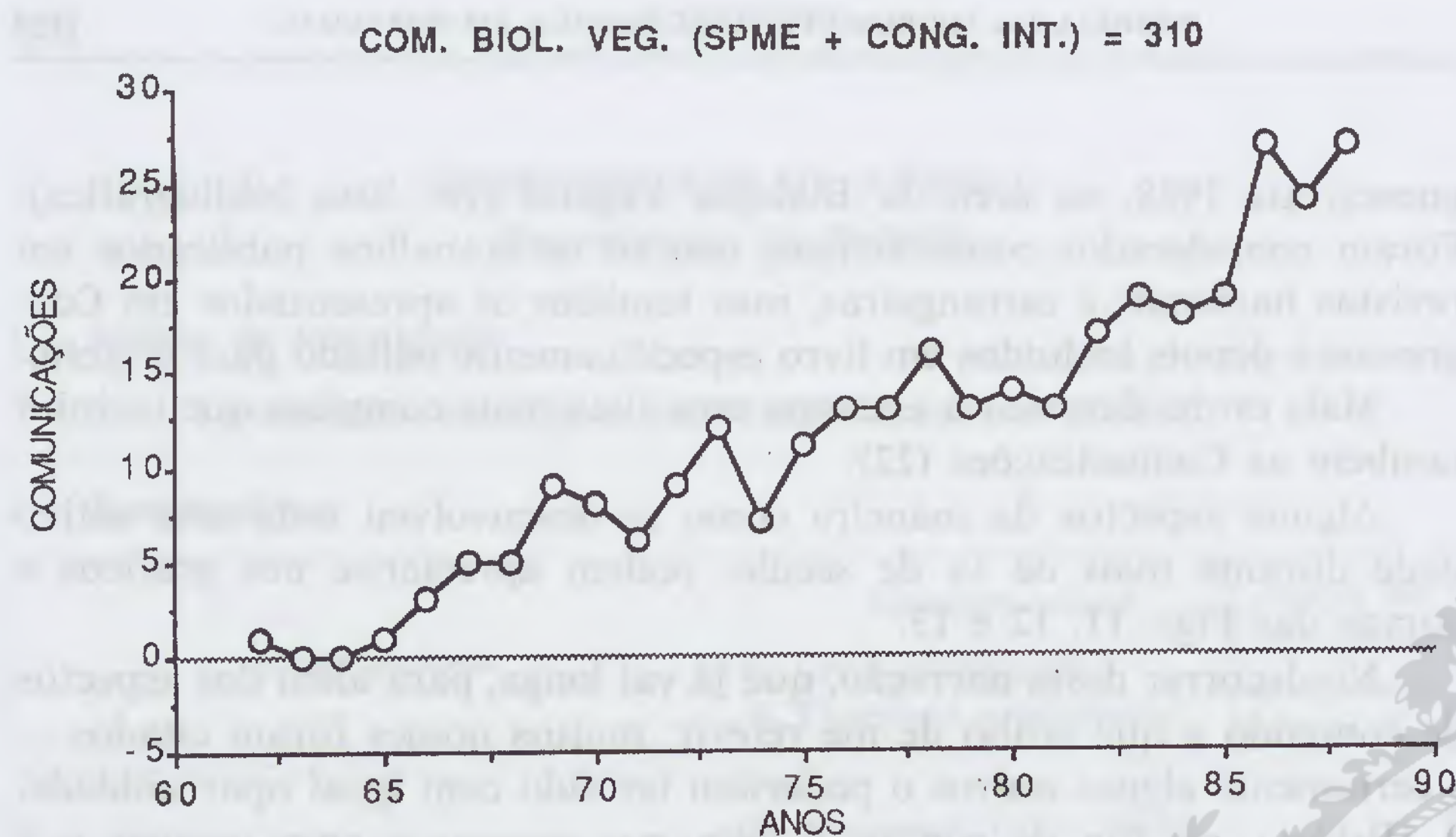


Figura 11

Gráfico da variação do número de comunicações de Biologia Vegetal (Microscopia Electrónica) apresentadas por portugueses, de 1962 a 1988, nas reuniões da SPME e em Congressos Intern. (em cima) e respectiva curva de crescimento (em baixo). A primeira comunicação foi apresentada por Miguel Mota no 5.º Congresso Intern. de Microscopia Electrónica, realizado em 1962, em Fidalândia (USA) (ver Bibliog.).

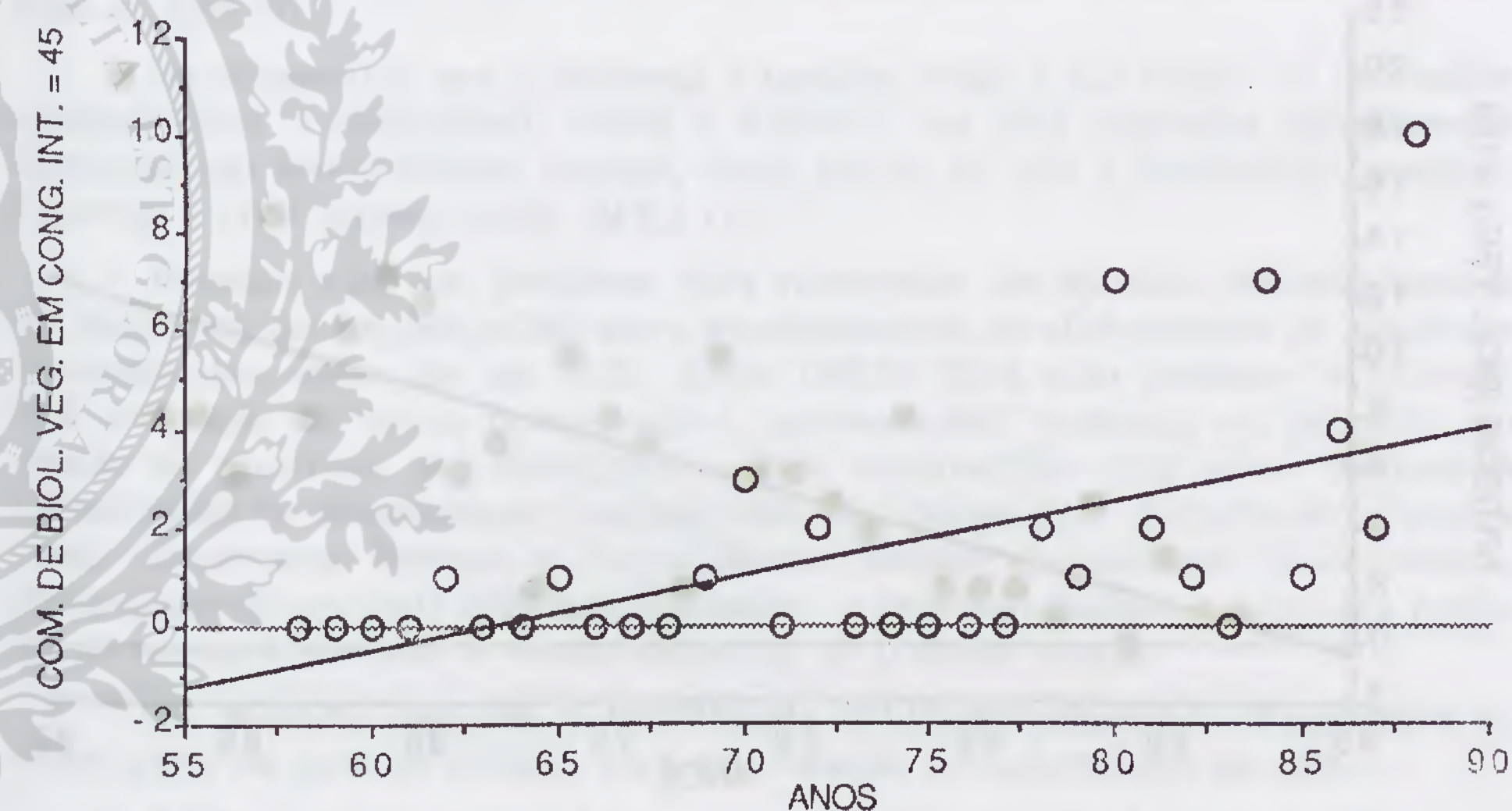
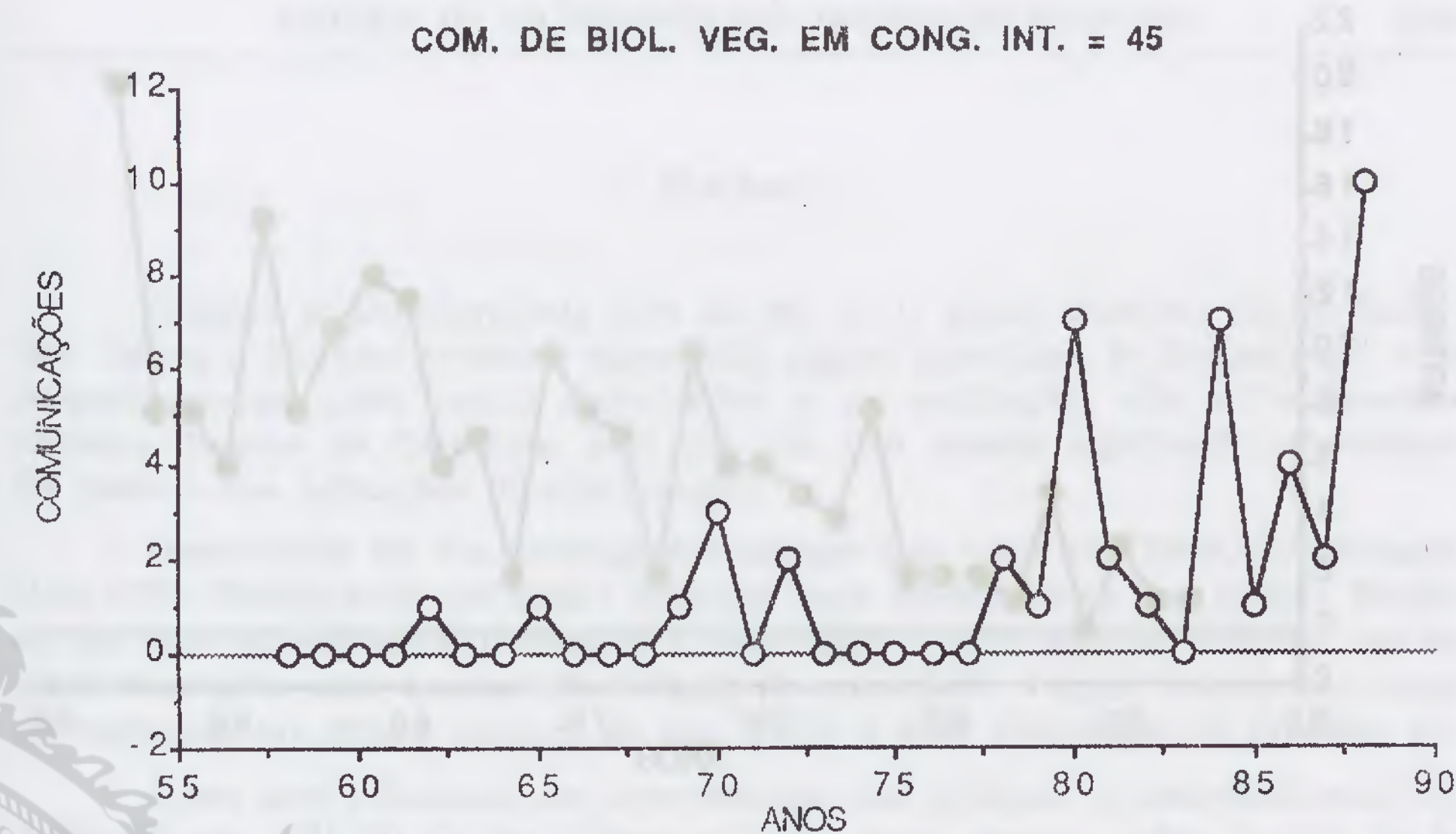


