

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 58

Fascículo 1

Setembro, 1960

MICROSCOPIA ELECTRÔNICA
DE SEIS DIATOMÁCEAS *PLEUROSIGMA*,
COM UMA CRÍTICA DO GÊNERO (*Naviculaceae*,
Bacillariophyceae*)

LEJEUNE P. H. DE OLIVEIRA e HANS MUTH
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Guanabara

(Com 36 figuras no texto)

Recebemos plancton capturado durante o Ano Geofísico Internacional pelo comandante Paulo Moreira da Silva, da Diretoria de Hidrografia, ao qual agradecemos também os auxílios na manutenção eletrônica para este trabalho. Sobre poucas amostras, já há notícia publicada por um de nós (OLIVEIRA, 1959).

Logo no material da 2.^a estação, em 27 de novembro de 1956, ao sul de Cabo Frio, em 23° 07' lat. S, 41° 44' long. W de Greenwich, encontramos algas diatomáceas do gênero *Pleurosigma*, onde se encontram espécies próprias para testar os microscópios; antes de examinarmos eletronicamente alguns planctontes, aproveitamos para testar nosso instrumento com uma diatomácea conhecida, o *Pleurosigma balticum* (Ehr.) Rab.

O estudo eletrônico pode resolver, neste gênero, certos embaraços devidos a recursos óticos insuficientes, mas não é usado como base de sistemática.

Teoricamente, a identificação de *Pleurosigma balticum* apresenta-se simples; basta que, sendo do gênero *Pleurosigma* e subgênero *Gyrosigma* tenha os caracteres específicos, compendiados no *Sylloge Algarum*, por DE-TONI, à pág. 249:

§ 2 — “Magnum, valvis late linearibus, medio rectis, 200-360 micra longis, luteo-fuscescentibus, ad utrumque finem parumper attenuatis, apicibus obtusis incurvis, raphe parum excentrica, nodulo centrali oblongo; striis validis et longitudinalibus et transversis circiter 15-17 in Decamicra; frustulis e facie connectivali visis sublinearibus, e medio ad apices sensim sensimque attenuatis, rectis, apicibus rotundatis, membrana connexiva sublata, recta, levi.” Species n.º 1.063.

* Recebido para publicação a 23 de setembro de 1959.

Trabalho do Instituto Oswaldo Cruz (Divisão de Zoologia, Estação de Hidrobiologia).

De acôrdo com essa diagnose perfazem de 300 a 682 as estrias transversais. Lembremos que esta espécie já fôra assinalada em praias marítimas do Brasil, por GRUNOW, em 1860, mas em diagnose antiga de senso muito lato, tendo sido também verificada na Bahia por ZIMMERMANN, em 1916. MUELLER-MELCHERS, em 1955 (p. 124 e 126), publicou um catálogo contendo 184 espécies de diatomáceas verificadas no Brasil, onde estão as *Gyrosigma balticum* (Ehr.) Rab.; *G. fasciola* (Ehr.) Griff. & Henf.; *G. strigile* W. Smith; *Pleurosigma affine* Grunow; *P. naviculaceum* Brébisson; *P. normanii* Ralfs; *P. acutum* f. *brasiliiana* Mueller-Melchers.

A determinação, ao microscópio de luz, consta da verificação de: 1.º) forma geral, contôrno, aspecto das pontas, da rafe, dos nódulos, em vista valvar e conexiva; 2.º) forma do conteúdo, areolação, estriação; medidas. O 1.º item resolve-se bem ao microscópio de luz, mas o 2.º é mais difícil, às vêzes impossível, incorrendo-se em erros inevitáveis, como exporemos.

A forma de um *Pleurosigma* é de descrição difícil, não pode ser apanhada de pronto, ràpidamente, nem mesmo por um sistematista talentosamente privilegiado e de grande prática em outros grupos. O emprêgo da adjetivação é dificultoso; por exemplo, para os ápices há mais de 30 aspectos: *acutus*, *elongatus*, *attenuatus*, *rotundatus*, *acuminatus*, etc... com inúmeras gradações, aqui ordenadas:

Obtusus, para os *Pleurosigma*: *P. arafuense* Castracane; *P. longissimus* Cleve; *P. macilentum* Peragallo; *P. normanii* Ralfs; *P. nubecula* W. Sm.; *P. speciosum* W. Sm.; *P. tropicum* Grunow.

Obtusus cuneatus — exemplo: *P. japonicum* Castracane.

Obtusus incurvus — *P. balticum* (Ehrenberg) Rab.; *P. distortum* W. Sm.

Obtusus truncatus — *P. curvulum* (Ehr.) Ralfs.

Obtusus truncatus curvatus — *P. arcuatum* Donkin.

Obtusus rotundatus — *P. scalproides* Rabenhorst.

Obtusus subconicus — *P. obscurum* W. Smith.

Obtusioribus quam stuxbergii — *P. latiusculus* Peragallo.

Obtusiusculus — *P. lamprocampum* (Ehr.) Ralfs.

Obtusiusculus acutatus — *P. wansbeckii* Donkin.

Obtusissimus — *P. eximium* (Thwait) Grun.

Subobtusus — *P. affine* Grunow; *P. strigosum* W. Sm.

Subobtusus parum productus — *P. aestuarii* (Bréb.) W. Smith.

Subobtusus passim acuminatus — *P. formosum* W. Sm.

Estas adjetivações, teórica e aparentemente fáceis, das quais mostramos sòmente exemplos de ápices "*obtusus*", só serão compreendidas

na prática após muito esforço, por comparação de figuras, microfotografias e de tipos, mas nunca serão completamente entendidas, porque há critérios pessoais, subjetivos, variáveis de autor para autor, e, às vezes, obtusos no próprio autor. É demorado até que se possa assimilar o suficiente para interpretar o uso, às vezes abusivo, do prefixo *sub*, ex.: *subsymmetricus*, *subincurvus*, *subdeccurentis*, *subattingentis*, etc... Esses pequeninos "nadas" fazem parte da trama de embaraços para a classificação do material, porque, infelizmente, só existe um modo de descrever, com palavras junto as figuras, as múltiplas nuances morfológicas. Estas gradações são obstáculos insuperáveis à realização de rápida diagnose, a não ser por quem esteja muito habituado ao grupo.

Donde concluimos, dando nossa opinião, que pouco adianta ter nos navios oceanográficos, para este tipo de identificação de plancton marítimo, microscopistas gerais, pois não poderão determinar corretamente o material, cuja identificação somente poderá ser feita por naturalistas que, de fato, estudam e conhecem com base, cada qual, os seus grupos zoológicos e botânicos.

CRÍTICA

O estudo crítico é necessário toda a vez que mudamos os métodos. Antes de usarmos os novos métodos eletrônicos cumpre sabermos qual o *status quo* do grupo em estudo e aquilo que teremos de corrigir, mesmo sem o novo método.

Pré-eletronicamente percebemos alguns erros no estudo do gênero *Pleurosigma*, que são: 1.º) do instrumento, 2.º) do material em identificação, 3.º) do material identificador, 4.º) da bibliografia, 5.º) dos desenhos, figuras, fotografias, 6.º) do observador. Estes erros devem ser evitados, corrigidos, atenuados, antes e junto à microscopia eletrônica.

ERROS INEVITÁVEIS PELA IMPRECISÃO INSTRUMENTAL

As descrições anteriores à objetiva de imersão, por deficiência de recursos óticos, trazem numerosas questões relativas aos aumentos usados: W. SMITH, GREGORY e outros adotaram aumentos de 400 vezes para suas descrições e desenhos. VAN HEURCK adotou 400 e 440, raramente 665; SCHMIDT 660, quando necessário 360, ou até 1.000. O microscópio especial do Dr. VAN HEURCK foi fabricado sob encomenda, por Watson & Sons com objetivas de 2,5 e de 3,0, até de 8 mm, a seco, com o qual fez as figuras de *Pleurosigma*, com 400 e 440 vezes e raros detalhes do reticulado com 665, a seco; somente nos seus últimos trabalhos tendo empregado a imersão em água, Zeiss 1,25. Alguns dos seus originais, desenhados com 900 vezes e reduzidos na fototipia para 600, necessitam aumento de 1,5 vezes, para serem vistos tal como desenhados, e, às vezes, tal como descritos. Há diferenças nas diagnoses dos gêneros e espécies, antes e depois da apresentação, feita aos diatomistas, por VAN HEURCK,

em 1877, da objetiva Carl Zeiss 1/8 de imersão, e sobre outras objetivas de imersão, em 1881.

Hoje é tarefa árdua adaptar descrições baseadas em aumentos pequenos, antes da época das objetivas de imersão, aumentos insuficientes já para as exigências óticas do início do século XX. Entre as maiores dificuldades estão as da estriação.

ERROS NA CONTAGEM DAS ESTRIAS

Uma das bases em que se firma a sistemática de *Pleurosigma* é o número de estrias por decamicra. A dificuldade da contagem promana da pequenez, pois, sendo até 25 estrias por decamicra, deverá haver de uma a outra estria o espaço separador de 400 milimicra, o que não é fácil de definir ao microscópio comum, às vezes, mesmo com a vista mais acurada de qualquer microscopista. Tais erros são constantes nos autores antigos, que misturavam um lado com o outro, o que acontecia, porque usavam aparelhamento ótico deficiente, iluminação inadequada e condensadores antigos, óticamente mal construídos. Frequentemente, mais espaço e tempo é ocupado com discussões e explanações sobre o conteúdo reticulado (que, às vezes, não se vê ou se vê mal no microscópio de luz), do que com as próprias descrições. Quanto não escreveu DUSCHESNE sobre a interpretação dos furos de *Pleurosigma angulatum*, se esféricos ou se hexagonais, polêmica quase sem fim no início do século XX?

As microfotografias eletrônicas resolvem concretamente o que era interpretação quase subjetiva e difícil, devido a ser impossível padronizar-se explicações verbais para percepções óticas individuais, muito pessoais. Aquilo que um autor julgava “delicado”, outro julgava “delicadíssimo”, outro “nada delicado”. VAN HEURCK julgava “delicado” aquilo que CASTRACANE julgava “delicadíssimo”. Mostramos como VAN HEURCK (autor muito criterioso e seguro, segundo os diatomistas norte-americanos CONGER e MANN), conceituava a estriação: pela grossura e pelas distâncias das estrias faz-se uma avaliação, numa lâmina tipo, que recebe um grau; exemplo “estrias robustas”, um tipo de robustez para padronização. Mas ele mesmo, VAN HEURCK, não empregou sua conceituação uniformemente. Vejamos: “Stries très robustes”; exemplo: *P. formosum*, estrias grossas, sendo 10 a 12 por decamicra, afastadas de cerca de 830 milimicra. “Stries robustes”, exemplo: *P. decorum*, grossas, 13 a 14 por decamicra e afastamento de 770 a 710 milimicra; “stries assez delicates”, exemplo: *P. formosum*, 14 a 17 por decamicra, afastamento de 710 a 590 milimicra; “stries un peu plus fines”, exemplo: *P. attenuatum*, 17 a 18 por decamicra, afastamento 550 milimicra; “stries fines”, 22 a 25 por decamicra, 470 a 400 milimicra de afastamento; “stries fines facilement visibles”, exemplo: *P. fasciola*, 23 a 25 por decamicra; “stries delicates, difficilement visibles”, exemplo: *P. macron*, 25 a 28 por decamicra, afastamento 400 a 366 milimicra.

Estas percepções, de 360-400 milésimos de micron, que hoje medimos com o microscópio eletrônico, ao microscópio de luz eram avaliações puramente individuais, impossíveis de serem transmitidas sob a forma de número e naturalmente causavam dúvidas quando avaliadas por outra pessoa. Assim, MANN (1925:133) não pôde entender o que era “delicatissimo” de um outro especialista, ao tratar de *Pleurosigma elegantissimum* Castracane:

“... the uncertainty comes from CASTRACANE saying that species has extremely delicate striae “*Striis delicatissimus*”, but as no measurements of these are given, the exact meaning of the expression can not be determined”.

Qualquer especialista, mesmo do mais notório saber, como CASTRACANE, autor da célebre monografia do H. M. S. Challenger, acha-se entre as dificuldades, ligadas à mais alta ótica microscópica e ao microscópio de luz, e é obrigado a usar um modo de avaliar empírico e absolutamente individual. Admira-se o bom senso de MUELLER-MELCHERS na descrição de sua forma *Pleurosigma acutum* var. *brasiliana* que, na impossibilidade de definição ótica, não podendo contar as estrias por decamicra, escreveu: “estrias muy finas, difícil de definir”, na sua nova forma do Mar de Trapandé.

CONTAGEM DAS ESTRIAS AO MICROSCÓPIO ELECTRÔNICO

A contagem das estrias apresenta-se muitas vêzes irrealizável e impossível nos melhores e mais modernos microscópios de luz, mas pode ser exatamente calculada, medida, sem influências subjetivas, ao microscópio eletrônico. Vejam nas nossas figuras os magníficos resultados da perfuração da membrana, para o *Pleurosigma balticum* (figs. 1, 2, 4). Além desta apresentamos mais cinco espécies, não de procedência brasileira mas provenientes do “Laboratorium fuer Mikroskopie”, Eutin, Holstein, pó sêco, de cultura pura “Gereinigtes Diatomeen Material”, de identificação certificada por Albert Elger. Usamos, para comparação: figs. 7 a 15, *Pleurosigma aestuarii*; figs. 17 a 19, *P. thuringicum*; figs. 22 a 26, *P. acuminatum*; figs. 27 a 31, *P. formosum*; e figs. 32 a 36, *P. strigosum*.

DEFICIÊNCIA PERMANENTE DO INSTRUMENTO

Sòmente o uso de microscópio antiquado nos explica porque CLEVE não podia definir, no reticulado, as estrias em linhas curvas do *P. parkeri* Harrison, assim o colocando como variedade pertencente ao *P. distortum* W. Sm.; classificou-a, então, pelo contôrno geral, pelo rostrado da diatomácea, que era naturalmente aquilo que conseguia ver com segurança. Só podemos explicar como deficiência de recursos óticos, o motivo que levou CLEVE a colocar o *P. thuringicum* na sinonímia de espécies hoje consideradas válidas e muito diversas: como os *P.*

strigosum W.Sm., *P. normanii* Ralfs e *P. finmarchicus* Cleve. Veja nas nossas microfotografias de *P. thuringicum* (figs. 17-21) e *P. strigosum* (figs. 32-36), detalhes inconfundíveis, mesmo para qualquer leigo no assunto. Estas provam a eficiência da microscopia eletrônica no gênero *Pleurosigma*.