Figura 12

Gráfico de variação do número de comunicações de Biologia Vegetal (Microscopia Electrónica) apresentadas por microscopistas portugueses em Congressos Internacionais (em cima) e respectiva curva de crescimento (em baixo). Notar que durante mais de vinte anos (1957-1979) apenas se contam 11 comunicações, enquanto que em oito anos da última década (1980-1988), esse número se eleva para 34. Os valores mais altos correspondem aos anos de 1980, 1984 e 1988 em que tiveram lugar os últimos três Congressos Europeus de Microscopia Electrónica, realizados, respectivamente, em Haia (Holanda), Budapest (Hungria) e York (Inglaterra).

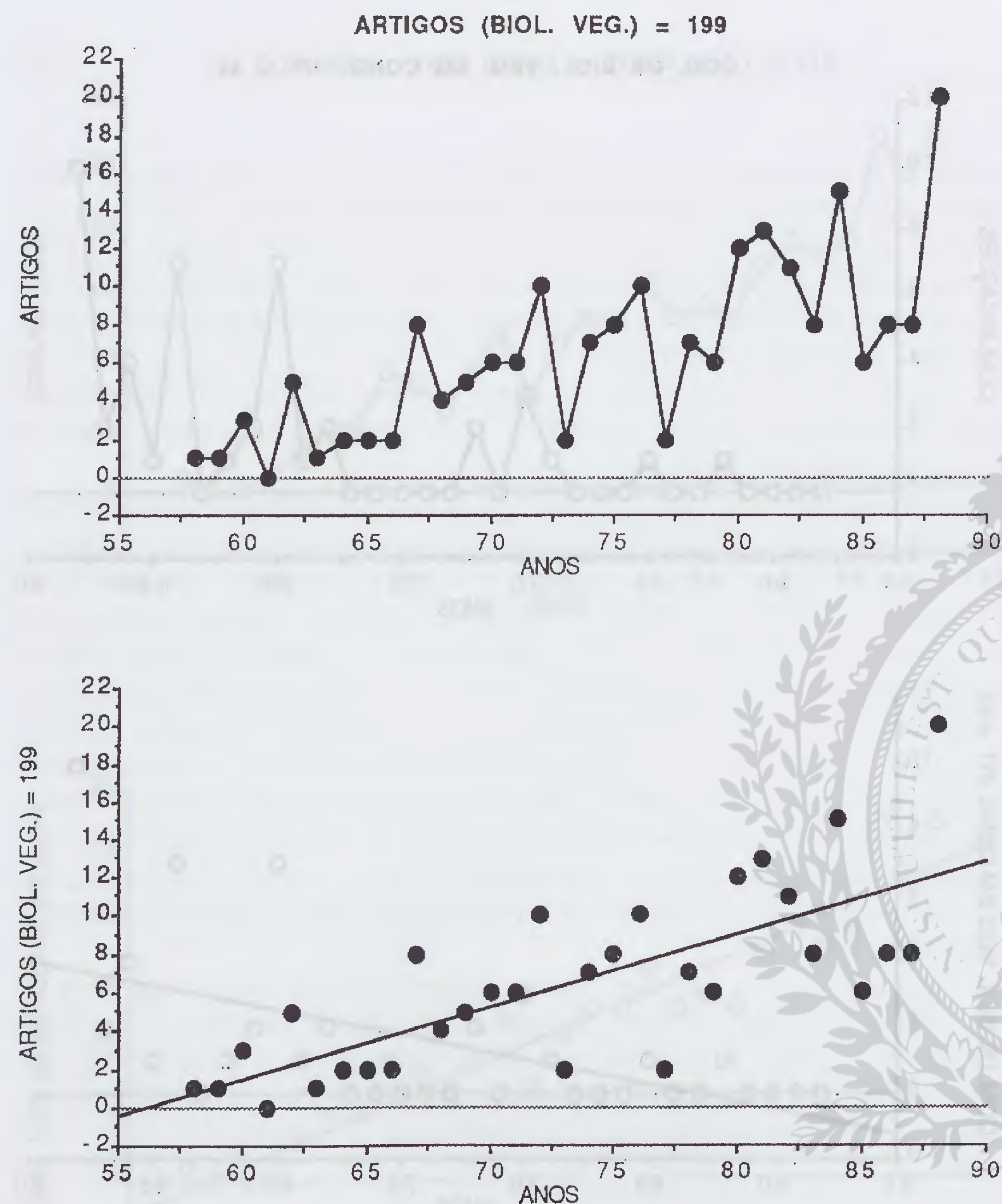


Figura 13

Distribuição dos artigos publicados por microscopistas portugueses, no âmbito da Biologia Vegetal, durante as últimas três décadas (1958-1988) (em cima) e respectiva curva de crescimento (em baixo). O primeiro artigo é da autoria de J. David-Ferreira e M.L. Borges e foi publicado no *Boletim da Sociedade Broteriana* em 1958 (ver Lista Bibliográfica). Como se refere no texto, foram também considerados como artigos, os trabalhos incluídos nos livros de *Actas* de Congressos especificamente editados para o efeito. Comparando com a Fig. 11, verifica-se que o número total de artigos é bastante inferior ao das comunicações e a sua distribuição muito mais irregular, como aliás é habitual nesta matéria. O crescimento é razoável ($y = 0.38$). Contudo, tendo em conta os dados da Fig. 11, pode tornar-se bastante mais significativo se for feito um esforço pelos Autores, no sentido de passarem a artigos maior número de resultados apresentados em comunicações.

Notas

¹ Embora já anteriormente (fins do séc. XVI) alguns «físicos» (Hans, Zacharias Jensen e Kircher) tivessem construído alguns aparelhos, as imagens que eles proporcionavam eram muito deformadas e as ampliações não ultrapassavam algumas dezenas de diâmetros, pelo que não têm grande significado em termos da história das aplicações da microscopia.

² Leewenhoek foi um investigador alemão que viveu em Delft, na Holanda (1632-1723). Baseando-se nas ideias expostas uma década antes por Robert Hooke no seu livro *Micrographia*, dedicou-se à construção de microscópios simples com os quais examinou uma enorme diversidade de materiais... cujos resultados foram apresentados no último quartel do séc. XVII à Real Sociedade de Londres (1).