ERROS NO MATERIAL EM IDENTIFICAÇÃO

Um deles é a falta de padronização nos métodos de montagem. Quando as objetivas de imersão entraram em uso, apareceu a impossibilidade de comparação rigorosa dos detalhes de uma diatomácea, examinada sem lamínula, com as que eram montadas com lamínulas em líquidos de refrações diferentes: em bálsamo de Canadá comum, ou em estoraque, liquidambar, etc. A nova técnica de Mueller-Melchers & Ferrando com estoraque, hirax, pleurax, naturalmente deverá dar resultados óticamente diferentes, com definições maiores de algumas estruturas. As estriações não são comparáveis 100% em montagens diferentes. Nesses meios melhorados já se percebem detalhes, invisíveis em tipos antigos, de montagens obsoletas: breus, colofônios, vernizes, xaropes, gelatinas glicerinadas, gomas, e os esfregaços a seco. Tais tipos exigirão substituição por neotipos em meios de alta refração, bem como nos meios examináveis ao microscópio eletrônico. A maioria dos tipos montados por MANN para o U. S. Nat. Herbarium foram fechados no bálsamo de Canadá comum (1907: 222), bom meio para padronização da refração, facilmente empregado a qualquer momento, por qualquer técnico em qualquer lugar, embora sem as definições óticas dos meios especiais, usados não para sistemática corrente, mas para estudos de detalhes.

MONTAGEM CONFUSA DOS TIPOS

Muitas diatomáceas na mesma lâmina ocasionam enganos, por exemplo: as lâminas-tipo de H. L. SMITH, de CLEVE & MOELLER, e de muitos outros. O cuidado de rotular um único espécime apareceu depois da publicação de MANN, em 1907, cujo método trabalhoso passou a seguir, depois da triagem do material colecionado na viagem do navio Albatroz: espalhava película de gelatina acética na lâmina, com o micromanipulador colocava uma única diatomácea bem preparada, riscava um anel negro ao redor da mesma, para ser encontrado o local na lâmina, depois completava a montagem em bálsamo. O único meio de jamais confundir espécimes é montar um em cada lâmina.

Cuidados análogos tomamos ao microscópio eletrônico, para não confundir material, tirando microfotografias apenas de um exemplar de cada vez.

Numerosas são as coleções de tipos, como as clássicas de Delogne, Desmazières, De-Toni, Eiben, Eulens-Eulenstein, Hauck & Richter

Kitton Fred, Peragallo, Tempère & Peragallo, Van Heurck, Klavsen e de várias instituições. Infelizmente, não será possível desmontar tipos antigos de coleções célebres e examiná-los ao microscópio eletrônico, a não ser uns poucos preservados como pó.

Os erros, quando causados por tipos trocados, não estão na dependência de estudos eletrônicos, enquanto primeiramente não forem resolvidos ao microscópio de luz. Veremos, a seguir, que os resultados dos especialistas não são concordantes, quanto a numerosas espécies; se uns têm os tipos determinados por PERAGALLO, não chegarão às mesmas conclusões que os que tenham outros tipos, como por ex. os de SMITH, ou de outras autoridades.

ERROS PROVENIENTES DE BIBLIOGRAFIA EMBORA DE ALTO NÍVEL CIENTÍFICO

Segundo MANN, boas monografias, muitas vezes, não merecem fé; por exemplo, na admirável obra de PERAGALLO, considerada básica por grande número de especialistas em plancton, em diatomáceas, a fig. 7, da pl. 2 foi chamada de *Pleurosigma decorum* mas não se parece nem um pouco, nem remotamente, com os tipos da grande espécie *P. decorum* originalmente descrita por W. SMITH, nem na forma, nem no conteúdo; suas figuras de *P. strigosum* são também enganadoras. Em uma lista de planctontes, ou de bentontes, como saberemos se um autor se refere à diatomácea que PERAGALLO chamou de *P. strigosum*, ou ao verdadeiro *P. strigosum* W. Smith? Que conclusões se tirará do *obscurum per obscurius*? MANN retifica outro engano, mostra não concordar a figura da grande diatomácea, de 0,45 mm de comprimento, a *P. formosum* W. Sm., com a fig. 4 da pl. 1 de PERAGALLO, que vicia as determinações, tendo trocado a legenda da estampa: a fig. 1 da pl. 1 é o verdadeiro *P. formosum*, e não a fig. 4. Tais erros, talvez sejam devidos a lapsos durante a elaboração da célebre monografia, que é hoje a única acessível à grande parte dos planctonologistas. Foi também marcado *ab hoc et ab hac* o *Pleurosigma lanceolatum*, pois a fig. 5 de PERAGALLO não é o *lanceolatum* original descrito por DONKIN, mas talvez seja o *P. transversale* Roper; assim, já são mais duas espécies que entram em confusões substanciais. Também, as figuras de *P. speciosum* W. Sm. talvez correspondam ao *P. suluense* Mann. Erros de contorno, ao microscópio comum de luz, são grosseiros e inadmissíveis, necessitam ser retificados antes do material ser entregue à microscopia eletrônica. Talvez PERAGALLO tenha se equivocado por troca dos *Typpenplatten*, ou por defeito na rotulagem antiquada dos mesmos, com muitas diatomáceas na mesma lâmina.

Uma diagnose relativamente recente de *Pleurosigma balticum*, dada em 1929, por SKVORTZOW, trazia: comprimento 306 e largura de 24 micra, com 11 a 12 estrias por decamicra. A tabela a seguir mostra alguns *Pleurosigma* ôticamente considerados como do grupo *balticum*, devido ao conceito de estarem descritos junto a esta espécie, pela maioria

dos autores. Estão apenas as diatomáceas, que talvez possam ser consideradas de maiores dimensões:

| ESPÉCIE DE <i>PLEUROSIGMA</i> | Número de estrias longitudinais por decamicra | Medida electrónica, afastamento das estrias, milimicra | Medida da diatomácea | |
|----------------------------------|---|--|----------------------|------------------|
| | | | Comprimento em micra | Largura em micra |
| <i>ctryanum</i> Per. | 13 | 777 | 400-430 | 38-41 |
| <i>epectabile</i> Gr. | 13,5 | 740 | 345 | 40 |
| <i>salifornicum</i> Gr. | 14 | 715 | 250 | 28 |
| <i>balticum</i> (E.) | 15-17 | 666-590 | 200-360 | 17-29 |
| <i>simile</i> Gr. | 16-17 | 625-580 | 100-200 | 20-24 |
| <i>sinensis</i> (E.) | 17 | 580 | 200-220 | 20-22 |
| <i>calcutensis</i> Gr. | 18 | 555 | 120-130 | 16-17 |
| <i>plagiostoma</i> Gr. | 18-19 | 555 | 102 | 13 |
| <i>diminutum</i> Gr. | 18-22 | 555-455 | 104-114 | 16 |
| <i>wansbeckii</i> Don. | 19-20 | 525-500 | 110-125 | 15-16 |
| <i>constrictum</i> Gr. | 21-23 | 474-433 | 100 | 13,5 |
| <i>obliquum</i> Gr. | 22 | 455 | 69 | 14,5 |
| <i>brébissoni</i> Gr. | 22 | 455 | 86-104 | 11-13 |
| <i>apulium</i> Rab. | 27-29 | 370-346 | 55-80 | 10-13 |
| <i>glaciale</i> Cleve. | 28 | 358 | 143 | 19 |

Vê-se que, neste grupo, não há espécies com estrias tão grossas, de 11 a 12 por decamicra, afastamento de 830-910 milimicra, a tabela iniciando com a espécie de 13 estrias por decamicra, afastamento de 777 milimicra. Verificações feitas por tal diagnose poderão levar talvez a outras espécies, que não à *balticum*, e aumentarão muito as percentagens de *balticum*, erradamente determinadas nas listas de planctontes e bentontes.

ERROS PELO USO DE BIBLIOGRAFIA DE NÍVEL FRACO

Folheando atlas para amadores, como por exemplo o de LEFÉBURE, os especialistas se vêem atrapalhados com 6 gêneros em sinonímia total com *Pleurosigma*, o que os obriga a verificações, mas como êste livro foi dedicado aos diatomófilos *dilletanti*, faz suspeitar de que sejam pouco sólidas essas sinonímias. A maioria dos amadores procura exemplares belíssimos e curiosíssimos, mas nunca a precisão; classificam geralmente *per saltum*, sem o estudo *in extenso* das famílias, gêneros e espécies, donde a percentagem de erros taxonômicos ser altíssima. Condena-se, por isso, o cartear figuras, sem leitura de diagnoses e descrições, porque produz relatórios ilusórios, piores que nenhum, que são listas *simulacra vana* e podem gerar confusões quando impressas.

A bibliografia de amadores não pode seguir, muitas vezes, as regras de nomenclatura; exemplo: o nome científico-popular duma diatomácea para testes óticos sempre foi *Pleurosigma angulatum* W. Sm., 1852, cujas lâminas eram vendidas para averiguar definições de objetivas e oculares. Caindo em sinonímia com *P. thuringicum* (Kuetzing, 1844), descrita oito anos antes, a freguezia não a aceitaria com o nome correto, quereria *angulatum*, de nome comercial enraizado na praça. Deixou-se êste nome continuar, mas alguns colocaram duas exclama-

ções !!, talvez como “sinonímia subentendida”; assim faz DE-TONI ao mencionar *P. angulatum* Kuetzing: *nomen anterius* !!, sabendo ser *thuringicum* mas por motivo de uso generalizado, conservando como *angulatum*.

ERROS DAS DETERMINAÇÕES “IN ABSTRACTO”

Não se poderá classificar *in abstracto*, fazer identificações artificialmente, somente revolvendo um texto-índice sem o estudo morfológico, para não se aumentar a percentagem de erros. Exemplo: se estivéssemos fazendo as determinações seguindo a chave do *Sylloge Algarum*, depois de outros parágrafos morfológicos, teríamos: — §) *Species aquae dulcis incolae*: *P. acuminatum* e outros; §§) *Species aquae marinae*: o agrupamento *balticum*.

Estas caracterizações de *habitat* dão determinações morfológicas *in abstracto*, porque seguir-se-á uma divisão hipotética, teórica; somos obrigados a não considerá-la e consultarmos a morfologia das espécies de ambos agrupamentos. Tal divisão, sem base positiva, de usança antiga, foi deploravelmente adotada por DE-TONI no seu *Sylloge*; esqueceu-se êle da água salobra das lagoas, baías, enseadas, onde chegam bilhões de diatomáceas vivas procedentes dos rios. Mesmo se acrescentarmos um 3.º item: §§§) “habitantes de águas salobras”, tal chave não funcionará. Lembremos que KARSTEN, em 1928, deu o *P. strigile* como exemplo de *Pleurosigma* de água salobra.

Veja-se, nas nossas figs. 1 a 5 e 22 a 26, obtidas eletronicamente, quantos caracteres morfológicos existem, ótimos e positivos, para segura diferenciação de *balticum* e *acuminatum*, que poderão diminuir os altos índices de erros vindos de subdivisões teóricas, abstratas, hipotéticas. Comparem-se para os ápices a fig. 25 de *acuminatum*, com a fig. 5 de *balticum*; as figs. 22 e 23 com a fig. 3, para os nódulos; e a fig. 24 com a fig. 2 para os cravos e os reticulados.

AGRUPAMENTOS ARTIFICIAIS “A GROSSO-MODO”

VAN HEURCK fala do *P. wansbeckii* Donkini, ao passá-lo à variedade de *P. balticum*: “Plus petit et plus aigu que le type (*balticum*) auquel il se relie comme forme par tous les intermediaires possibles, tout en restant plus finement strié, 19 a 20 stries in 1 centième de mm”.

Nossa tabela mostra *wansbeckii* com 19-20 estrias por decamicra, e outras espécies intermediárias até *balticum* com 15-17 estrias. Se seguíssemos tal diagnose identificaríamos muitas diatomáceas que tivessem até mesmo contornos semelhantes a *P. simile*, *P. plagiostoma*, *P. diminutum*, *P. californicum*, como forma *wansbeckii*, pois esta tem todos os intermediários possíveis, apenas exigindo-se estrias em número de 19 a 20. Esta diagnose dá direito a grande polimorfismo. O Dr. van Heurck determinou muitas lâminas-tipo que deverão ter seguido essa

diagnose; elas hoje poderão produzir erros *in pluriambiguitatis*, dando confusão com duas espécies (ambiguas) ou pluriambiguas.

Tais questões exigem uma solução sensata, antes de qualquer estudo electrónico. O reconhecimento feito *a grosso-modo* é mais impreciso que o *sensu-lato* que enquadra, em diagnoses, vários caracteres específicos mais gerais, mas bem conhecidos. A determinação *a grosso-modo* encaixa em vastíssimas diagnoses artificiais numerosíssimas formas e poderia servir para fazer uma larga e rápida triagem; assim, todos os que forem *Pleurosigma* de 19-20 estrias poderão receber o nome de *P. balticum wansbeckii* van Heurck, 1899, p. 256, *a grosso-modo*, no caso de ser de águas marítimas e se enquadrarem nas 3 divisões da pág. 250 de VAN HEURCK.

A sistemática dêste grupo será menos instável, menos artificial, à proporção que as culturas puras e o estudo *in-vivo* do crescimento fôr entrando em rotina. Culturas diatomisticamente e bacteriológicamente puras são os materiais que, de fato, devem ser estudados electrônicamente, para não causar confusões evitáveis.

DESCRIÇÕES INSUFICIENTES, MESMO AO MICROSCÓPIO DE LUZ

Espécies cujas descrições se colocam em listas *coetera desiderantur*, por ex. *P. antarcticum* Gr., *P. subtile* (Brèb.), *P. sinuosum* (Ehr.), e casos análogos, necessitam serem mais bem conhecidas antes de serem submetidas à microscopia electrónica. Com 2 ou 3 caracteres, o especialista ainda terá muitos caracteres óticos em dúvida, e deseja saber quais sejam. Sem sabê-los, as identificações ficam dúbias ou arbitrárias, são as espécies agrupadas como "*species vix-A-juris*", ou "*species vix-B-juris*", isto é, o "apenas e muito mal segundo o conceito de A", ou então o "apenas na fórmula arbitrada (jurada) pelo especialista B". São êsses uns matizes de sinonímias não totais (pro-parte) usados para as diatomáceas fósseis e vivas. Às vêzes são postas de lado nas "*species ulterius scrutandae*"; exemplo: o *P. pulchrum* Grunow, segundo DE-TONI, é catalogado como espécie, independentemente; segundo o conceito e diagnoses de H. L. SMITH, êle cai dificilmente em *formosum*, mas sendo "*P. formosum vix H. Smithi juris*"; contudo, segundo apenas a diagnose de PERAGALLO, êle poderá ser, talvez, o *P. tahitiense vix Peragalloi juris*"; porém segundo MANN será "*P. speciosum vix Manni Juris*"; enquanto que o "*P. speciosum vix Clevei juris*" terá em sua diagnose, além do *P. pulchrum*, também o *P. tortuosum*. Nas diatomáceas as dificuldades taxonômicas são enormes, complicadas e impossíveis de serem facilmente reformadas; mesmo bons diatomistas não puderam determinar todos os espécimes, por ex. A SCHMIDT, no seu célebre Atlas, que várias vêzes se limitou à identificação genérica.

Há muitas modalidades de descrições insuficientes que provavelmente seriam tidas como *nomina nuda*, em outros agrupamentos zoológicos ou botânicos, a saber muitas diatomáceas das listas *solo nomine*

cognito, ou das *Tantum nomine notae*, ainda a serem verificadas, porque entre regras de diatomística sempre valeu, vale e valerá o tipo, embora sua descrição antiquada, de tempo em tempo poderá ser atualizada por autores contemporâneos ou mais modernos, com microscópios atualizados.

Tais casos necessitarão de solução científica, a mais segura e razoável, antes do uso da eletrônica, que lhes aumentará 10 a 20 vezes o número de detalhes; é preciso bom-senso para não aumentar a confusão para 10 a 20 vezes mais.

ERROS CONSIDERADOS LAPSUS CALAMI

Os erros grosseiros não precisam a solução do microscópio eletrônico, como os de escrita, os tipográficos ou os de encadernação, para os quais deve o especialista estar sempre prevenido. Por exemplo, na monografia de CLEVE, na pág. 5, a posição das figuras foi invertida: onde apareceu na numeração fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, as figuras saíram, ao contrário, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1. Baralha-se totalmente a adjetivação dos ápices: confundindo-se os acuminados com os oblíquos, os apiculados com os obtusos, os rostrados com os cuneados, os truncados com os capitados e os rotundados com os apiculados. Como raramente as obras trazem *errata*, só irão adivinhar tais lapsos aqueles que estiverem já amadurecidos na especialidade.

DEFEITOS DOS DESENHOS

Enormes diatomáceas, de mais de 200 ou 300 micra de comprimento, somente poderão ser desenhadas, embora trabalhosamente, pois até hoje é o único meio de apresentá-las, focalizadas em todos os planos. Tais são as desenhadas por A. SCHMIDT, as milhares de figuras, em cada volume do seu clássico Atlas, consideradas tecnicamente perfeitas até hoje. Apesar de tudo, há muitos desenhos que, embora trabalhosos, têm ou podem ter: 1.º) uniformizações lastimosamente forçadas, 2.º) coeficientes de erros individuais.

Entre os primeiros, a esquematização didática; exemplo: na monografia de VON SCHOENFELDT, "*Diatomaceae Germaniae*" de 1907, não há indicação de aumento para os desenhos compilados, nem para os originais. Seus desenhos de *Pleurosigma* sendo esquemáticos, trazem, ou um traçado em cruz verticalmente, pelo meio, para anunciar a existência teórica de duas carreiras de estrias, isto é, tratar-se de um *Gyrosigma*, ou um traçado em X, com mais uma linha horizontalmente, para indicar que há 3 direções na estriação, isto é, que seja um verdadeiro *Pleurosigma*. Ótimo trabalho para quem vai lidar numa região geográfica de flórula muito limitada, como a Alemanha, e seja perfeitamente suficiente para classificar os poucos *Pleurosigma* germânicos. Porém, este sistema força a figura a entrar no esquema teórico

pré-estatuído: ou haverá 2 perpendiculares ou 3 oblíquas, nas direções das estriações. Como encaixaria aí espécies, como o *P. japonicum*, que tem 2 direções em X?

Exemplos de uniformização teórica do reticulado: o número teórico arbitrado na chave de “tantas estrias por decamicra” passa a cobrir regularmente o desenho, embora haja na realidade muitas irregularidades, as quais não podem ser feitas à máquina de hachurar. Por isso, há “circa ou circiter 15-17” estrias para o *P. balticum*, e como diz VAN HEURCK: “parfois les transversales un peu moins serrées que les longitudinales”. Os grandes tratados usam, às vezes, uniformizações, pois precisam de centenas de figuras de todos os gêneros de diatomáceas (e de outras algas e outros planctontes). Nestes tratados de plancton ou de botânica geral, saem as figuras obrigatoriamente pequenas, mas a finalidade dêles é outra: é mostrar famílias e alguns gêneros, nunca espécies; suas escalas, suas necessidades, se referem a grandes grupos, não podem ser usados como suficientemente corretos para identificação específica.

Também não se pode fiar, para classificação até espécies, em álbuns para amadores. Por exemplo: a fig. 11 da Estampa 26 de *Gyrosigma balticum*, do Atlas de LEFÉBURE, tem, além de esquematização, uniformização errada, com estrias sempre oblíquas em tôdas as 3 direções, como se todos os *Pleurosigma* fôsem unicamente do subgênero *Eupleurosigma*; nunca se chegará a nenhuma conclusão específica por tal Atlas, visto como não existe nenhuma diatomácea *Eupleurosigma* que tenha o formato exterior de *P. (Gyrosigma) balticum*, e vice-versa, nenhum *Gyrosigma* que tenha a estriação interior de um *Eupleurosigma*.

UNIFORMIZAÇÃO FORÇADA, MESMO EM BIBLIOGRAFIA DE ALTO NÍVEL

Na sua importante monografia, PERAGALLO desenhou (pl. 3, fig. 15), mais uma carreira de estrias no *P. japonicum*, que apenas possui 2 carreiras de estrias oblíquas. A conceituação de que sempre hajam duas carreiras oblíquas e uma horizontal, dando sempre um total de 3 carreiras, é teórica, feita para forçar sua entrada na chave de verdadeiro *Pleurosigma (sensu stricto)* ou seja no subgênero *Eupleurosigma*. A diatomácea *P. japonicum* Castracane, não tendo se encaixado nestas subdivisões preconcebidas, o desenho foi feito de modo que a enquadrasse. MANN nunca conseguiu ver a estriação transversal, não aceita como verídico êste desenho; o mesmo aconteceu com CASTRACANE ao descrevê-la originalmente somente com 2 carreiras oblíquas.

IDÉIAS DIVERSAS SUGERIDAS PELOS DESENHOS

Desenhos subordinados à mesma descrição dão idéias diversas sobre a morfologia. Exemplo, na monografia de VON SCHOENFELDT “*Diatomaceae Germaniae*”, a figura de *P. balticum* foi compilada da de W.

SMITH, tem seu contorno exato, embora trêmulo, mas nos dá idéia que o nódulo tenha uns 19 micra e seja maior que o que sugere a figura de VAN HEURCK. Idéia que seja ainda menor e mais arredondado é o que sugere a figura de FRENGUELLI (1938, pl. 3).

O microscópio eletrônico resolve definitivamente este problema. Vemos que o nódulo central do *P. balticum* que examinamos tem 6 por 2 micra, e outros detalhes estão na microfotografia que publicamos (fig. 3), totalmente independente de nossa apreciação subjetiva e independente do maior ou menor grau de fidelidade das figuras desenhadas.

Desenhos da estriação dão também idéias diversas: A sugestão dada pela fig. 3 de FRENGUELLI é que seja mais grossagrana, com 28 malhas na largura da diatomácea, enquanto que o desenho de VAN HEURCK chega a ter 50 malhas na mesma largura, e contudo, a descrição é a mesma: *P. balticum*.

ERROS DE EXTRAPOLAÇÕES EM DESENHOS

Poderá haver extrapolações, com interpretações subjetivas, na apresentação do desenho, em maior aumento que o do microscópio. VAN HEURCK levanta dúvidas sobre a espécie *P. reversum* Gregory: Será tal como este autor a desenhou? Tão demasiadamente inchada na parte mediana? Desenho feito sem câmara-clara ou feito com extrapolação? Será uma anomalia? Enquanto não se achem os tipos de GREGORY, para serem reestudados, esta espécie fica nas listas de *Ulterius inquerendum*, porque corre opinião que seja, talvez, uma das variedades do *P. sinensis* (Ehr.) Ralfs.

O microscópio eletrônico corrige as extrapolações, fotografando diretamente a 10.000 e 20.000 vezes de aumento, cujos dados servem para correção das figuras ao microscópio de luz, feitas a 1.000 e 2.000 vezes de aumento.

DEMORA DO DESENHO COMPLETO

O trabalho para desenhar areolações e reticulados é hoje considerado ocioso; 3.600 horas de desenhista hábil, mal dão para uma estampa de *Pleurosigma*. Lembremos que SCHMIDT, artista e cientista excepcionalmente dotado, fez seu Atlas em mais de 30 anos de trabalho constante, e hoje, apesar de tudo, este Atlas é continuado, quanto possível, microfotograficamente, técnica mais eficiente e rápida para os dias de hoje.

MICROFOTOGRAFIAS

Somente as superfícies bastante planas das frústulas silicosas é que tiveram seus desenhos vencidos pelas técnicas microfotográficas (vista valvar de *Pleurosigma*, por ex.). DUSCHESNE, em 1890, já conse-

guia microfotografias de *Pleurosigma*, de 24 por 16 cm, aumento de 1.535 vezes, e na sua estampa VII em aumento de 11.000 vezes, ampliação de microfotografia comum, a cerca de 1.000 vezes. Quase todos os autores contemporâneos somente são obrigados a usar os desenhos para explicar detalhes das microfotografias; ex.: KARSTER usou desenhos delicadíssimos nos *Pleurosigma* da Expedição Valdívia (sua Est. 34), o que, aliás, é o modo que se tem para exhibir os detalhes do ser ainda vivo, com os cromatóforos, núcleos e conteúdo celular. Também, em microscopia electrónica, HELMCKE & KRIEGER, em 1954, reconstituem em desenhos a 3 dimensões a interpretação da microestrutura de várias diatomáceas. O Atlas de SCHMIDT foi, desde o século XIX, totalmente desenhado nas suas 200 primeiras estampas; atualmente (maio de 1959), editado pela Comissão Estatal Alemã, sob a responsabilidade do Prof. Dr. HUSTEDT, tem como base dos seus estudos as técnicas microfotográficas, de desenho, electrónicas e culturas puras, e já está na sua 472.^a estampa. O estudo electrónico não dispensa microfotografias ao microscópio de luz, para localização exata dos detalhes.

ERROS POR FALTA DE MATERIAL IDENTIFICADOR

Falta de documentação original: Na determinação do plancton, parte do serviço é penosa consulta de clássicos, no modo de “*doctus cum libro*”, trabalho obrigatório “*ad aperturam libri*” nas mais preciosas edições. Tendo a bibliografia completa, inacessível *ab origine* para numerosos gêneros, eliminam-se somente os erros por falta de literatura original, e os erros de documentações secundariamente fraudadas ou enganadas, sendo estes assim evitáveis. Porém, nesta questão não há alternativa, visto como a bibliografia antiga original, mesmo em *editio princeps*, traz os erros inevitáveis da imprecisão das técnicas óticas e das montagens obsoletas. Mas ninguém pode trabalhar seriamente se não tem toda a bibliografia em mão. Nada sabemos sobre a flórua nos limites da Rússia, cuja “*Monographia algarum aquidulcium et terrestrium in finibus U.R.S.S. inventarum, Pars specialis, Systematica*” está anunciada em catálogos, em 1949, de ELENKIN, os II e III — *Cyanophycearum* 1908 páginas, e reservado o IV para as *Baccillariophycearum*.

DIFICULDADES BIOLÓGICAS, CARACTERES GENÉRICOS

As grandes autoridades, as mais escrupulosas, quando empregam o microscópio de luz, sentem dificuldades, às vezes sérias, ao caracterizarem os gêneros; por ex., MANN descrevendo *Pleurosigma dolosum* (p. 133), dizendo-o semelhante à *Navicula iridis* Ehrenb. mas a sua rafe, a área central, os seus quincúncios o fixam, de fato, no gênero *Pleurosigma*. Tenhamos presente que *Navicula* e *Pleurosigma* são gê-

neros teoricamente diversos, e, confessando o exposto acima, os próprios mestres não deixam que se ignore a soma de esforços que lhes custa, na prática, acertar a identificação até gênero. Conforme o critério sistemático adotado incluem-se ou não, na diagnose do gênero *Pleurosigma* também, as características de *Donkinia* Ralfs, *Rhoicosigma* Grunow e *Toxonidea* Donkin, segundo MANN, 1925. As discussões giram em torno do aspecto, ora mais, ora menos, sigmóide, o encurvamento do "S" da rafe, cujo aspecto, simplicidade e elegância, seja o mesmo em toda a valva, na delicadeza do trabalho em colmeia, que seja arranjado a 2 ou 3 direções. CLEVE, na monografia de 10 de maio de 1893, aceitou *Gyrosigma* Hassal, 1845, para espécies de 2 carreiras de estrias, enquanto que *Pleurosigma* ficava para aquelas de 3 carreiras de estrias. Naquelas espécies de estrias mal definidas, a diferença entre estes dois gêneros, por vezes, poderá fracassar. Não raramente, passam muitos autores a comentários da existência ou não de estrias em 3 direções. Ex.: MANN assinala 2 direções no *P. japonicum* Castracane e no *P. obesum* Mann, embora DE-TONI (p. 239), incluísse o *japonicum* entre os que tinham 3 direções de estrias. São estas as dificuldades que poderão ser bem desempatadas pelo microscópio eletrônico. MANN aceitava, ainda em 1907, aquêles dois gêneros admitidos por CLEVE, mas após estudo continuado do grupo, já em 1925, não os admitia mais. Cada mudança traz boa lista de *species a genere removenda* e de localizações dúbias nos gêneros; ex. *Pleurosigma ? sagitta* Temp. & Brun. MANN julga não ser coerente a diferenciação proposta por CLEVE, porque assim ter-se-ia de subdividir também outros gêneros próximos, como *Donkinia* e *Rhoicosigma* em outros tantos novos gêneros, a 2 e a 3 direções.

Mostramos que, estas duas ou três direções dependem, ao microscópio eletrônico, da forma dos *clavus* eletrônicos, obtidos pelo processo de um de nós (MUTH), a alto vácuo. É preciso lembrar que, não há efeito ótico unicamente a 2 ou 3 direções, em linhas quase retas, há também entrelaçados, bastante recurvados, como os de *P. parkeri* Harrison, cuja complicada disposição só poderá ser bem estudada, em estereoscopia eletrônica, a aumentos de 10.000 a 20.000 vezes.