³ A sua tese («Estudos nos cromossomas das Liliáceas e Amarilidáceas») foi defendida em 1931 (6). O seu último trabalho, nesta matéria («Sur le rôle de la triploidie dans l'évolution chez la section *Bulbocodii* DC du genre *Narcissus* L.») data de 1987 (7).

⁴ Ao demonstrar que o plastoma é tanófilo desde a sua origem (o que nunca acontece com o condrioma), afasta a hipótese dos dois organelos (plastídeos e mitocôndrias) terem origem comum, como depois se veio a demonstrar inequivocamente a nível ultraestrutural (M.E.) (1).

⁵ Fazemos aqui um parêntese para referirmos um episódio curioso: trata-se da existência em Lourenço Marques, concretamente no «Laboratório de ensaios e mecânica dos solos», de um M.E., desde 1955-56. Terá sido portanto o primeiro M.E. instalado em terras portuguesas e, curiosamente, destinado em princípio, ao estudo de materiais não biológicos!... Este microscópio viria a ser ofertado à Universidade de Moçambique, precisamente ao Serviço onde trabalharam Teixeira Pinto, Nascimento Ferreira e Vasco Bairos. Apesar dos esforços desenvolvidos, nomeadamente por este último investigador, a operacionalidade conseguida nunca foi de molde a permitir o desenvolvimento de trabalho sólido.

⁶ De salientar também a colaboração do Departamento de Matemática ao ceder parte da cave do edifício para a instalação do Laboratório de M.E.

⁷ Refira-se, como efeméride, o «aparecimento» nesta data do emblema da S.P.M.E., desenhado pelo Dr. Hernâni Maia que, actualmente, é professor da Universidade do Minho.

⁸ Por exemplo, nas reuniões organizadas pela Sociedade, foram já proferidas, por reputados especialistas estrangeiros, mais de quatro dezenas de Conferências sobre temas candentes em áreas científicas diversas envolvendo a microscopia electrónica.

Bibliografia

- (1) FORD, B. J. (1989)
Reappraising the history of microscopy: revelation and the microscope.
European Microscopy and Analysis, 1: 5-10
- (2) BECKER, W. M. (1986)
The world of the cell.
The Benjamin/Cummings Publish. Comp., Inc.
- (3) De ROBERTIS, E. D. P. and De ROBERTIS, Jr., E. M. F. (1987)
Cell and molecular biology.
Lea & Febiger Edit., Philadelphia, P. A.
- (4) QUINTANILHA, A. (1939)
Étude génétique du phénomène de Buller.
Bol. Soc. Brot. 13: 425-486
- (5) QUINTANILHA, A. (1945)
O problema das plantas carnívoras — Estudo citofisiológico da digestão no «Drosophyllum lusitanum».
Coimbra, Imprensa da Universidade.
- (6) FERNANDES, A. (1931)
Estudos nos cromossomas das Liliáceas e Amarilidáceas.
Bol. Soc. Brot., Sér. 2, 7: 3-110
- (7) FERNANDES, A. (1946)
Sur le rôle de la triploïdie dans l'évolution chez la section Bulbocodii DC. du genre Narcissus L.
- (8) FERNANDES, A. (1946)
Sur le comportement des chromosomes surnuméraires hétérochromatiques pendant la meiose. I - Chromosomes longs hétérobrachiaux.
Bol. Soc. Brot. 20: 83-154
- (9) FERNANDES, A. et MESQUITA, J. F. (1963)
Sur le comportement des chromosomes surnuméraires hétérochromatiques à la meiose. II - Chromosomes courts hétérobrachiaux et isobrachiaux.
Port. Acta Biol. 7: 139-168.
- (10) FERNANDES, A. e SERRA, J. A. (1945)
Sobre a origem das substâncias constituintes do nucléolo.
Revista da Fac. de Ciências da Univ. Coimbra 14: 1-18
- (11) SALAZAR, A. L. (1920)
Méthode de coloration tanno-ferrique.
C. R. Soc. Biol. 83: 1655

- (12) SALAZAR, A. L. (1943)
Sur la question chondriome et plastidome.
Anat. Anz. Bd. 94: 225-228
- (13) DAVID-FERREIRA, J. F. (1985)
Reflexões sobre a vida e a obra de Augusto Celestino da Costa.
Jornal da Soc. das Ciências Médicas de Lisboa 149 (6): 378-386
- (14) DAVID-FERREIRA, J. F. (1986)
A contribuição da Fundação Calouste Gulbenkian para o desenvolvimento da investigação biomédica em Portugal.
Jornal da Soc. das Ciências Médicas de Lisboa 150 (8): 397-400
- (15) AVERY, O. T. C., MacLEOD, C. M. and McCARTY, M. L. (1944)
Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of Pneumococcal types.
J. Exp. Med. 79: 137 [In A. Quintanilha, *Rev. Ciênc. Biol.* (Univ. Lourenço Marques) 1: 1-77 (1970)].
- (16) HERSHEY, A. D. and CHASE, M. (1951)
Genetic recombinations and heterozygosis in bacteriophage.
Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 16 [In A. Quintanilha, *Rev. Ciênc. Biol.* (Univ. Lourenço Marques) 1: 1-77 (1970)].
- (17) WATSON, J. D. and CRICK, F. H. C. (1953)
Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid.
Nature 171: 737
- (18) COIMBRA, A. (1987)
Vinte anos da Sociedade Portuguesa de Microscopia Electrónica.
«O Médico» 116: 532-538
- (19) MOTA, M. e FREITAS DA SILVA (1969)
Bibliografia Portuguesa de Microscopia Electrónica (1943-1969).
Edição da S.P.M.E.-Lisboa
- (20) MOTA, M. e FREITAS DA SILVA (1973)
Bibliografia Portuguesa de Microscopia Electrónica.
I.º Aditamento (1950-68) e (1969-73).
Edição da S.P.M.E.-Luanda
- (21) AZEVEDO, C.; CASTILHO, F. e RUSSELL-PINTO, F. (1983)
Bibliografia Portuguesa de Microscopia Electrónica (1974-83).
Edição da S.P.M.E.-Porto
- (22) MESQUITA, J. F.
Bibliografia Portuguesa de Microscopia Electrónica, no âmbito da Biologia Vegetal (em preparação)

ANEXO

BIBLIOGRAFIA PORTUGUESA DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA
NO ÂMBITO DA BIOLOGIA VEGETAL.

(ARTIGOS PUBLICADOS ATÉ 1988, INCLUSIVE)

- ABREU, I. e SANTOS, A.
Intimate association between endoplasmic reticulum and plastids during microsporogenesis in *Lycopersicum esculentum* Mill. and *Solanum tuberosum* L.
J. Submic. Cytol., 9, 2-3: 239-246 — 1974
- ABREU, I., SANTOS, A. & SALEMA, R.
Fine structure of protein crystals and baciliform-type virus in anthers of *Lycopersicum esculentum* Mill.
Bull. Soc. Brot., 55: 9-17 — 1981
- ABREU, I., SANTOS, A. & SALEMA, R.
Atypical mitochondria during microsporogenesis in *Cucumis sativus* L.
J. Submic. Cytol., 14: 367-375 — 1982.
- ABREU, I. e SALEMA, R.
Amyloplast variation during microsporogenesis and pollen germination in *Cucumis sativus* L.
VII Simposio de Palinologia, Granada. 1988
- ABREU, I. e SALEMA, R.
Effects of nifedipine in the growth of *Cucumis sativus* L. pollen tubes.
VII Simposio de Palinologia, Granada. 1988
- ALMEIDA, M.M. e BORGES, M.L.V.
Vírus do mosaico da melancia em Portugal. Características, serologia e aspectos ultrastruturais do hospedeiro.
Rev. Biol., 12: 243-254 — 1974
- ANTUNES, T., MARTINS, M.M. and BORGES, M.L.V.
Cell ultrastructure of *Vicia faba* L. infected with broad bean mosaic virus.
Port. Acta Biol., XIII, A: 191-194 — 1974
- ANTUNES, T.
Secretory leaf glands of *Ruta chapelensis* L.. Ontogeny and secretory process.
II Meeting - Secretion in plants. Algarve, Portugal, 1980