No entanto, há outras diferenças que poderão fazer válidos como gêneros: 1.º) os *Pleurosigma sensu stricto* ou subgênero *Eupleurosigma* Karsten, aquêles que não têm estriação sagital, e têm *in-vivo* cromatóforos em faixas, em cócos, quase sempre com pirenóides; e 2.º) gênero *Gyrosigma* Hassal (ou subgênero *Gyrosigma* Karsten) tendo *in-vivo* cromatóforos em duas placas, e não pirenóides.

Ora, bem poucas destas diatomáceas foram estudadas *in-vivo*, seria talvez um critério prudente, não generalizar ainda tais fatos isolados, para evitar numerosos casos duvidosos, a aumentar as listas de "ad genus *Pleurosigma* probabiliter pertinens", por exemplo: *Pleurosigma ? staurophorum* Grun. Seguimos provisoriamente os conselhos de MANN, não aceitando o gênero *Gyrosigma*, subdividimos provisoriamente, como KARSTEN, 1928:281, em dois subgêneros — *Pleurosigma* (*Eupleurosigma*), e *Pleurosigma* (*Gyrosigma*).

Os critérios para dividir em espécies, variedades ou formas são muito difíceis e instáveis: por exemplo, CLEVE considerou o *Pleurosigma normanii* Ralfs existente e válido, mas não ao *P. affine* Grunow, 1880, que lançou em sinonímia total com este *normanii*, de acordo com o seu sistema "Synopsis of Naviculoid Diatoms". Contudo, PERAGALLO considerou haver existência de ambas espécies, mas com critérios contrários, isto é, *P. affine* passa a valer como espécie, e *normanii* como sua variedade, "*P. affine* var. *normanii*" Peragallo, 1891, pl. IV, fig. 6-7. Porém, MANN não considerou assim, passou *normanii* para o gênero *Gyrosigma*, ficando *G. normanii* Mann, 1907, p. 364, e fez *affine* desaparecer, não válida na sua p. 365. Todavia, em 1925, MANN não adotou mais a existência de *Gyrosigma*, opinou por haver suficientes caracteres específicos para ambas, tanto *normanii* quanto *affine* e, hoje, lembremos que estas duas espécies são assinaladas no Brasil, por MUELLER-MELCHERS, p. 124, como espécies distintas, mas não pertencentes ao gênero *Gyrosigma*.

O conceito de variedade varia muito: por ex. CLEVE e PERAGALLO opinaram que *P. simile* Grun., de aspecto, contorno e rafe pouco arqueada, com ápices muito diferentes, fôsse variedade de *P. balticum*; além disso, CLEVE deu o número de estrias bem diverso "striae 16-17 in 0,02 mm", ou seja 8-8,5 em decamicra (1894:119).

Enfim, depende dos critérios, ou mesmo dos caprichos autorais, o que seja variedade ou espécie, neste difícil gênero *Pleurosigma*. Assim, evidentemente, o diatomista que seguir as indicações de PERAGALLO não terá nas suas listas o *P. simile* nem o *P. normanii*, mas terá um número muito maior de referências de *P. balticum*, do que aquêles seguidores de outros sistemas, ou de outras coleções de preparados microscópicos.

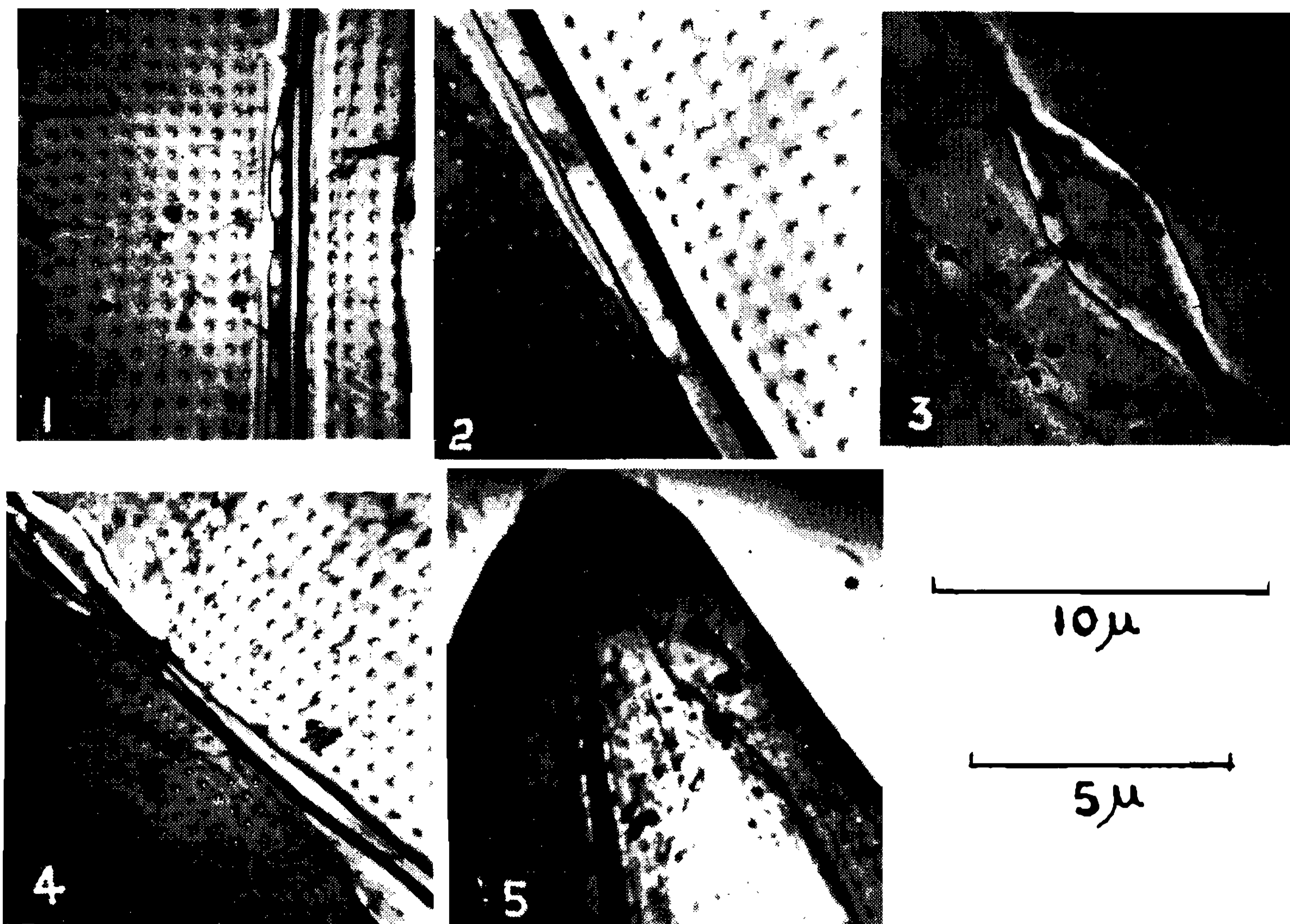
ERROS DE ARBITRAGEM DAS ESPÉCIES PELA DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Todos os autores tomam por muito conveniente sempre respeitar as procedências: assim, o *P. acuminatum* seja "*aquae dulce incolae*", enquanto que o *P. terryanum* Peragallo, seja de Bristol, U.S.A., que *P. constrictum* Grun. seja do Adriático, e enfim que o *P. spectabile* Grun. seja brasileiro, "*Habitat in Brasilia*", que no *Sylloge Algarum* significa o país Brasil.

Dêste modo, não se fará nunca determinação de espécies, apenas será ir aos fichários de distribuição geográfica. Impossível tolerar este modo de fazer sistemática. Para quem trabalhe em limnologia, com seres de águas doces, poderá ter sentido diferente a determinação específica de um planctonte; assim a precisão da identificação dependerá do problema ecológico que se tenha em mira. Mas não em oceanografia; lidando com plancton marítimo, oceânico, aproximação por localização geográfica nada resolve, é erro grave, inadmissível.

FALTA DE UNIFORMIZAÇÃO DAS MEDIDAS

Medidas antigas, difíceis: em pontos, linhas e múltiplas subdivisões de várias polegadas: francêsas, inglêsas ou norte-americanas, foram uniformizadas para *micra*, já em DE-TONI, no *Sylloge Algarum*. Mas, até em bons trabalhos modernos, como o de MANN, em 1925, passa-se



Pleurosigma balticum (Ehr.) Rabenh., material do Arquivo de Microscopia Eletrônica — Fig. 1: X 3.330, n.º 6.871; fig. 2: X 4.900, n.º 6.873; fig. 3: X 4.900, n.º 6.875; fig. 4: X 3.300, n.º 6.872; fig. 5: X 3.300, n.º 6.874. (Figs. 1, 4 e 5: escala superior; figs. 2 e 3: escala inferior).

do sistema decimal à polegada norte-americana, dando mais trabalho à pronta leitura: temos na descrição de *P. strigosum* o emprêgo de 0,007 a 0,011 de polegada, como medida e “44 estrias por milésimo de polegada”. MANN chama também de *lines* as estrias, usando polegadas: “44 lines in 0,001 inch”. Também chama *lines* usando sistema decimal: “11-11,2 lines, 0,01 mm”. Ainda, a palavra *line* é a medida de 1/10 de polegada, usada na microscopia inglesa e norte-americana, igual a 2.540 micra.

Ao microscópio eletrônico sempre padronizamos para *micron* e seus múltiplos e submúltiplos; neste gênero *Pleurosigma* usamos somente: $da\mu$, decamicra e $m\mu$, milimicra.

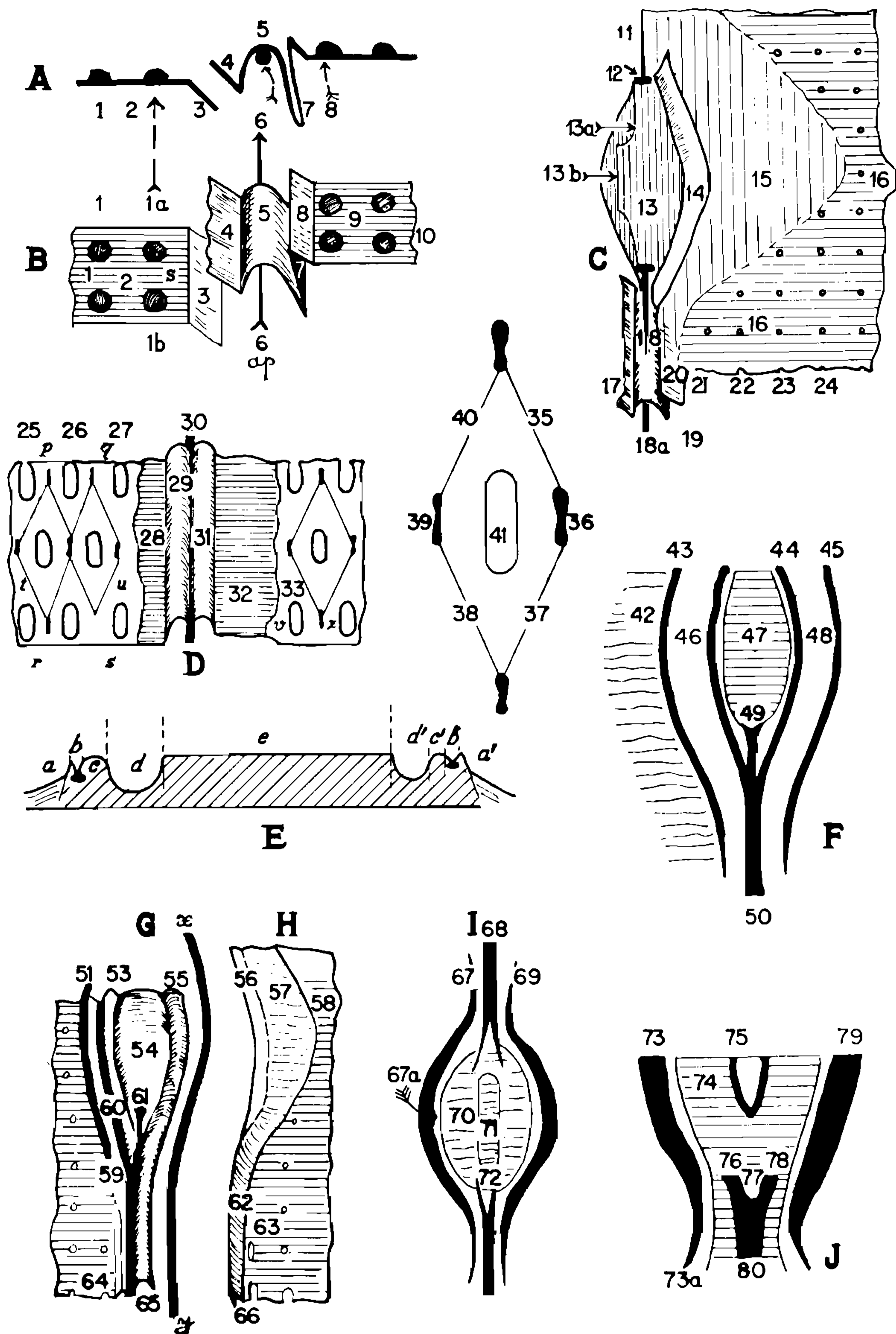


Fig. 6 — Diagramas explicativos, sem escala.

A — B: *Pleurosigma balticum*, corte transversal. (A = 1 — botões, cravos eletrônicos, 2.ª série longitudinal; 1, a- 1, b — 1.ª série longitudinal, justa-rafeana de botões; 2 — membrana da epiteca, metade do lado direito; 3 — margem justa-areolar, esquerda; 4 — margem livre da semi-valva direita, na rafe; 5 — semicilindro rafeano; 6 — linha opaca eletronicamente, do eixo rafeano; 7 — margem parietal, rafeana direita; 8 — margem justa-areolar, da semiepiteca direita; 9 — membrana valvar, epiteca, metade do lado direito, semivalva envolvente; t, s — eixo transversal; ap — eixo apical ou rafeano; v, x — série transversal de botões eletrônicos. B = Plano valvar, em corte).

SOLUÇÃO DO ESTUDO DOS NÓDULOS E DA RAFE PELA MICROSCOPIA ELECTRÔNICA

A classificação torna-se impraticável ao microscópio de luz, quando uma variedade começa a cair numa espécie e noutra. Exemplo: a variedade *wansbeckii*, uns colocavam em *P. balticum*, outros em *P. acuminatum*. Notava-se ligeira diferença nos nódulos centrais, que ao microscópio de luz já eram vistos como “*nodulo parvo rotundato*” e como “*nodulo centrali oblongo*”. Ora, o microscópio eletrônico fornece bem e sem confusão, diferenças morfológicas, até então não suspeitadas, nos nódulos, principalmente empregando-se a técnica usada por um de nós (MUTH), da deposição de platina a alto vácuo; mostramos bastantes caracteres morfológicos novos, nos nódulos, por meio deste processo de eletrônica; veja-se, por exemplo: o nódulo central de *P. balticum* na nossa fig. 3, quanto difere do de *P. aestuarii* nas figs. 10, 11, 13 e 14; e nas demais 4 espécies que tomamos para comparação: *P. thuringicum* (figs. 19 e 20); *P. acuminatum* (figs. 22 e 23); *P. formosum* (figs. 27 e 28); e *P. strigosum* (figs. 32 e 33).