- ANTUNES, T. e PAIS, M.S.S.
Ultrastructural aspects of specialized epidermic cells in continuity with peripheral glands from *Ruta chapelensis* L.
International Symposium on Aromatic Plants. Kalithea-Kassandra, Grécia. 1981
- ANTUNES, T.
Ultrastructure of secretory leaf glands of *Ruta chapelensis* L.
Bull. Soc. Fr., Actual. bot., 129: 79-82 — 1982
- ANTUNES, T. e SEVINATE-PINTO, I.
Glandular trichomes of *Teucrium scorodonia* L.. Ultrastructure and secretion.
9th European Congress on Electron Microscopy, York. 1988
- ASCENÇÃO, L., MARTINS, M.M. e BORGES, M.L.V.
Ultrastructural and physiological changes in *Nicotiana tacabum* L. infected with tobacco vein necrosis virus.
Port. Acta Biol., XIII, A: 109-116 — 1974
- ASCENÇÃO, L. e PAIS, M.S.S.
Ultrastructural aspects of secretory trichomes in *Cistus monspeliensis* L.
in: *Tasks for vegetation Science 4 - Components of productivity of Mediterranean-climate regions. Basic and applied aspects.*
Margaris, N.S. and Mooney, H.A. (eds.),
Dr. W. Junk Publishers, The Hayne, Boston and London — 1981
- ASCENÇÃO, L. e PAIS, M.S.S.
Secretory trichomes of *Artemisia crithmifolia*: some ultrastructural aspects.
Bull. Soc. Fr., Actual. bot., 129: 83-87 — 1982
- ASCENÇÃO, L. e PAIS, M.S.S.
Differentiation et processus sécréteur des trichomes d'*Artemisia campestris* ssp. *maritima* (Compositae).
Ann. Sci. Nat. Biol., 7: 149-171 — 1985
- ASCENÇÃO, L. e PAIS, M.S.S.
Glandular trichomes of *Artemisia campestris* (ssp. *maritima*): ontogeny and histochemistry of the secretory product.
Bot. Gaz., 148: 221-227 — 1987
- ASCENÇÃO, L. e PAIS, M.S.S.
Ultrastructure and histochemistry of secretory ducts in *Artemisia campestris* (ssp. *maritima*).
Nord. J. Bot., 8: 23-292 — 1988

- BADENHUIZEN, N. P. e SALEMA, R.
Observations on the development of chloroamyloplasts.
Revista de Biologia, **61**, 1-2: 139-155 — 1967
- BARBOSA, M. L. F. e PINTO DA SILVA, P.
Asymmetric topology of glycolipids in membranes: Concanavalin A labelling of membrane halves in *Acanthamoeba castellanii*.
Cell, **33**: 959-966 — 1983
- BARROSO, J. e PAIS, M. S. S.
Glycogen mobilization during the establishment of *Ophrys lutea* endomycorrhizae.
8th Eur. Cong. Electron Microscopy, Proc.: 2129-2130 — 1984
- BARROSO, J. e PAIS, M. S. S.
Characterization cytochimique de interface d'*Ophrys lutea* endomycorrhizae. Role de l'hôte dans la production du composant polysaccharide.
Ann. Sci. Nat. (Paris), **13**, 7: 237-244 — 1985
- BARROSO, J., CHAVES NEVES, H. and PAIS, M. S. S.
Ultrastructural, cytochemical and biochemical aspects related to the formation of *Ophrys lutea* endomycorrhizae.
Physiol. and Genet. Aspects of Mycorrhizae (ed. Gianninazi-Person and S. Gianninazi): 265-269 — 1986
- BARROSO, J. e PAIS, M. S. S.
Coated vesicles in the cytoplasm of the host cells in *Ophrys lutea* Cav. mycorrhizae (*Orchidaceae*).
New Phytol., **105**: 67-70 — 1987
- BARROSO, J., CASIMIRO, J., CARRAPIÇO, F. and PAIS, M. S. S.
Localization of uricase in mycorrhizae of *Ophrys lutea* Cav.
New Phytol., **108**: 335-340 — 1988
- BORGES, M. L. V.
O «Frisado da Valenciana». Virose da batateira frequente em Portugal.
Agronomia Lusitana, **20**, 4: 283-292 — 1958
- BORGES, M. L. V. e DAVID-FERREIRA, J. F.
Vírus na célula vegetal. Observações ao microscópio electrónico. II - Vírus X da batateira.
Portugaliae Acta Biologica, **A**, **6**, 1: 18-22 — 1959
- BORGES, M. L. V.
Vírus X da batateira em Portugal. Características, purificação, serologia e microscopia electrónica.
Agronomia Lusitana, **24**, 3: 231-251 — 1964

- BORGES, M. L. V.
Vírus Y da batateira em Portugal. Características, purificação, serologia. Microscopia electrónica.
Agronomia Lusitana, **26**, 2: 115-130 — 1965
- BORGES, M. L. V., SANTOS, M. F. F. e BARROS, M. L. de
O mosaico do tremoceiro em Portugal.
Agronomia Lusitana, **29**, 3: 153-163 — 1967
- BORGES, M. L. V. and DAVID-FERREIRA, J. F.
Comparative study of cell structure in *Datura Metel* L. healthy and infected with potato virus X or potato virus Y.
Revista de Biologia, **6**, 3-4: 421-437 — 1968
- BORGES, M. L. V. e DAVID-FERREIRA, J. F.
Presence of mycoplasma in *Lycopersicum esculentum* Mill. with «Mal Azul».
Boletim da Sociedade Broteriana, **42** (2.ª série): 321-333 — 1968
- BORGES, M. L. V.
Mal azul de la tomate au Portugal et ses relations avec *Mycoplasma* sp.
2.º Cong. União Fitopat. Mediterrânica. França, Avinhão. 1969
- BORGES, M. L. V.
Aspectos da ultrastrutura das células de plantas com vírus (revisão).
29.º Congresso Luso-Espanhol para o Progresso das Ciências. Lisboa. 1970
- BORGES, M. L. V. e DAVID-FERREIRA, J. F.
Observations on the phloem of tomato plants infected with *mycoplasma* sp.
Septième Congrès Intern. de Microscopie Electronique. Grenoble, **3**: 315-352 — 1970
- BORGES, M. L. V.
O vírus da necrose das nervuras do tabaco. (Estirpe do vírus Y da batateira), seu aparecimento em Portugal.
Agronomia Lusitana, **32**: 271-282 — 1971
- BORGES, M. L. V.
Mycoplasma and potato diseases.
Potato Research, **15**: 187-199 — 1972
- BORGES, M. L. V. e MARTINS, M. M.
A regressão floral do tabaco. Presença de micoplasmas e acção de antibióticos.
Agronomia Lusitana, **33**: 443-453 — 1972
- BORGES, M. L. V.
Mycoplasmas Rickettsias e doenças das plantas.
Natura, **2**: 1-32 — 1975

BORGES, M.L.V., SEQUEIRA, J.C. & LOURO, D.
Potyvirus recorded in Portugal, characteristics, host ultrastructure and serological relationships.
3rd Int. Cong. Pl. Pathol., München. 1978

BORGES, M.L.V., SEQUEIRA, J.C. & LOURO, D.
Aparecimento em Portugal do Vírus do emangericado do tomateiro (tomato bushy stunt virus). Hospedeiros, morfologia e localização nas células do pimenteiro.
Phytopathologia mediteranea, **18**: 118-122 — 1979

BORGES, M.L.V., SEQUEIRA, J.C. & LOURO, D.
Potyviruses recorded in Portugal. Purification, serology and host virus ultrastructural relationships.
Bol. Soc. Brot., **53**: 933-942 — 1981

BORGES, M.L.V.
Mosaico da Faveira em Portugal. Etiologia e relações vírus-hospedeiro.
Garcia de Orta, **9**: 279-284 — 1982

BORGES, M.L.V.
Sugar beet pathogens recorded in Portugal.
Report Sixth Congress of the Mediterranean Phytopathological Union. Egipto, Cairo: 289-290 — 1984

BOURRELLY, P., COUTÉ A. et RINO, J.A.
Ultrastructure de la cuticule de quelques Eugléniens: I. *Euglena oxyuris* var. *minor* Defl. et *Euglena spirogyra* var. *Fusca* (Klebs) Lemm.
Protistologica, **XII**, 4: 623-628 — 1976

BRANDÃO, I. e SALEMA, R.
Visualization of DNA-fibrils in chloroplasts.
Bol. Soc. Brot., **49**: 197-212 — 1975

BRANDÃO, I. e SALEMA, R.
Callus and plantlets development from cultured leaf explants of *Sedum telephium* L.
Z. Pflanzenphysiol., **85**: 1-18 — 1977

CARRAPIÇO, F. e PAIS, M.S.S.
Iodure de potassium-tetroxyde d'osmium. Une méthode d'imprégnation en microscopie électronique.
C. R. Acad. Sc., Paris, **292** (D): 131-135 — 1981

CARRAPIÇO, F., PAIS, M.S.S. e MARTINS, A.
The use of alkaline iodides-osmium tetroxide mixtures in the study of plant cell structure.
Electron Microsc., **63**: 289-290 — 1982

CARRAPIÇO, F. e PAIS, M.S.S.
Cytochemical localization of lipases during spore germination from *Bryum capillare*.
Eur. J. Cell Biol., **30**: 42-46 — 1983

CARRAPIÇO, F., PAIS, M.S.S. e COSTA, F.M.
Impregnation of biological material by $Zn\ I_2$ -Os O_4 and Na I-Os O_4 mixtures for electron microscopic observations. Chemical interpretation of the reaction.
J. Microsc., **134**: 193-202 — 1984

CARRAPIÇO, F. e TAVARES, R.
New data on the *Azolla-Anabaena* symbiosis. I - Morphological and histochemical aspects.
In: *Nitrogen Fixation with non-legumes*: 89-94
F. A. Skinner et al. (Eds.), Kluwer Academic Publishers. — 1989

CARRAPIÇO, F. e TAVARES, R.
New data on the *Azolla-Anabaena* symbiosis. II - Cytochemical and immunocytochemical aspects.
In: *Nitrogen Fixation with non-legumes*: 95-100
F. A. Skinner et al. (Eds.), Kluwer Academic Publishers. — 1989