C: *Pleurosigma balticum*, diagrama explicativo das figs. 3 e 4. (11 — linha negra, opaca eletronicamente, do eixo da rafe; 12 — formação “em letra T”; 13 — área mediana do nódulo; 13a, 13b — linha de sutura, visível eletronicamente; 14 — arco circumnodular direito; 15 — expansão plana circumnodular; 16 — membrana da epiteca direita, com os botões eletrônicos se distanciando de 666 em 666 μ ; 17 — idem, igual a 4; 18 — idem, igual a 5; 19 — idem, mesmo que 7; 20 — margem justa-areolar; 21 a 24 — 1.^a a 4.^a série, respectivamente, de botões longitudinais).

D: *Pleurosigma aestuarii*, corte explicativo da fig. 7, transversal, perpendicular à rafe e ao plano valvar. (25 — furos alargados longitudinalmente, 3.^a série longitudinal de furos; 26 — 2.^a carreira longitudinal de furos; 27 — carreira justa-rafeana, longitudinal, de furos; 28 — margem justa-areolar da rafe, esquerda; 29 — semicilindro esquerdo, da rafe; 30 — eixo da rafe, eletronicamente opaco; 31 — semicilindro direito da rafe; 32 — margem justa-areolar da rafe, direita; 33 — areolação em hexágono; 34 — 2.^a série longitudinal de furos, carreira decussada, quincunclada, mesmo que 41; 35 — 1.^o lado do hexágono; 36 — lado longitudinal do hexágono da areolação, 2.^o lado, lado mais grosso; 37 — 3.^o lado; 38 — 4.^o lado; 39 — 5.^o lado, longitudinal; 40 — 6.^o lado do hexágono; os lados 1.^o, 3.^o, 4.^o e 6.^o são finos e oblíquos; 41 — furo intra-areolar, dentro do favo).

E: *Pleurosigma aestuarii*, corte transversal pelo meio da área nodular mediana (fig. 11). (a — expansão circumnodular; b — sulco com arco circumnodular, opaco eletronicamente, largura 50 μ ; c — relêvo marginal, largura 150 μ ; d — baixo relêvo marginal; e — área mediana, parte plana).

F: *Pleurosigma thuringicum*. (42 — expansão da margem justa-areolar, junto ao nódulo; 43 — arco circumnodular, parte negra, opaca eletronicamente; 44 — linha de sombra, à direita da área mediana, grossura de cerca de 100 μ ; 45 — linha opaca do arco circumnodular direito; grossura de cerca de 100 μ ; 46 — faixa clara do arco circumnodular esquerdo, cerca de 200 μ de largura; 47 — área mediana fusiforme, largura de 700 μ ; 49 — formação em letra V; 50 — parte opaca à “luz eletrônica”, no eixo da rafe).

G, H: *Pleurosigma acuminatum*, sendo G a semivalva esquerda. (51 — arco circumnodular esquerdo, parte opaca eletronicamente; 52 — parte clara do mesmo arco, do n.^o 51; 53 — margem em alto relêvo da área mediana, lado esquerdo; 54 — área mediana nodular; 55 — margem direita da área mediana, que continua com o bastão axial rafeano (n.^o 65); 56 — faixa clara, mas sem formação do arco circumnodular direito, completamente, na semivalva direita; 57 — expansão circumnodular direita; 58 — face valvar, com os botões eletrônicos; 59 — passagem do arco circumnodular esquerdo para a margem justa-areolar; 60 — linha opaca eletronicamente, que se une ao eixo da rafe; 61 — formação em “cabeça de alfinete”; 62 — margem justa-areolar direita; 63 — 1.^a série longitudinal, perirafeana, de botões longitudinais; 64 — membrana da semivalva esquerda; 65 — cilindro da rafe; 66 — margem parietal, rafeana direita; x, y — sombra, ou linha da rafe opaca eletronicamente).

I: *Pleurosigma formosum*. (67 — ponta acicular do arco circumnodular esquerdo; 67a — margem do arco circumnodular, clara, iluminada, não opaca; 68 — eixo da rafe, opaco; 69 — arco circumnodular direito, opaco; 70 — área mediana nodular; 71 — depressão central nodular; 72 — pontas em bidente; intranodulares do eixo rafeano).

J: *Pleurosigma strigosum*. (73 — arco circumnodular, parte opaca com 280 μ de grossura; 73a — margem clara do arco circumnodular de 7 μ de largura; 74 — área mediana; 75 — depressão intranodular lenticular; 76 — parte esquerda do “Y”, do semieixo inferior da rafe; 77 — espaço alvíssimo; 78 — parte direita da “formação em Y”; 79 — arco circumnodular direito; 80 — eixo da rafe, eletronicamente opaco).

ERROS POR DEFICIÊNCIA VISUAL

Um microscopista, com pequena alteração patológica passageira, não vê detalhes numa diatomácea, que aparecem no entanto quando goza de acuidade visual; o astigmático não determinará diatomáceas, com a mesma eficiência do normal, ao microscópio de luz, porque não poderá facilmente ver a estriação paralela, a não ser que altere os ângulos dos prismas do seu microscópio, corrigindo-o para a sua vista, aliás o que fez um de nós. É fácil fazer rápido exame oculístico numa sala de aulas: uns vêem melhor a areolação que outros, o que para uns é areolado hexagonal, para outros seria perolado esférico. Lembremos que a areolação do *Pleurosigma angulatum* deu sérias discussões: para uns autores baseava-se em furos redondos (NACHET, WOODWARD, VAN HEURCK), para outros em furos hexagonais, sendo entre êstes o próprio Dr. van Heurck, mais tarde, quando optou pela forma hexagonal, tipo *favus*: isto é, antes e depois da estereoscopia binocular ao microscópio de luz. O microscópio electrónico resolve objetivamente estas questões, que antigamente eram muitas vezes baseadas em especulações e hipóteses teóricas ou em fatores individuais: vista altamente viciada ao microscópio de luz, astigmatismos, miopias, efeitos de estrias brancas em fundo escuro — e vice-versa — que dão ilusões óticas por irradiações luminosas. Diatomistas de acuidade visual maior que a da visão emetrópica normal, percebem detalhes sob ângulo ótico menor que 1 minuto (acuidade = 1,2 . . . 1,3) e aquêles que tenham nas suas retinas a superfície da *macula lutea* maior que a normal, com maior número de bastonetes que forneçam até 150 vezes mais visibilidade, verão instantâneamente mais detalhes nas diatomáceas, do que aquêles que tenham sua *macula lutea* normal, com número normal de bastonetes, ocupando apenas 1/500 da retina. Aquêles que sofrem de ametropia miópica, tendo o *punctum remotum* muito reduzido podem ter um ângulo ótico muito aumentado, e assim podem ter aumentada, patologicamente, a visibilidade de detalhes ao microscópio de luz, embora em prejuízo da visão normal.

Quão difícil atestar a identidade de uma diatomácea, *sine diffidentia*, temos prova no célebre Atlas, ao qual SCHMIDT devotou tôda sua vida, onde várias figuras ficaram sòmente numeradas, embora muitíssimas figuras tiveram e têm sua sinonimia retificada com a evolução da sistemática; mas, a maioria dos autores, estudiosíssimos, nada afirmaram categòricamente sòbre o que SCHMIDT não classificou: por ex. MANN, em 1925, apenas opina e escreve que a figura. 45, Est. 198, tinha semelhança com *Achnanthes tenuistaurus*, apenas o dando como *verisimiliter*.

Se dermos vista aos trabalhos de PATRICK, em material brasileiro dos açudes nordestinos, constataremos várias identificações impossíveis até espécie.

Enfim, MANN, do U. S. National Museum, escreve, a respeito: "The labor involved in course is considerable, but the great convenience and accuracy securely justifies it".

DESCRICOES AO MICROSCOPIO ELECTRONICO

Pleurosigma (Gyrosigma) balticum (Ehrenberg, 1830) Rabenhorst, 1853

Navicula baltica Ehrenberg, 1830: 114; Ehrenberg, 1838: 180, pl. 3; Kuetzing, 1844: 101; Kuetzing, 1849: 86.

Pleurosigma balticum Smith, 1852: 8, pl. 2, fig. 1; Smith, 1853: 66, pl. 22, fig. 206; Grunow, 1860: 558; Wallich, 1860: 122, fig. 130; Pritchard, 1861: 917, pl. 22, fig. 206; Janisch & Rabenhorst, 1862: 11, pl. 3, fig. 3; Rabenhorst, 1862: 11, pl. 3, fig. 3; Rabenhorst, 1864: 235; Van Heurck, 1880: 117, pl. 20, fig. 1; Pelletan, 1888: 300, fig. 247; Wolle, 1890: pl. 32, figs. 5, 6; De-Toni, 1891: 249; Peragallo, 1891: 18, pl. 7, figs. 19, 20; Peragallo, 1898: 169, pl. 34, figs. 9, 10; Van Heurck, 1899: 256, pl. 7, fig. 272; Truan, 1894: 49, pl. 3, fig. 5; Mills, 1901: 174, pl. 19, fig. 19; Von Schoenfeldt, 1907: 135, pl. 8, fig. 97; Gran, 1908: 127. Meunier, 1915: 78, pl. 14, figs. 15-17; Zimmermann, 1916: 90; Mann, 1925: 131; Skvortzow, 1929: 424, pl. 2, fig. 5.

Gyrosigma baltica Rabenhorst, 1853: 47, pl. 5, fig. 6; Griffith & Henfrey, 1875: pl. 11, fig. 10.

Pleurosigma makron Johnston, 1860: 15.

Gyrosigma balticum Cleve, 1894: 118; Boyer, 1916: 75, pl. 23, fig. 2; Gran, 1908: 127; Boyer, 1928: 456; Hustedt, 1930: 224, fig. 331; Frenguelli, 1938: 291, pl. 3, fig. 3; Helmcke & Krieger, 1954: 24, fig. 65; Mueller-Melchers, 1955: 116.

Pleurosigma (Gyrosigma) balticum Karsten, 1928: 282, fig. 377.

Novitates sub methodis electronicis — Apud HANS MUTH em methodum, a deponendo naphthalina-platina intra altum vacuum, super membrana cellulae, imago picta electronicè ex contrario verè perforato reticulato: virtuales clavi effigiati, perinde positiva foramina ut est reapse. Hi clavi electronici, 18-20 millimicra lateris subrotundatis vel quadratis, inter se 666 millimicra distant, vel 15 clavi in decamicra, e seriebus retangularibus dispositis. Nodulus centralis oblongus, 6 micra longo, 2,4 micra lato, cum area mediana fusiforme, 5 micra longa, 1 300 millimicra lata, duobus arcibus circumnodularis lateralibus albis, utrisque 500-600 millimicra latis, subondulatis inter 2 lineas marginales umbrosas praetenuas, in microphotographias fig. 3, atque in explanatoriam figuram 6-C: n.º 13, 14.

In dextram semivalvam (fig. 6-C) hic arcus (fig. 6 n.º 14) probabiliter sit continuatio margines parietis (19 — fig. 6). Margo juxta-areolaris facit expansionem planam circumnodularem (fig. 6, n.º 15, 20) clavorum carente, 2.700 millimicra lata ab dextra, 2.200 millimicra ab sinistra, in photographias fig. 3 et 4. Duae umbrae nigrae electronicae a 1/5 utrisque extremitatibus areae medianae, ex dispositione symmetrica, longitudinali, T-litteriformibus, (300 millimicra transversin, apicibus tenuatis acutissime, 1,4 micra longitudinaliter), (6, ap., 11, 12 in fig. 6). Ad sutura axibus, in photographiam fig. 4, videtur fig. 6, n.º 13, 13-a, 13-b. Noduli terminales globulosi (fig. 5) foramine albo incurvo ovato, 1,42 micra longo, 820 millimicra lato. Raphe sub microscopio electronico 5 lineis longitudinalibus (fig. 1 ab dextra sinistrorsum visu) prima linea alba 500 millimicra lata, simile inclinatione

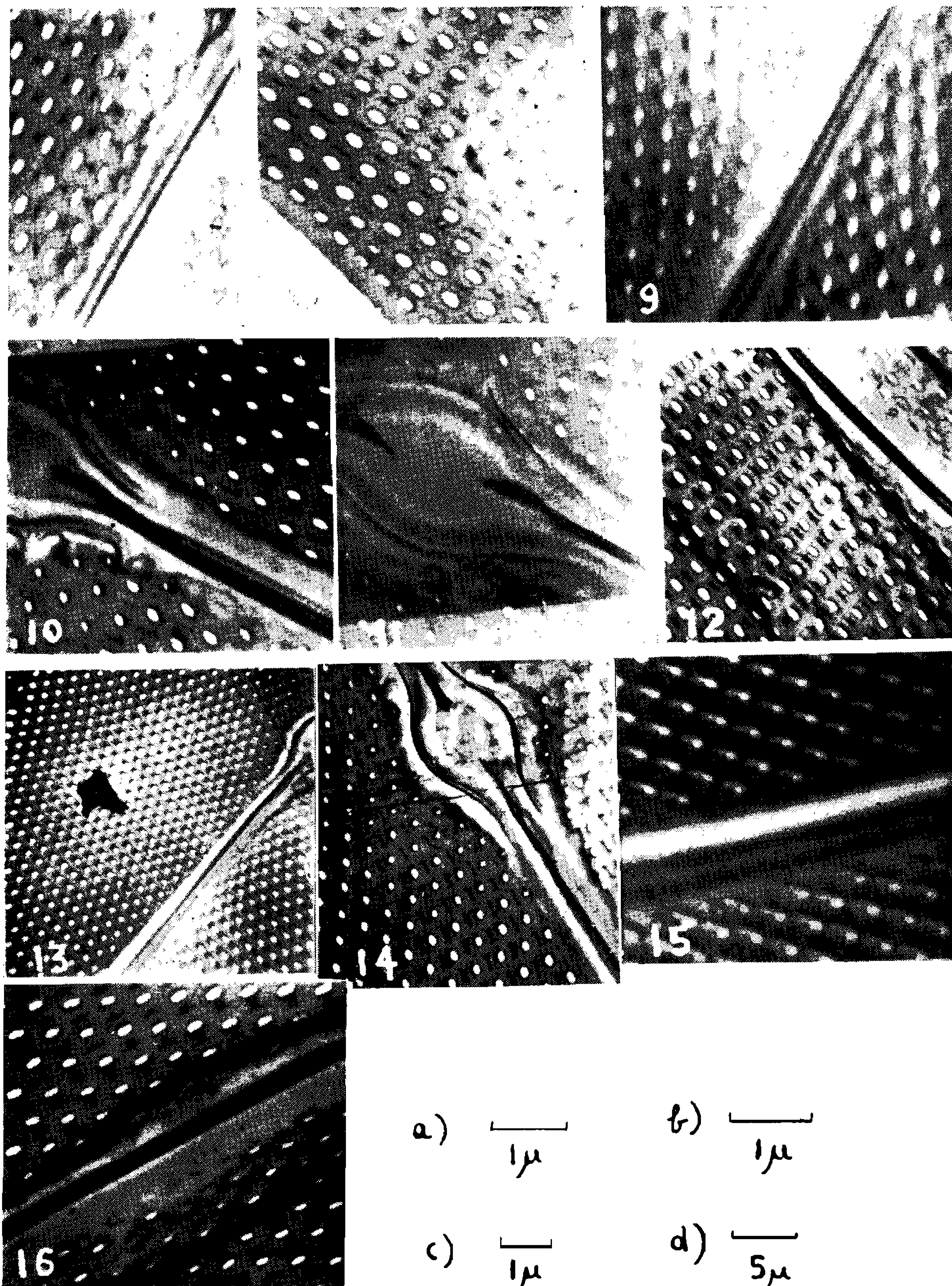
membranae, nomine ac "marginem juxta-areolarem" dicimus (8 — fig. 6). Secunda nigra ruga est circiter 380 millimicra. Tertia alba 480 et IV nigra 100 millimicra lata, semicylindricum axialem faciunt (5 — fig. 6); quinta linea cinerea 480 millimicra lata, videt quasi ruga sinuosis liberis, visibilius in fig. 2 (4 — fig. 6).

Novos dados obtidos eletronicamente — (Figs. 1-5, 6 A, B, C) — Às descrições clássicas feitas com o microscópio de luz, acrescentam-se dados eletrônicos, primeiramente os obtidos pela técnica direta (não usada por MUTH neste trabalho, por não fornecer facilmente dados novos) usada por HELMCKE & KRIEGER, que puderam ver em 1.500 vezes de aumento, o *Pleurosigma balticum*, sua membrana perfurada, furos brancos, como um crivo, 15 estrias por decamicra, que se cortavam em ângulo reto, câmaras infundibuliformes, além de um verdadeiro trançado reticulado. Em visão estereoscópica, mostraram fileiras longitudinais, mais fechadas que as transversais e os furos em aumento de 12.000 vezes.

Pela nossa técnica de deposição de platina a alto vácuo, não precisamos de visão estereoscópica, porque damos uma inclinação ao feixe eletrônico, que produz um sombreamento e deixa ver diretamente o relevo; assim, conseguimos novos detalhes, que exporemos, e para os quais tentaremos propor as seguintes interpretações, aliás difíceis e não de todo livres de crítica.

Obtivemos (figs. 1-5) a imagem eletrônica contrária ao real reticulado, à real areolação que é perfurada; aparecem nas nossas microfotografias os botões virtuais *clavus electronicus*, ao invés de verdadeiros furos. Estes têm 18-20 $m\mu$ de lado, são arredondados ou subquadrados, distanciam-se de 666 $m\mu$, formam séries dispostas retangularmente (fig. 1). As carreiras longitudinais são mais apertadas que as transversais, embora sejam bastante regulares, pelo menos quando não se aproximam muito, nem das pontas, nem da periferia (fig. 6, n.º 16). As longitudinais são um pouco mais apertadas junto à linha mediana. Da 1.ª longitudinal para a 2.ª, a distância é de 600 $m\mu$, em média; da 2.ª para a 3.ª é de 700 $m\mu$; depois distanciam-se em média de 800 em 800 $m\mu$. Na fig. 5 sobressai a carreira periférica, que tem entre os seus botões intervalos de 555 $m\mu$ e que dista paralelamente da margem de 90 a 100 $m\mu$.

Nódulo central oblongo, ao microscópio de luz, mas, eletronicamente diremos, de contorno fusiforme, em média de 6 μ por 2,4 μ . Área mediana nodular envolvida por dois arcos circumnodulares, em média com 500-600 $m\mu$ de largura (de 400 a 700 $m\mu$); um à direita, outro à esquerda, ambos iluminados mais claramente na fig. 3; por fora há duas linhas finíssimas, negras, as sombras das margens destes arcos. A semivalva direita é onde opinamos que esteja este arco circumnodular direito, porque a sua parte iluminada continua sem interrupção com a margem rafeana, desta valva. Assim sendo, a microfotografia da fig. 3 nos indica, que deva ser este arco, apenas um enrugamento alargado da borda parietal direita (n.º 14, 19 — fig 6). É preciso notar



Pleurosigma aestuarii (Bréb.), apresentado para comparação com *P. balticum* — Fig. 7: X 9.600, n.º 7.086; fig. 8: X 9.600, n.º 7.087; fig. 9: X 9.600, n.º 7.088; fig. 10: X 9.600, n.º 7.089; fig. 11: X 10.600, n.º 7.090; fig. 12: X 7.300, n.º 7.085; fig. 13: X 1.600, n.º 7.081; fig. 14: X 7.300, n.º 7.082; fig. 15: X 9.600, n.º 7.083; fig. 16: X 9.600, n.º 7.084. (Figs. 7 a 10, 15 e 16: escala a); fig. 11: escala b); figs. 12 e 14: escala c); fig. 13: escala d)).

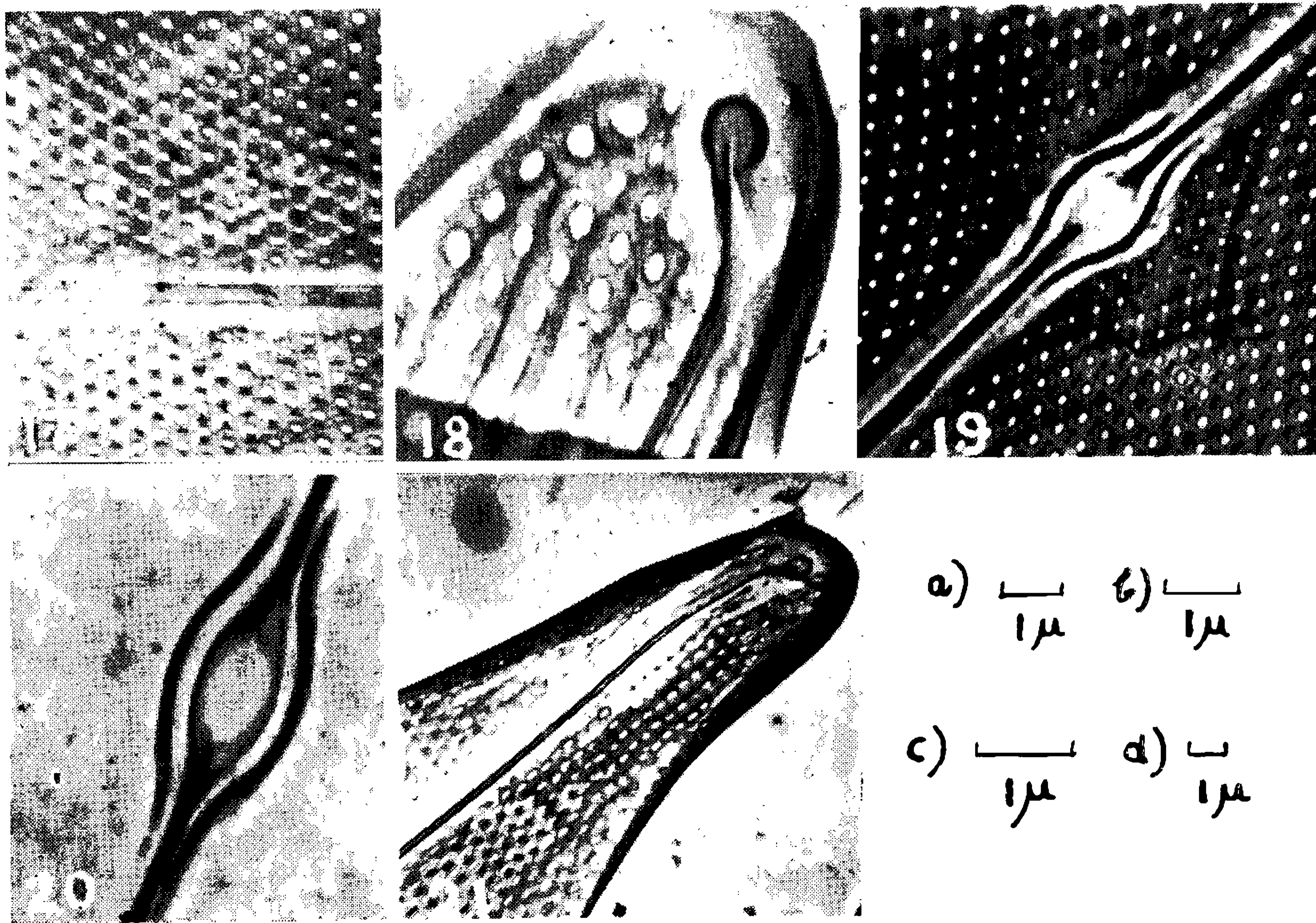
que nossas figuras mostram o plano valvar, onde chamamos pelo novo nome de “margem justa-areolar” à esta formação, que é uma faixa lisa junto à 1.^a carreira interna de botões da areolação da semivalva; isto, muito visível na fig. 2 e no desenho explicativo da fig. 6, n.º 20 e 8. Esta margem se dobra em plano perpendicular ao plano valvar, forma outra margem, a parietal, dentro do sulco rafeano, que na fig. 2 é invisível, pois está perpendicularmente e também na zona de sombra eletrônica (fig. 6, n.º 7 e 19). Na microfotografia da fig. 4 vê-se a margem parietal se dobrando e virando-se para o plano valvar, onde se dilata e passa a formar o arco circumnodular. Em redor do nódulo, há uma “expansão plana da margem justa-areolar” formando a zona lisa sem botões, sem areolações, com 2.700 $m\mu$ de largura, do lado direito e 2.200 $m\mu$ do lado esquerdo (fig. 4; fig. 6, n.º 15 e 20).

Rafe ao microscópio eletrônico com 5 linhas longitudinais (da direita para a esquerda, fig. 1) — 1.^a linha de côr clara, em iluminado, nas figs. 1 e 2; em média com 500 $m\mu$ de largura, é a “margem justa-areolar” lisa, é o rebordo inclinado no sentido do eixo pervalvar, para acima do plano valvar (n.º 8, fig. 6). Segunda linha em côr negra, é a linha de sombra eletrônica, espaço de cerca de 380 $m\mu$ de largura, é onde está redobrada e não se vê a estreita margem parietal da rafe (entre n.º 5 e 8, fig. 6). Terceira linha branca, de 480 $m\mu$ e a 4.^a linha um sombreamento negro, formam um semicilindro, um bastão axial, que constitui parte do eixo da rafe (5, fig. 6); 5.^a linha cinza, com cerca de 480 $m\mu$ de largura, assemelha-se à ruga de lado livre sinuoso, mais visível na fig. 2; pelo que pudemos apresentar como interpretação, deve ser o bordo livre da semivalva direita, que é parte envolvente (4, fig. 6). Na figura 2 aparecem, sugestionando como se deveriam encaixar, êstes lados, metade da epiteca: a direita com a esquerda; lembremos que tôda a rafe se vê apenas como uma linha, em qualquer microscópio de luz. Área medianã losangular, de 5.700 por 1.200 $m\mu$, lisa, plana na fig. 3. Duas sombras eletrônicas, negras, opacas, de disposição simétrica e longitudinal, em forma da letra T, com sua barra transversal de 300 $m\mu$, tem pontas finíssimas agudas, com 5 a 6 $m\mu$ de grossura, e 1.400 $m\mu$ de comprimento (fig. 3; fig. 6, n.º 12). Estas formações em T, intranodulares, parecem o remate do eixo, porque continuam finas, ligeiramente cinza, pela prega rafeana livre (fig. 4; n.º 6, fig. 6). Esta formação em T é uma linha opaca à microscopia eletrônica (n.º 18-a, fig. 6). Na semivalva esquerda, que interpretamos como parte envolvida, há uma margem lisa, justa-areolar, em branco na fotografia da fig. 2, que parece desencaixar da semivalva direita. Na fig. 3, vê-se que o “arco circumnodular esquerdo” não poderá ser análogamente interpretado como uma formação totalmente idêntica à do lado direito, e dêle só se vê parte. No nódulo central, na formação em T, há um rompimento da área medianã nodular, que mostra como se fôsse abrir e se desencaixar pelo meio (fig. 4), numa preparação que foi mais atacada pelo ácido fluorídrico que as outras e cuja explanação esquemática apresentamos na fig. 6, n.º 13, 13a, 13b.

Pleurosigma (Gyrosigma) aestuarii (Brébisson, 1849)

Navicula (Gyrosigma) aestuarii Brébisson, in Kuetzing, 1849: 890.
Pleurosigma aestuarii W. Smith, 1853: 65, t. 31, fig. 275.
Pleurosigma angulatum aestuarii De-Toni, 1891: 232.

Novitatis sub methodis electronicis (Microphotographiae in figs. 7-16. Diagramma in Fig. 6: D, E) — Electronicè apud HANS MUTHEM methodum: foraminibus albis, ellipticis, 263-270 millimicra longis, 177 millimicra latis; transversè 417 millimicra, longitudinaliter 454 millimicra inter se distantes. Unum quodque foramen intra hexagonalem favum, 4-lateribus tenuibus obliquè, 2-lateribus latis nigris longitudinaliter (figs. 7, 8, 9, 10, 12). Nodulo centrali subelliptico (fig. 11), 4 micra longo, 2 micra lato; area mediana plana 1.300 millimicra lata; margine 350-580 millimicra lata e 3 partibus, una cava sulcata 200-300 millimicra lata (fig. 6-E, d, d') alteram convexam (fig. E, c = 150; c' = 100 millimicra latis) et tertia plica nigra 50 millimicra lata circumdata (fig. 6: E, b, b') cum arcibus circumnodularibus electronicè opacis (fig. 14, fig. 6 E, g). Secus axin longitudinalem 2 rugas negras raphei inter utramque tertiam pars areae medianae nodularis (fig. 11). Raphe 1.300 millimicra lata (fig. 10) e sulco 3-rugatis, 3 lineis nigris



Pleurosigma thuringicum (Kuetz.) Rabenh., apresentado para comparação — Fig. 17: X 4.900, n.º 7.091; fig. 18: X 7.300, n.º 7.092; fig. 19: X 4.900, n.º 7.093; fig. 20: X 9.600, n.º 7.094; fig. 21: X 3.300, n.º 7.095. (Figs. 17 e 19: escala a); fig. 18: escala b); fig. 20: escala c); fig. 21: escala d)).

quaeque 50 millimicra latis; in fig. 12 est 1.200 millimicra latis, sulco 170 millimicra lato, cum lineis parallelis regulariter.