CARVALHO, J.M. de and CRAWLEY, J.C.W.
The fixation of chromosomes for electron microscopy.
Experimental Cell Research, **20**, 1: 211-213 — 1960

CATARINO, F.M. e BORGES, M.L.V.
Ultrastrutura do floema em plantas de *Anthemis fuscata* com anomalias florais.
29.º Congresso para o Progresso das Ciências. Lisboa: 83 — 1970

CHAPMAN, K.D., TURLEY, R.B., HERMERATH, C.A, CARRAPIÇO, F. and TRELEASE, R.N.
Is malate synthase a membrane protein?
Plant Physiol., **83**, 4: 39 — 1987

CORTESÃO, L. e REZENDE-PINTO, M.C. de
On the plastid structure of *Iris germanica* L.
Portugaliae Acta Biologica, A, X, 3-4: 309-313 — 1968

COUTÉ, A. et RINO, J.A.
Structure de la membrane de *Cosmarium anthophorum* Couté et Rousselin.
Protistologica, **XI**, 1: 75-81 — 1975

DAVID-FERREIRA, J.F. e BORGES, M.L.V.
Vírus na célula vegetal. Observações ao microscópio electrónico. II - Vírus Y da batateira.
Boletim da Sociedade Broteriana, **32**: 329-332 — 1958

FÁTIMA SANTOS, M. et MESQUITA, J. F.
Action de la terbutrine (herbicide) sur la cellule végétale. II - Études des effects produits sur le riz (*Oryza sativa*).
Bol. Soc. Brot., **53** (Série 2): 839-854 — 1981

FÁTIMA SANTOS, M. and MESQUITA, J. F.
Ultrastructural study of *Haematococcus lacustris* (Volvocales). I - Some aspects of carotenogenesis.
Cytologia, **49**: 215-228 — 1984

FEIJÓ, José A. and PAIS, M. S. S.
Ultrastructural modifications of plastids and starch metabolism during the microsporogenesis of *Ophrys lutea* Cav. (Orchidaceae).
Ann. of Botany, **61**: 215-219 — 1988

FEIJÓ, José A. and PAIS, M. S. S.
Citomixis in meiosis during the microsporogenesis of *Ophrys lutea*: An ultrastructural study.
Caryologia, **42**, 1: 37-48 — 1988

FERREIRA, A. A. and SEQUEIRA, O. A. de
Preliminary studies on an undescribed grapevine virus.
Ann. Phytopathol., (Hors sér.): 113-120 — 1972

FIGUEIREDO, A. C. S. and PAIS, M. S. S.
Scanning electron microscopy of the nectary spur of *Limodorum abortivum*.
Scanning Electron Microscopy (em publicação)

FRANCA, A. F.
On the presence of virus-like particles in the dinoflagellate *Gyrodinium resplendens*.
Protistologica, **XII**, 3: 425-430 — 1976

FRANCA, A. F. and SOUSA, I.
Ultrastructural effect of tetracycline on Dinoflagellate nucleus.
VII European Congress on Electron Microscopy. The Hague.
Electron Microscopy, **2**: 268-269 — 1980

FRANCA, A. F.
Ultrastructural aspects of extranucleolar transcription in the dinoflagellate *Amphidinium carterae*, revealed by ultrachemistry and high-resolution autoradiography.
2nd. Int. Congress on Cell Biology. Berlin.
Eur. J. of Cell Biology, **22**: 49 — 1980

FRANCA, S. e SILVA, E. S.
Intracellular bacteria in dinoflagellates; further observations.
VI Inter. Congress in Protozoology, Abstracts. *Progress in Protozoology*: 99 — 1981

FRANCA, S.
Unusual nuclear border in cells of *Gyrodinium instriatum* with and without endocellular bacteria.
3th Inter. Conf. on Modern and Fossil Dinoflagellates, DINO3. Egham — 1985

FRANCA, S.
The association Dinoflagellate-Bacteria: Ultrastructural observations on *Gyrodinium instriatum* with endocellular bacteria.
4th Inter. Conf. on Modern and Fossil Dinoflagellates, DINO4. Woods Hole — 1988

HENRIQUES, F. S. and PARK, R. B.
Further chemical and morphological characterization of chloroplast membranes from a Chlorophyll b-less mutant of *Hordeum vulgare*.
Plant Physiol., **55**: 763-767 — 1975

HENRIQUES, F. S. and PARK, R. B.
Development of the photosynthetic unit in lettuce.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **73**, 12: 4560-4564 — 1976

HENRIQUES, F. S. and WEBB, M. F.
Comparative study of two grasses from different habitats by scanning electron microscopy.
Cytologia, **54**: 299-305 — 1988

HENRIQUES, M.-I. e HENRIQUES, F. S.
Cauliflower mosaic and Broccoli necrotic yellow viruses in *Brassica oleracea* L. in Portugal.
Phytopath. medit., **23**: 85-87 — 1984

HENRIQUES, M.-I. e HENRIQUES, F. S.
Association of malva vein-clearing virus and rhabdoviruslike particles with mottle and vein clearing of malva plants.
Can. J. Bot., **64**: 85-89 — 1986

LAGE, O. e SALEMA, R.
Ultrastructural and physiological alteration in *Prorocentrum micans* Ehr submitted to continuous darkness.
4th Intern. Conf. on Modern and Fossil Dinoflagellates, DINO4. Woods Hole — 1988

LOURO, D. and LESEMANN, D.
Use of protein A-gold complex for specific marking of antibodies bound to plant viruses. I - Viral antigens in suspensions.
J. Virological Methods, **9**: 107-122 — 1984

LOURO, D. and LESEMANN, D.
Rhabdovirus particles associated with a tomato disease in Portugal.
6th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union. Cairo, Egipto.
Proceedings: 374-375 — 1984

LOURO, D.

Some aspects of unusual structures associated with necrotic symptoms in carnations. In: *Electron Microscopy Applied in Plant Pathology*. Konstanz, R.F.A., 19-22 de Setembro. Abstracts: 101. Ed. K. Mendgen and D.E. Lesemann — 1989

MAIA, M. I.

A scanning electron microscope study of the leaves of *Ceratonia siliqua* L. II. *International Carob Symposium*. Valência, Espanha. 1987

MENDONÇA, A. de V., SEQUEIRA, O. A. and MOTA, M.

Mycoplasma-like structures extracted from *Vitis vinifera* L. and observed by the negative staining technique. *Agronomia Lusitana*, **35**, 3: 277-282 — 1974

MENDONÇA, A. V., SEQUEIRA, O. A., MOTA, M., PEREIRA, A. N. and SIMÕES, V. Applicability of immunosorbent electron microscopy (ISEM) for the detection and identification of CM 112 virus in grapevine.

Proceedings of the 7th Meeting of International Council for the study of Viruses and Virus-like diseases of the Grapevine: 245-250. Nigara Falls, Canada — 1980

MESQUITA, J. F.

Sur les modifications du réticulum endoplasmique et des mitochondries dans les cellules méristématiques d'*Allium cepa* L. traitées par la colchicine. *C. R. Ac. Sc., Paris*, **263**: 1827-1829 — 1966

MESQUITA, J. F.

Sur la perturbation de la cytodierèse dans les cellules méristématiques des racines d'*Allium cepa* L. traitées par l'acénaphthène. *C. R. Acad. Sci., Paris*, **265**: 322-325 — 1967

MESQUITA, J. F. et MANGENOT, S.

Action de la vincalécoblastine sur les cellules méristématiques des racines d'*Allium cepa* L. *C. R. Acad. Sc., Paris*, **265**: 1917-1919 — 1967

MESQUITA, J. F.

Sur les modifications ultrastructurales produites par le phényl-uréthane dans les cellules méristématiques des racines d'*Allium cepa* L. *C. R. Acad. Sc., Paris*, **267**: 303-305 — 1968

MESQUITA, J. F.

Electron microscope study of the origin and development of the vacuoles in root-tip cells of *Lupinus albus* L. *Journal of Ultrastructure Research*, **26**, 3-4: 242-250 — 1969

MESQUITA, J. F.

Étude ultrastructurale de vésicules associées aux parois cellulaires dans les racines d'*Allium cepa* L. et du *Lupinus albus* L. (vésicules plasmalemmiques et plasmalemmasomes).

Revue de Cytologie et Biologie Vegetales, **33**, 4: 253-264 — 1970

MESQUITA, J. F.

Inhibition de la morphogénèse des chloroplastes dans les racines du *Lupinus albus* L. exposées à la lumière.

Bol. Soc. Brot., **45** (2.^a série): 363-374 — 1971

MESQUITA, J. F.

Altérations ultrastructurales des plastides au cours du verdissement expérimental des racines du *Lupinus albus* L.

Portugaliae Acta Biologica, **12**, A (1-2): 63-352 — 1971

MESQUITA, J. F.

Ultrastructure de formations comparables aux vacuoles autophagiques dans les cellules des racines de l'*Allium cepa* L. et du *Lupinus albus* L.

Cytologia, **37**, 1: 95-110 — 1972

MESQUITA, J. F.

Autoradiographic study of the function of the plasmalemmasomes in root-tip cells. *J. Submic. Cytology*, **6**: 931-397 — 1974

MESQUITA, J. F.

La différenciation des plastides dans les fleurs de *Narcissus* L. I-Modifications ultrastructurales et pigmentaires pendant la morphogénèse des chromoplastes chez *Narcissus bulbocodium* L.

Revista de Biologia, **10**, 1-4: 127-150 — 1976

MESQUITA, J. F.

La différenciation des plastides dans les fleurs de *Narcissus* L. II-Modifications ultrastructurales et pigmentaires pendant la morphogénèse des leucoplastes chez *N. triandrus* L. var. *cernuus*.

Revista de Biologia, **10**, 1-4: 151-164 — 1976

MESQUITA, J. F. e SANTOS, M. F.

Études cytologiques sur les algues jaunes (*Chrysophyceae*). I-Ultrastructure de *Chrysocapsa epiphytica* Lund.

Bol. Soc. Brot., **50** (Série 2): 63-98 — 1976

MESQUITA, J. F. e SANTOS, M. F.

Cytological studies in golden algae (*Chrysophyceae*). II-First cytochemical demonstration of peroxisomes in *Chrysophyceae* (*Chrysocapsa epiphytica* Lund.).

Cytobiologia, **14**: 38-48 — 1976

- MESQUITA, J. F., SANTOS DIAS, J. D. and MARTINHO, A. P.
Chromoplast differentiation in fruits of *Musa* sp. (banana-tree).
Biologie Cellulaire, **39**, 3: 343-438 — 1980
- MESQUITA, J. F., SANTOS, M. F. and SANTOS DIAS, J. D.
Ultrastructural study of cytoplasmic cleavage in *Spongiochloris* sp.
Proceedings *EUREM-80* (Netherlands), **2**: 236-237 — 1980
- MESQUITA, J. F. e SANTOS, M. F.
Action de la terbutrine (herbicide) sur la cellule végétale. I - Étude cytologique des effets produits sur deux algues vertes: *Rhizoclonium hieroglyphicum* (Kütz) Stockm. et *Tetraedron minimum* (A. Braun) Hansgirg.
Bol. Soc. Brot., **53**, 2: 823-838 — 1981
- MESQUITA, J. F. e SANTOS, M. F.
Cytological studies in golden algae (*Chrysophyceae*). III - Fine structure of mitosis and cytokinesis in the «Apistonema stage» of a *Coccolithophoraceae*.
J. Submic. Cytol., **15**, 3: 751-765 — 1983
- MESQUITA, J. F. e SANTOS, M. F.
Ultrastructural study of *Haematococcus lacustris* (Girod.) Rostafinski (*Volvocales*). II - Mitosis and cytokinesis.
Cytologia, **49**: 229-241 — 1984
- MESQUITA, J. F. e SANTOS DIAS, J. D.
Anomalous plastids in root cells of *Lupinus albus* L.: Ultrastructural and cytochemical aspects.
Proceedings *EUREM-84* (Hungary), **3**: 2115-2116 — 1984
- MESQUITA, J. F. e SANTOS DIAS, J. D.
Ultrastructural and cytochemical study of the laticifers of *Cannabis sativa* L.
Bol. Soc. Brot., **57** (Sér. 2): 337 — 1984
- MESQUITA, J. F. e SANTOS DIAS, J. D.
Iodide/osmium tetroxide mixtures in the ultrastructural study of leaf tissues of *Lavandula latifolia* Medicus.
Bol. Soc. Brot. **59** (Sér. 2): 333 — 1986
- MESQUITA, J. F., SANTOS, M. F. and SANTOS DIAS, J. D.
Cytological studies in *Chromophyta*. IV - The lamellate vesicles of *Eustigmatophyceae* (*Pleurochloris magna*).
Colloques de Nantes (S. F. M. E.). In: *Biol. of Cell* (Paris), **57**: 14a — 1986
- MESQUITA, J. F. e SANTOS DIAS, J. D.
Ultrastructure of *Chricosphaera carterae* (*Coccolithophoraceae*) following treatment with monensin. (Poster).
Abstracts XIV Int. Bot. Congress (Berlin-West), **89** (1-132-5) — 1987

- MESQUITA, J. F. e SANTOS DIAS, J. D.
Ultrastructural and stereological study of *Chricosphaera carterae* (*Coccolithophoraceae*) following exposure to monensin. I - Treatment of 3-4 weeks old cultures.
Bol. Soc. Brot., **60** (Sér. 2): 23-344 — 1987
- MESQUITA, J. F. e SANTOS DIAS, J. D.
Nuclear inclusions in *Lavandula latifolia* Medicus: ultrastructural and cytochemical study and relationships with nucleoli.
Int. Phys. Conf. Ser. No. 93, **3**, Chapter 3, 3 (67) — 1988
- MOTA, M.
Sectioning of sections for determination of thickness in electron microscopy. Preliminary note.
Melhoramento, **13**: 127-130 — 1960
- MOTA, M.
The ultrastructure of the centromere.
Fifth Int. Cong. for M.E. (Sidney S. Breese Jr., Editor), **3**: NN-11 — 1962
- MOTA, M.
Electron microscope study of the relationship between the nucleus and mitochondria in *Chlorophytum capense* (L.) Kuntze.
Cytologia, **28**, 4: 409-416 — 1963
- MOTA, M.
The nucleolus and heterochromatin in Sertoli nuclei.
Septième Congrès Intern. de Microscopie Électronique. Grenoble, **3**: 239 — 1970
- MOTA, M.
Microscopia electrónica de muito alta voltagem. Estado actual do problema e sua importância para a Biologia.
V Reunion de la Soc. Española de Microscopia Electronica. Cullera-Valencia. 1972
- MOTA, M., SILVA, M. T. and SALEMA, R.
Electron microscopic study of Bacteria in the intercellular spaces of the root cap of *Luzula purpurea* Link.
J. Submic. Cytol., **7**: 373-378 — 1981
- OLIVEIRA, L. and BISALPUTRA, T.
Studies in the brown alga *Ectocarpus* in culture. I - General ultrastructure of the sporophytic vegetative cells.
Journal of Submicroscopic Cytology, **5**, 2: 107-120 — 1973
- OLIVEIRA, L.
Self-degeneration of mitochondria in the root cap cells of *Triticale*. Its contribution to the development of the vacuolar apparatus and significance for senescence.
Caryologia, **28**, 4: 511-523 — 1975

OLIVEIRA, L.

Ribosomes associated with developmental changes occurring in proplastids of *Triticale* root cells during experimental greening.

J. of Submic. Cytology, 7: 97-105 — 1975

OLIVEIRA, L.

On the occurrence of helical polysomes in developing chloroplasts of mesophyll leaf cells of a *Triticale*.

Caryologia, 28, 4: 467-476 — 1975

OLIVEIRA, L.

On the morphology and nature of the plastid inclusions of leaf cells of a *Triticale*.

J. of Submic. Cytology, 7: 271-280 — 1975

OLIVEIRA, L.

Ultrastructural, cytochemical and experimental studies on the cytoplasmic and nucleoplasmic inclusions of root meristematic cells of a *Triticale*.

J. of Submic. Cytology, 8, 1: 29 — 1976

OLIVEIRA, L. and BISALPUTRA, T.

A virus infection in the brown alga *Sorocarpus uvaeformis* (Lyngbye) Pringsheim (*Phaeophyta*, *Ectocarpales*).

Ann. Bot., 42, 178: 438 — 1978

OLIVEIRA, L. & COL.

Ultrastructural, cytochemical, and enzymatic studies on the adhesive plaques of the algae *Laminaria-sacharina* (L.) Lamour and *Nereocystis-luetkeana* (Nert) Post Et Rupr.

Protoplasma, 104, 1-2: 1 — 1980

OLIVEIRA, L.

The development of chloroplasts in root meristematic tissue of *Secale verede* L. seedlings.

New Phytologist, 91, 2: 263 — 1982

OLIVEIRA, L. & COL.

The use of an ultra-low viscosity medium (VCD/HXSA) in the rapid embedding of plant cells for electron microscopy.

J. Microscopy, 132, Part 2: 95 — 1983

OLIVEIRA, M. M. and PAIS, M. S. S.

Glandular trichomes of *Humulus lupulus* var. Brewer's Gold (Hops): Ultrastructural aspects of the peltate trichomes.

J. of Submic. Cytology (em publicação)

OLIVEIRA, M. M. and PAIS, M. S. S.

Glandular trichomes of *Humulus Lupulus* var. Brewer's Gold (Hops): Ontogeny and histochemical characterization of the secretion.

Nord. J. Bot., 8, 4: 349-359 — 1988

PAIS, M. S. S.

Sur le reverdissement de la spathe de *Zantedeschia aethiopica* au cours de la frutification. Étude en microscopie électronique de l'ontogénie des chloroplastes. Isolement de substances du type kinine dans les fruits et dans la spathe frutière.

Portugaliae Acta Biologica, 12, 1-2: 101-121 — 1971-1972

PAIS, M. S. S.

Ontogénie d'organites cellulaires au cours de la différenciation des pièces florales d'*Ophrys lutea* Cav. (Orchidée).