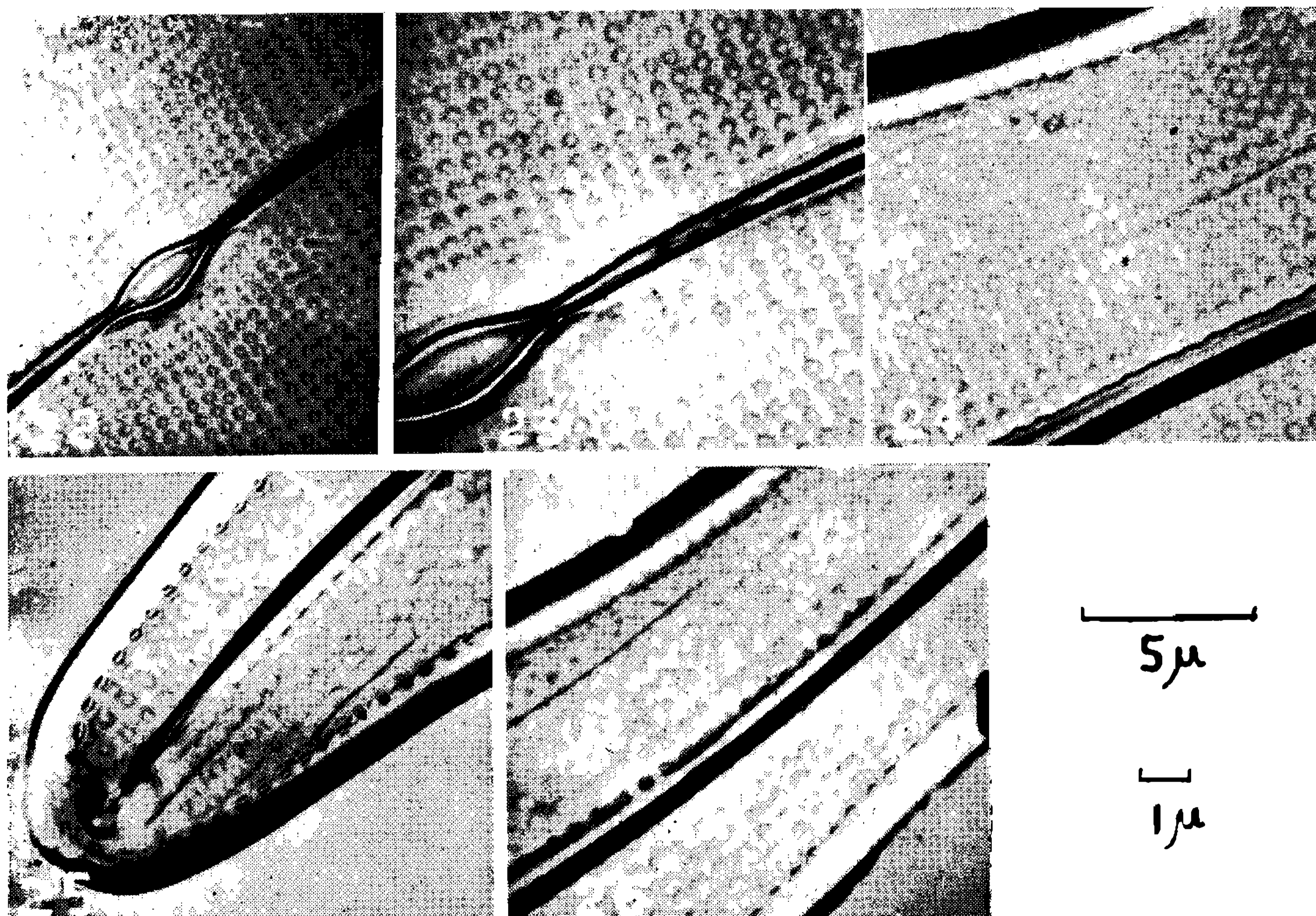
Novos dados obtidos eletronicamente — Acrescentamos às descrições ao microscópio de luz ou a outras técnicas eletrônicas, o seguinte, que encontramos pela técnica de MUTH: Furos elíticos, em branco nas figuras, de 263-270 $m\mu$ de comprimento, por 177 $m\mu$ de largura; transversalmente distam-se de 417 $m\mu$ e longitudinalmente de 454 $m\mu$. Cada um dos furos está dentro de areolado hexagonal, que forma uma colmeia, sendo os lados oblíquos finíssimos, e os 2 lados longitudinais mais fortes e em negro (figs. 7, 8, 9, 10, 12). Nódulo central subelítico, de 4.000 por 2.150 $m\mu$ (fig. 11). Área mediana plana, moldurada sinuosamente. No diagrama da fig. 6-E explicamos: b — sulco em baixo relêvo; c — ondulação em alto relêvo; d — ondulação em baixo relêvo; as larguras são, no lado esquerdo: b — 50 $m\mu$; c — 100; d — 300; e no lado direito: b' — 50; c' — 100; d' — 200 $m\mu$; e — 1.300 $m\mu$ que é a largura da área mediana plana. Na fig. 10 sobressai o sulco de 50 $m\mu$ de largura, em côr negra, circundando o nódulo, do lado direito, que bem visíveis na fig. 14, formam os 2 “arcos circumnodulares” negros, opacos, eletronicamente (g, fig. 6-E). Duas rugas longitudinais, membranosas, axiais, da rafe, entram, de cada lado, em cada 1/3 da área mediana nodular (fig. 11). Rafe com 1.300 $m\mu$ de largura (fig. 10), de sulco com 3 rugas aparecendo como 3 linhas negras de 50 $m\mu$ cada uma. Na fig. 12, rafe de 1.200 $m\mu$ tendo o sulco regularmente composto de linhas paralelas, com 170 $m\mu$ de largura (fig. 6-D).

Pleurosigma (Gyrosigma) acuminatum (Kuetzing, 1833)

Frustulia acuminata Kuetzing, 1833: fig. 39; exsiccata 84.
Pleurosigma acuminatum Grunow, 1860: 561, tab. 4, fig. 6.
Pleurosigma (Gyrosigma) acuminatum Karsten, 1928: 282.

Novitates sub methodis electronicis (Microphotographiae in figuras 22-26. Diagramma in fig. 6-G, H) — Clavi: haec serierum perpendicularium subquadratis 350 usque 400 millimicra, intervallis transversis 555-590 millimicra, longitudinalibus 450 millimicra; et — haec serierum peripheriae subretangularibus 20 x 12 millimicra, longitudinaliter 55 millimicra spatiis disjunctis in fig. 25, sed 8-10 millimicra latis in fig. 24 et 26. Semivalva dextra obvoluta (fig. 23; fig. 6-G, H) a margine cum sinu ab insertione per nodulum centalem, a umbra electronica qui est linea nigra dextra raphei et noduli, 140-200 millimicra lata. Nodulus centralis fusiformis, in semivalva obvolventi, 4.000 millimicra x 1.900 millimicra, marginatus a linea alba dextra, 230 millimicra lata, etiam ectypa raphei. Linea nigra a sinistra areae medianae 125 millimicra lata, coalita cum acu capitata 800 longa 125 millimicra lata, axiali intranodulari, faciunt lineam raphei a 250 millimicra lata (60, 61 fig. 6). Arcus circumnodularis sinister unicus 500 longo 300 milli-

mira lato, 3 umbras diviso: nigram albam et cineream, quaeque 100 millimira latam. Raphe nitida, 1.100 millimira lata, terminatione recta singula; supra dictum addite — aliam marginem 130 millimira latam, sinuatam 570 a 570 millimira ondulationibus alternis, visibilis in fig. 24. Nodus polaris litterae U-forme, apertura introrsa, 600 millimira diametri, distante 1.200 millimira ad marginem.



Pleurosigma acuminatum (Kuetz.), apresentado para comparação — Fig. 22: X 3.300, n.º 6.866; fig. 23: X 4.900, n.º 6.867; fig. 24: X 4.900, n.º 6.868; fig. 25: X 4.900, n.º 6.869; fig. 26: X 4.900, n.º 6.870. (Fig. 22: escala superior; figs. 23 a 26: escala inferior).

Novos dados obtidos eletronicamente — Chamamos de cravos ou botões eletrônicos às formações em alto relevo que provêm da modelagem dos verdadeiros furos da membrana silicosa, obtidos por nossa técnica de platinagem galvanoplástica a alto vácuo. Deixamos o nome de “perola”, “furos perolados”, “*margaritae*” para as formações visíveis à luz, e assim denominadas correntemente em microscopia ótica. Tais formações eletrônicas (vide figuras) têm as mesmas características gerais que os “botões” de *P. balticum*, mas na espécie *P. acuminatum* são enormes, alguns um pouco quadrangulados, medem 350 até 400 mμ de lado, e os chamamos de “cravos”. Dispõem-se em séries quadriláteras, que se cruzam em cerca de 90°, o que faz esta espécie cair, não só óticamente, mas também eletronicamente, no subgênero *Gyrosigma*. As séries distam-se de 555 a 580 mμ transversalmente (o que, ao microscópio de luz, mostra-se sob a aparência de estrias contínuas, em número

de 17 a 18 por $da\mu$, pois os furos perolados se unem òticamente. Não sabemos porque as séries longitudinais de nossas figuras resultaram mais apertadas, com $450 m\mu$ de intervalo, o que faz ao microscópio a aparência de 21 estrias por $da\mu$. Estas medidas longitudinais, obtidas por nós, discordam do conceito geral ao microscópio de luz, que diz e afirma: *striae longitudinales et transversales aequidistantes e striis et longitudinalibus et transversis 17-18 in decamicra*, porque achamos que ao microscópio electrônico sejam pouco mais apertadas e até em menos $95 m\mu$ para cada intervalo entre as séries. Se fôsem uns poucos intervalos, daria diferença imperceptível ao microscópio de luz, pelo menos para o microscopista normal, de acuidade visual igual a 1, pois apareceria na objetiva de imersão mais forte, em ângulo ótico de 10 segundos ($10''$) cuja visibilidade é impossível ao homem normal; ora, a diferença de 4 estrias já dá $40''$ de ângulo ótico, visível por quem tenha acuidade visual maior que 1,2; portanto, diferença já perceptível ao microscópio de luz, e mais perceptível por um ametrópico anormal, pois tal diferença é repetida e acumulada. Apesar da nossa discordância, observamos que o *P. acuminatum*, segundo VAN HEURCK, na sua est. 7, fig. 274, tem na semivalva esquerda 11 estrias transversais e 13 longitudinais, passando pelo plano nodular mediano, o que corresponde a 18 estrias transversais e 21 longitudinais; donde se concluirá que tal equidistância entre as estrias tem sua relatividade, e parece talvez seja mais teórica que pròpriamente prática.

Os botões periféricos são subretangulares, de 20 por $12 m\mu$, formam uma carreira longitudinal, sendo espaçados de $55 m\mu$, muito nítidos na fig. 25; no entanto alguns aparecem em negro nas figs. 24 e 26, onde são mais estreitados e de largura de 8 a $10 m\mu$.

Nódulo central oblongo, de 4 por $1,9 \mu$. Notar também no nódulo certa semelhança ao de *P. balticum*, com formações análogas às que chamamos, naquele, de “em forma de letra T”, não são menores aqui em *P. acuminatum* e as denominamos de “em cabeça de alfinete”, visíveis na fig. 23 e no esquema da fig. 6, n.º 61.

Na metade direita da valva (fig. 23), que é uma imagem moldada da valva direita envolvida, há uma linha negra, componente da rafe, que continua também como parede negra do nódulo, a $200 m\mu$ de grossura; esta linha negra pertence à rafe, e poderá assim ser considerada, em quaisquer dos dois casos: ou seja formação consistente e opaca à luz electrônica, ou seja um sulco ou dobra, cuja côr negra seja apenas a sombra produzida pelo feixe electrônico, com inclinação de 30° , acima e à esquerda da diatomácea. Paralela a esta linha negra, há uma linha branca, que mostra certo relêvo do eixo da rafe, mas que está do lado envolvente na metade da valva esquerda.

Área mediana nodular fusiforme, totalmente localizada na semivalva envolvente esquerda, de 3.800 por $1.200 m\mu$, delicadamente moldurada marginalmente (n.º 54, fig. 6). Notar sua parte direita moldurada, que está menos clara que a esquerda, por causa da direção do feixe de “luz electrônica” (fig. 23). À esquerda desta parte clara do eixo há

uma risca negra, que tem a extremidade dilatada em “cabeça de alfinete” e que penetra 800 m μ dentro da própria área mediana nodular. Na parte mais à esquerda do nódulo, há um único semiarco circumnodular, em forma de parêntesis, tendo 5 μ de comprimento, 300 m μ de largura e é formado de 3 partes: a 1.^a parte iluminada, a 2.^a negra, outra que está na penumbra, cinza: cada uma delas com cêrca de 100 m μ de grossura (51, 52, 53, fig. 6). Parte da rafe já está descrita quando algumas de suas formações passaram pelo nódulo, mas além disso a rafe é nítida, larga de 700 até 1.100 m μ , assimétrica, composta de 5 partes, eletronicamente, tôdas envolventes. Na fig. 23, da direita para a esquerda: 1.^o) risca negra, ou sombra, aproximadamente reta, de 140 a 200 m μ de largura, que é a sombra da semivalva envolvida, na interpretação mais provável; 2.^o) relêvo branco, que é o formador da moldura da área mediana nodular, com 230 m μ de grossura, na fig. 23, na semivalva envolvente; 3.^o) risca negra, que se bifurca, sendo uma metade dirigida à área mediana onde acaba em “cabeça de alfinete” dentro do nódulo, e a outra metade contorna, pela esquerda, a área mediana nodular; 4.^o) borda elevada branca, esquerda, que também forma a faixa branca do arco circumnodular esquerdo; 5.^o) parte muito visível na fig. 24, com 130 m μ de largura, formando uma margem ondulada, com sinuosidades de 570 em 570 m μ , de côr negra, com ligeiro rebordo branco que a separa da margem justa-areolar esquerda, junto à fila de botões longitudinais perirafeanos. A rafe se simplifica perto das pontas, terminando reta (fig. 25). Nódulo terminal incompleto, aberto semicircularmente ou em forma de letra U, de 600 m μ de diâmetro. Distância dêste nódulo terminal à margem: 1.200 m μ .