Portugaliae Acta Biologica, 12, 3-4: 125-254 — 1972

PAIS, M. S. S. et CARRAPIÇO, F.

Sur la présence de microbodies (peroxysomes) au cours du développement des spores de *Bryum capillare* Hedw.

Portugaliae Acta Biologica, 15, A (1-2): 32-38 — 1976

PAIS, M. S. S. et CARRAPIÇO, F.

Localisation cytochimique de la malate synthetase et de la glycolate oxidase au niveau des microbodies de la mousse *Bryum capillare*.

C. R. Acad. Sc., Paris, 288, D: 395-398 — 1979

PAIS, M. S. S. et CARRAPIÇO, F.

Microbodies des spores de *Bryum capillare* — un système membranaire.

C. R. Acad. Sc., Paris, 288, D: 875-878 — 1979

PAIS, M. S. S. and CARRAPIÇO, F.

New concept on the microbiodial structure — Tridimensional reconstitution.

Electron Microsc., 2: 88-89 — 1980

PAIS, M. S. S. and CARRAPIÇO, F.

Microbodies — a membrane compartment.

Ann. New York Acad. Sci., 386: 510-513 — 1982

PAIS, M. S. S. and BARROSO, J.

Heterophagic aspects in the establishment of *Ophrys lutea* endomycorrhizae.

Biol. Cell, 45, 2: 275 — 1982

PAIS, M. S. S. and BARROSO, J.

Polyphenoloxidases localization during the establishment of *Ophrys lutea* endomycorrhizae.

New Phytol., 95: 219-222 — 1983

PAIS, M. S. S., BARROSO, J., FEVEREIRO, P. and OLIVEIRA, M.
Intergeneric fusion of terrestrial orchid protoplast induced by different promoting agents.
Experientia, **45** (Suppl.): 74-75 — 1983

PAIS, M. S. S. and CARRAPIÇO, F.
Biogenesis of microbodies during sporogenesis of *Bryum capillare*.
Electron Microsc., **3**: 2125-2126 — 1984

PAIS, M. S. S. and BARROSO, J.
On the presence of urate oxidase in the microbodies of the infected *Ophrys lutea* root cells.
8th Eur. Cong. Electron Microscopy. Proc.: 2127-2128 — 1984

PAIS, M. S. S.
Ultrastructure and cytochemistry of retinacles from mediterranean orchids. Its relation with pollination and community continuity.
Ed. N. S. Margaris, M. Rianoustou-Farragitaki e W. C. Oechel. Junk Publ., The Hague.
Tasks for vegetation Sci.: 245-250 — 1984

PAIS, M. S. S. and FEIJÓ, J. A.
Microbody proliferation and lipid catabolism in pollen grain maturation of *Ophrys lutea*.
International Symposium on Peroxisome in Biology and Medicine. Heidelberg, RFA.
In: *Eur. J. Cell Biol.* (abst.), **41**, (suppl.) 14: 32 — 1986

PAIS, M. S. S. and ASCENÇÃO, L.
Schizogeny in the formation of resin ducts from *Artemisia campestris*.
In: *Electron Microscopy*, IV, pp. 3267-3268, *J. Electron Microscopy* (Edt. Imura, T.; Maruse, S. and Suzuki, T. Jap. Soc. Elect. Mic.), **35**, (Suppl.) — 1986

PAIS, M. S. S. and FEVEREIRO, P.
Evolution of the cell wall ultrastructure from *Epipactis atropurpurea* nectariferous cells during the secretory process.
In: *Electron Microscopy*, IV, pp. 3295-3296, *J. Electron Microscopy* (Edt. Imura, T.; Maruse, S. and Suzuki, T. Jap. Soc. Elect. Mic.), **35**, (Suppl.) — 1986

PAIS, M. S. S. and FEIJÓ, José A.
Microbody proliferation during the microsporogenesis of *Ophrys lutea*.
Protoplasma, **138**: 149-155 — 1987

PAIS, M. S. S., FEIJÓ, José A. and MALHO, R.
Pollen biology in *Ophrys lutea*: Some cytological aspects.
VIII Simposio de Palinologia, A.P.L.E. Salamanca — 1988

PAIS, M. S. S. and ASCENÇÃO, L.
Secretory ducts from *Artemisia campestris* ssp. *maritima*. Histochemical characterization of the secretion and ultrastructural aspects of the secreting cells.
Nord. J. Bot., **2**, 3: 283-292 — 1988

PAIS, M. S. S., BARROSO, J., CASIMIRO, A. and CARRAPIÇO, F.
Subcellular localization of uricase in *Ophrys lutea* mycorrhizae.
New Phytol., **108**, 3: 335-340 — 1988

PISSARRA, J., SANTOS, I. e SALEMA, R.
Detrimental effects of autoclaving on the capacity of ABA on the *in vitro* xylogenesis.
Bol. Soc. Brot., **59** (Sér. 2): 277-292 — 1986

PISSARRA, J., SANTOS, I. e SALEMA, R.
Nitrate and amonium ions and lignin production on callus tissue of *Sedum telephium* L.
Ciênc. Biol., **12**: 114 — 1988

PISSARRA, J., SANTOS, I. e SALEMA, R.
Effects of ammonium and nitrate supply on growth, protein contents and lignin production in plant callus tissue.
Bol. Soc. Brot., **61** (Sér. 2): 237-242 — 1988

REZENDE-PINTO, M. C. de
On the chloroplastonematic structure of chloroplasts of higher plants.
Portugaliae Acta Biologica, **A**, **5**, 1: 1-6 — 1957

REZENDE-PINTO, M. C. de
Metamorphosis of amyloplasts of *Solanum tuberosum* L. into amylochloroplasts induced by light.
Portugaliae Acta Biologica, **A**, **6**, 3-4: 293-242 — 1962

REZENDE-PINTO, M. C. de
On the metamorphosis of pro- and leucoplasts of *Solanum tuberosum* L. into chloroplasts induced by light.
Revista de Biologia, **3**, 2-4: 146-148 — 1962

REZENDE-PINTO, M. C. de
On the ultrastructure of plastids of oldish potato seed tubers and their metamorphosis induced by light.
Brotéria (C.N.), **31**, 3-4: 201-210 — 1962

REZENDE-PINTO, M. C. de
On the metamorphosis of cotyledon plastids of *Phaseolus multiflorus* Willd.
Portugaliae Acta Biologica, **A**, **8**, 3-4: 177-185 — 1964

RIJO, L. and SARGENT, J.

The fine structure of the coffee rust, *Hemileia vastatrix*.
Can. J. Bot., **52**, 6: 1363-1367 — 1974

SALEMA, R. and BADENHUIZEN, N. P.

The production of reserve starch granules in the amyloplasts of *Pellionia daveauana*, N. E. Br.
J. Ult. Res., **20**: 383-399 — 1967

SALEMA, R. and BADENHUIZEN, N. P.

Nucleic acids in plastids and starch formation.
Acta Botanica Neerlandica, **18**, 1: 203-215 — 1969

SALEMA, R.

Autoradiography with the electron microscope. Principles and techniques.
Brotéria, **39**, 1-2: 109-129 — 1970

SALEMA, R.

The production of thylakoids in the roots of a *Triticale*.
Anais da Faculdade de Ciências, **54**, 3-4: 227-235 — 1971

SALEMA, R. and ABREU, I.

Development of photosynthetic lamellae in *Phyllanthus nivosus* Bull.
Brotéria, **41**, 3-4: 119-134 — 1972

SALEMA, R. and ABREU, I.

Fine structure of green and white leaves of *Phyllanthus nivosus* Bull.
Portugaliae Acta Biologica, **12**, 1-4: 255-266 — 1972

SALEMA, R. and ABREU, I.

Fine structure of chloroplasts and leukoplasts of the leaves of *Hedera helix* L. cv. *argenteo-variegata*.
Bol. Soc. Brot., **46** (2.ª série): 259-266 — 1972

SALEMA, R. and BRANDÃO, I.

The use of Pipes buffer in the fixation of plant cells for electron microscopy.
Journal of Submicroscopic Cytology, **5**, 2: 79-96 — 1973

SALEMA, R., MESQUITA, J. F. and ABREU, I.

Particular aspects of the construction of photosynthetic membranes.
Journal of Submicroscopic Cytology, **4**: 161-169 — 1973

SALEMA, R. and BRANDÃO, I.

Microtubules in chloroplasts of a higher plant (*Sedum* sp.).
Journal of Submicroscopic Cytology, **6**: 381-390 — 1974

SALEMA, R. and BRANDÃO, I.

Higher plant protoplast isolated with pectinase.
Journal of Submicroscopic Cytology, **8**: 89-94 — 1976

SALEMA, R. and BRANDÃO, I.

Development of microtubules in chloroplasts of two halophytes forced to follow Crassulacean Acid Metabolism.
J. Ult. Res., **62**: 132-136 — 1978

SALEMA, R., MESQUITA, J. F. e SANTOS, I.

Atlas de Ultrastrutura Celular.
Porto Editora — 1980

SALEMA, R. and SANTOS, I.

Effect of colchicine and vinblastine on chloroplast microtubules of cultured green-cell lines from *Sedum telephium*.
Electron Microscopy, **2**: 242 — 1980.

SANTOS, A., ABREU, I. and SALEMA, R.

Elaborate system of RER and degenerescence of tapetum during pollen development in some dicotyledons.
Journal of Submicroscopic Cytology, **11**: 99-107 — 1979

SANTOS, A., ABREU, I. and SALEMA, R.

Viral infection during microsporogenesis of *Lycopersicum esculentum* Mill and *Cucurbita polymorpha* Duch.
Bol. Soc. Brot., **55**: 19-26 — 1981

SANTOS, A. and SALEMA, R.

Histochemistry of *Cucurbita polymorpha* Duch. pollen wall
VII Simpósio de Palinologia. Granada — 1988

SANTOS DIAS, J. D. et MESQUITA, J. F.

Comportement des microtubules des cellules radiculaires de *Colchicum multiflorum* Brot. sous l'action de la colchicine exogène.
Bol. Soc. Brot., **52** (Série 2): 221-240 — 1978

SANTOS DIAS, J. D. et MESQUITA, J. F.

Sur l'origine des poches sécrétrices dans les feuilles d'*Heteropyxis* Harv.
Bol. Soc. Brot., **53** (Série 2): 1183-1198 — 1981

SANTOS DIAS, J. D. and MESQUITA, J. F.

Ultrastructural and stereologic study of *Cricosphaera carterae* (Prymnesiophyceae) following exposure to monensin. II - Continuous treatment of growing cultures.
Bol. Soc. Brot., **60** (Série 2): 345-364 — 1987

SANTOS DIAS, J.D. and MESQUITA, J.F.
Differentiation of the seed coat in *Magnolia grandiflora* L.: some histological, histochemical and ultrastructural aspects.
Int. Phys. Conf. Ser. No. 93, 3, Chapter 3, (93) — 1988

SANTOS, I. and SALEMA, R.
Cytochemical localization of malic dehydrogenase in chloroplasts of *Sedum telephium*.
Electron Microscopy, 2: 246 — 1980

SANTOS, I. and SALEMA, R.
Chloroplasts microtubules in some CAM-plants.
Bol. Soc. Brot., 53, 2: 1115-1122 — 1981

SANTOS, I. and SALEMA, R.
Dilated cisternae of endoplasmic reticulum in two *Rhipsalis* species.
Journal of Submicroscopic Cytology, 15: 1095-1099 — 1983

SANTOS, I. and SALEMA, R.
Stereological study of the variation of chloroplast microtubules and volume in a CAM plant.
Z. Pflanzenphysiol., 113: 29-37 — 1983

SANTOS, I.
Cold night treatment as control of CAM in *Sedum spectabilis* Bor.
Electron Microscopy, 3: 2113-2114 — 1984

SANTOS, I. and SALEMA, R.
Effects of hydration conditions on the stroma inclusion of some CAM chloroplasts.
Plant Cell Environm., 7: 541-544 — 1984

SANTOS, I. and SALEMA, R.
Effects of penicillins on plant tissue cultures: ultrastructural and biochemical aspects.
Bol. Soc. Brot., 58 (Série 2): 1269-1285 — 1985

SANTOS, I. and SALEMA, R.
Effects on leaves of modulating CAM in *Kalanchoe zimbabwensis* through photo-period.
Inst. Phys. Conf. Ser., 93, 3: 77-78 — 1988

SANTOS, M.F. dos
Estudo ao microscópio electrónico do vírus do mosaico da cana-do-açúcar.
Estudos Agronómicos, 3, 4: 143-149 — 1962

SEQUEIRA, J.C.
Viroses do morangueiro em Portugal.
Agronomia Lusitana, 32, 1-4: 251-269 — 1971

SEQUEIRA, J.C. and BORGES, M.L.V.
A leafroll disease of tomato in Portugal. Etiology, virus isolation and characterization.
5th Conf. Veg. Virus Working Group Int. Soc. Hort. Sci., on recent advances in virus research. — Phytoparasitica, 13: 273 — 1978

SEQUEIRA, O.A. de
Sap-transmissible viruses from apple. II - Apple cucumber virus and E36 virus.
Proc. VI Eur. Symp. on Fruit Tree Virus Diseases (Belgrade), Zastita Bilja, **85-88**: 247-249 — 1965

SEQUEIRA, O.A. de
Purification and serology of an apple mosaic virus.
Virology, 31: 314-322 — 1967

SEQUEIRA, O.A. de
Studies on a virus causing stem-grooving and graft-union abnormalities in Virginia Crab apple.
The Annals of Applied Biology, 60, 1: 59-66 — 1967

SEQUEIRA, O.A. de
Purification and relationships of some filamentous viruses from Apple.
Phytopathology, 59: 740 — 1969

SEQUEIRA, O.A. de, MENDONÇA, A. e MOTA, M.
Detecção e identificação rápidas de vírus em tecidos vegetais por imunomicroscopia electrónica de adsorção (IMEA).
Revista Portuguesa de Bioquímica Aplicada, 4, 3: 117-126 — 1978

SERRA, J.A.
Fine structure of the nucleus.
In: *Encyclopedia of Plant Physiology*, W. Ruhland (ed.), **1**: 445-471 — 1955

SERRA, J.A.
Why flagella and cilia have 1 + 9 pairs of fibres.
Experimental Cell Research, 20: 395-400 — 1960

SEVINATE-PINTO, I.
Ultrastructural aspects during the ontogeny of *Ceratonia siliqua* endosperm cells (preliminary study).
Portugaliae Acta Biologica, 16, A, (1-4): 119-126 — 1980

SEVINATE-PINTO, I., PAIS, M. S. S. et MARTY, F.
Mise en évidence d'un système membranaire néoformé dans les cellules de la couche à aleurone des semences d'*Avena sativa* L. en germination.
Ann. Sci. Nat. Bot., 2-3 (13.^a Série): 11-25 — 1980-1981

SEVINATE-PINTO, I.
Hydrolase secretion in oat aleurone layer: inframicroscopical and cytochemical aspects.
Bull. Soc. bot. Fr., Actual. bot., 129 (1): 37-40 — 1982

SEVINATE-PINTO, I.
Ultrastructural and cytochemical changes in aleurone cells of oat during germination.
9th Eur. Cong. on Electron Microscopy, York. Proceedings, 3: 95 — 1988

SILVA, E. S.
Some ultrastructural variations of the nucleus in Dinoflagellates throughout the life cycle.
Acta Protozool., 16, 3/4: 277-288 — 1977

SILVA, E. S.
Endonuclear bacteria in two species of Dinoflagellates.
Protistologica, 14, 2: 113-119 — 1978

SILVA, E. S.
Intracellular bacteria, the origin of the Dinoflagellates toxicity.
IVth Intern. IUPAC Symp. on Mycotoxins and Phycotoxins, vol. «Mycotoxins and Phycotoxins», ed. Pale Krogh — 1979

SILVA, E. S.
Relationship between Dinoflagellates and intracellular bacteria.
In *Marine algae in Pharmaceutical Science*, Eds. Hoppe & Levring (W. Gruyter, Berlin): 269-288 — 1980

SILVA, E. S.
Toxic clones of *Gyrodinium instriatum* Freud. & Lee with endonuclear bacteria.
Vth Int. IUPAC Symp. on Mycotoxins and Phycotoxins — 1982

SILVA, E. S. and FRANCA, S.
The association Dinoflagellate-Bacteria: Their ultrastructural relationship in two species of Dinoflagellates.
Protistologica, 21, 4: 429-446 — 1985

HISTÓRIA DA TAXONOMIA BOTÂNICA EM PORTUGAL CONTINENTAL, REGIÕES AUTÓNOMAS E EX-COLÓNIAS NO SÉCULO XX

ABÍLIO FERNANDES *

INTRODUÇÃO

A Taxonomia Botânica, que aqui é considerada como sinónimo de Botânica Sistemática, é uma disciplina fundamental no estudo dos Vegetais. Com efeito, a ela pertence fazer o recenseamento de todos os seres deste grupo, o que implica o estudo pormenorizado de cada um deles, descrevendo-o o melhor possível, e acompanhando a descrição, com exactidão sempre que possível, com uma figura rigorosamente executada; averiguar se qualquer taxon supostamente novo foi ou não já descrito nas condições exigidas pelo Código de Nomenclatura; elaborar desde as floras locais e regionais até às floras continentais ou mesmo mundiais; construir sistemas de classificação que podem ir desde os meramente artificiais aos evolutivos e mesmo filogenéticos; zelar para que sejam cumpridas por todos os botânicos as Regras Internacionais de Nomenclatura, de modo que cada taxon receba um único nome válido para evitar o aparecimento de qualquer confusão na sua identificação; recolher os elementos necessários à distribuição geográfica de cada taxon, de maneira a podê-los fornecer aos fitogeógrafos; compilar igualmente os dados referentes às condições do meio em que cada taxon vive, à sua forma biológica e fenologia, de modo a informar devidamente

* Centro de Fito-sistemática e Fito-ecologia, E_c C2, do Instituto Nacional de Investigação Científica (INIC) na Universidade de Coimbra.