Pleurosigma (Eupleurosigma) thuringicum (Kuetzing, 1844)

Navicula thuringica Kuetzing, 1844: 102, tab. 4, fig. 27.

Navicula angulata Queckett, 1848: 438, tab. 8, figs. 4-7.

Gyrosigma thuringicum Rabenhorst, 1853: 47, tab. 5, fig. 27.

Pleurosigma angulatum W. Smith, 1853: 65, fig. 205.

Pleurosigma (Eupleurosigma) angulatum Karsten, 1929: 281.

Pleurosigma angulatum auctorum generaliter.

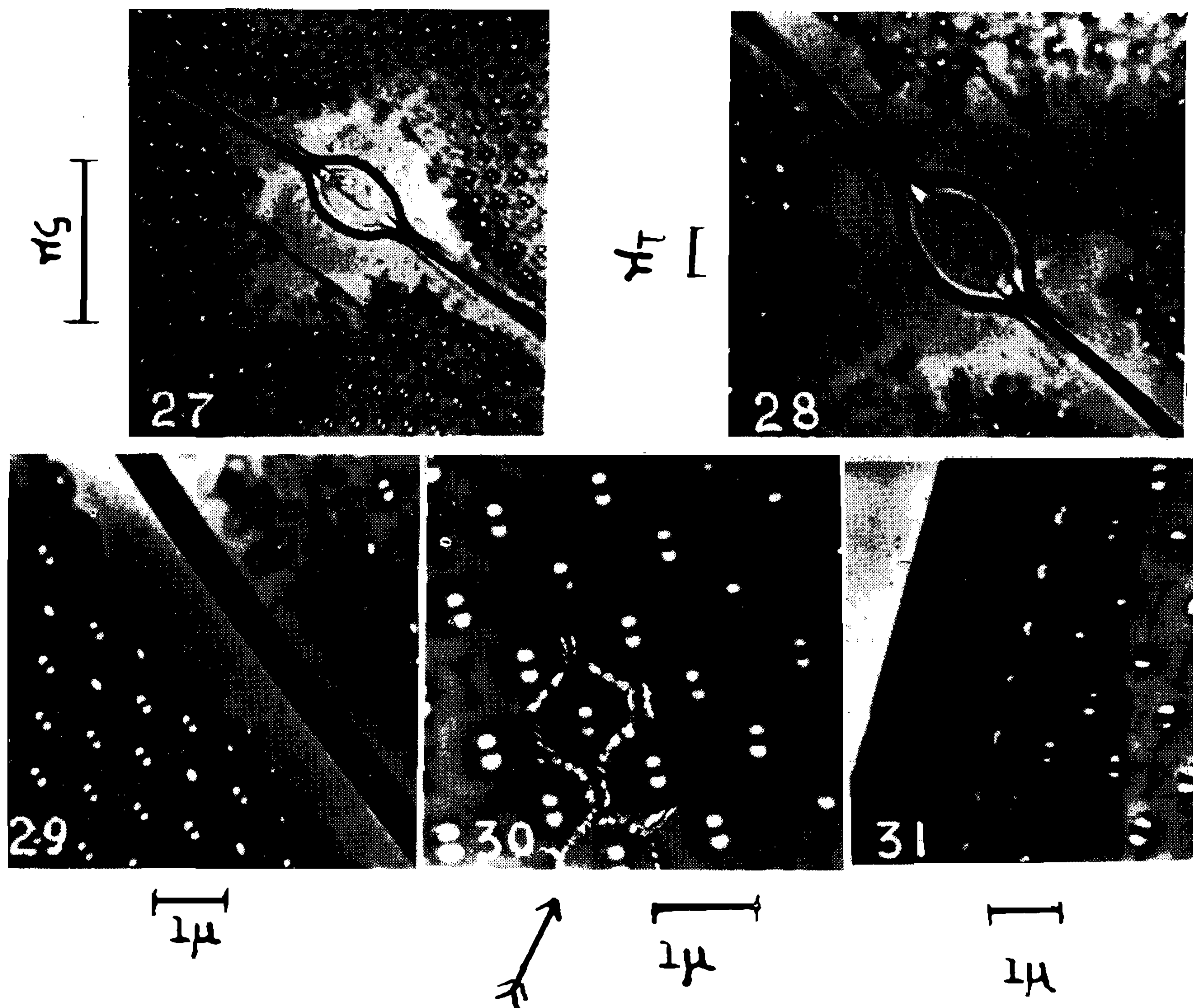
Novitates sub methodis electronicis (Microphotographiae in figuras 17-21. Diagramma in fig. 6-F; n.^o 42-50.) — Foraminibus ellipticus, albis in fig. 18, circiter 580-600 millimicra longis, 280 millimicra latis, fig. 17-21. Seriebus tam transversalibus quam longitudinalibus, 500-540 millimicra inter se distant, absque juxta raphem. Unum quodque foramen intra hexagonalem favum. Nodulo centrali oblongo fusiformi (figs. 19-20) 4 micra longo, 2 micra lato. Area mediana plana, 2.000 x 700 millimicra, ectypa (47 — fig. 6). Duobus arcibus 3.500 millimicra longis, 100 millimicra latis propter aream medianam (43, 46 fig. 6). Inter hanc aream medianam noduli et hunc arcus: fascia circumnodulare 180-220 millimicra latis. Secus axin longitudinalem: 2 sulcos umbrosos cum lineis nigris raphei, intra utranque 1/4 pars areae

medianae nodularis (fig. 19). Raphe, in marginem juxta areolarem a 1.200 millimicra lata, figs. 17-21: axi contiforme rigido, 500 millimicra lato, 3 lineis nigris 200 et 300 millimicra latis.

Novos dados obtidos eletronicamente — Não é exemplar brasileiro, mas fornecido pela Casa Zeiss, como = *Pleurosigma angulatum* (Queck.) W. Smith. Mas, com a nova técnica da deposição de platina a alto vácuo, vemos alguns aspectos que assinalaremos, por não serem percebidos por outros métodos em eletrônica. Ora, este *Pleurosigma* fica, no Sylloge Algarum, no grupo de *striae decussatae, secus 3 directiones sese intersecantes, striae omnes ferè aequaliter delicatae, striis decussatae eadem directionem in tota valvae superficie ostendendibus; 18-20 in decamicra; transversis caetera paulo confertioribus*, ao microscópio comum de luz.

Eletronicamente: furos elíticos, em branco nas figuras, em média de 580-600 $m\mu$ de comprimento por 280 de largura (figs. 17-18); são equidistantes de 500 até de 540 em 540 $m\mu$, tanto no sentido longitudinal quanto no transversal, exceto apenas muito perto da rafe. As linhas óticas virtuais que passam sobre estes, e entre os furos é que dão o aspecto, o efeito ao microscópio de luz, de 18-20 estrias por $da\mu$. Ao microscópio eletrônico (fig. 17) o aspecto decussado provém dos furos brancos serem alongados, ovóides, encarreirados em X, quincunciados, são cêrca de 10 pontos negros e 10 brancos em cada decamicra longitudinalmente, assim também como 20 transversalmente. Na fig. 19 vê-se a areolação ser feita por pontos brancos dentro de quadriculado aparente, virtual e delicado, que no canto superior esquerdo desta fig. 19, mede 0,4 em 0,4 μ : há umas linhas tenuíssimas perpendiculares à rafe. Uma série transversal tem, entre duas linhas: um furo branco seguindo um traço negro, que é como um I maiúsculo, e assim sucessivamente, o que dá aspecto virtual de areolação quadrilátera, mas que é realmente hexagonal (fig. 21). O aspecto virtual quadrilátero provém das 2 faces longitudinais dos hexágonos serem grossas, e das 4 faces oblíquas serem difícilmente perceptíveis, porque são finíssimas (visíveis na microfotografia da fig. 21, em baixo, também semelhante ao n.º 35-41 fig. 6). O nódulo que ao microscópio de luz é apenas "nódulo oblongo central" apresenta muitos detalhes nas figs. 19 e 20, em aumento de 4.900 e 9.600 vêzes, tem 4 por 2 micra; área mediana plana, de 2.000 $m\mu$ por 700, em forma de lente biconvexa, em relêvo (47 — fig. 6). Há dois arcos de 3.500 $m\mu$ de comprimento por 100 de largura, que são, digamos para comparação, em forma de dois sinais de parêntesis (43, 45, fig. 6); estes se separam da área mediana por uma faixa circumnodular de 180 a 220 $m\mu$ de largura (46-48, fig. 6). Estão lateralmente à rafe: margens justa-areolares, de largura de 1.200 $m\mu$. Faixa central rafeana, axial, composta, tem 500 $m\mu$, onde há 3 linhas mais escuras, que se separam por intervalos de 180 a 290 $m\mu$. Na fig. 19, no meio, junto ao nódulo central, a rafe aparece como um sulco mais profundo. No eixo da rafe há: 2 sulcos axiais escuros (fig. 19) e com 2 longitudinais, que entram apenas 1/4 em cada parte da área mediana nodular,

terminações análogas às “em forma de letra T”, que descrevemos no *Pleurosigma balticum*; porém, em *P. thuringicum* são muito leves, dentro da área mediana (fig. 6, n.º 49). Na fig. 18 vê-se o nódulo ter-



Pleurosigma formosum W. Sm., apresentado para comparação — Fig. 27: X 3.300, n.º 7.096; fig. 28: X 4.900, n.º 7.097; fig. 29: X 7.300, n.º 7.098; fig. 30: 10.600, n.º 7.099 (corrigir o fator aberrosópico: deformação como escala horizontal 11.900/1 para escala vertical de 10.600/1); fig. 31: X 7.300, n.º 8.000.

minal, em gancho, em côr negra, arredondado, de 800 por 700 $m\mu$, com 120 $m\mu$ de espessura. Dentro dêste nódulo terminal, ovóide, penetra um pouco o “S” da rafe, no espaço de 200 $m\mu$. A fig. 21 mostra como a rafe se dobra perto do nódulo terminal.

***Pleurosigma* (*Eupleurosigma*) *formosum* W. Smith**

Pleurosigma formosum W. Smith, 1852: 5, tab. 1, fig. 1.

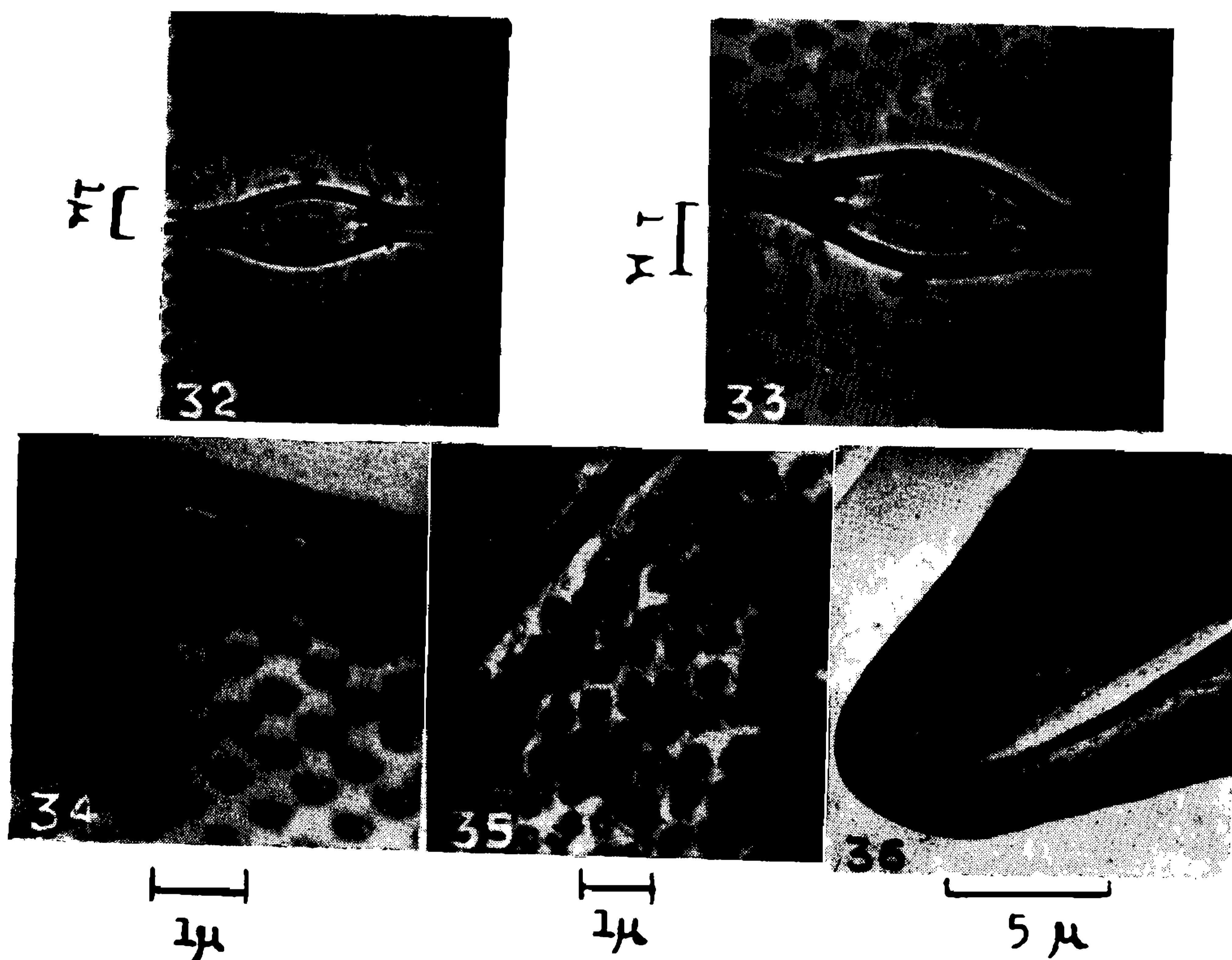
Novitates sub methodis electronicis (Microphotographiae in figuras 27-31. Diagramma in fig. 6-I.) — Clavi electronici 460 millimicra longis 50 latis, 2 foraminibus semi-ellipticus 200 millimicra longis, inter ambo fasciam transversam nigra 40 millimicra crassa. Quincuncialiter series clavorum: transversalè 666, longitudinaliter 474 millimicra inter se

distant (fig. 29). Marginem valvae distat 1.700 millimicra serie longitudinali extrema clavorum riniformium (fig. 31). Areolatio hexagonalis depressa (fig. 30) circiter 948 millimicra transverse, 822 millimicra longitudinaliter. Emendatio, in fig. 30 demonstrat: Duobus lateribus longitudinalibus 100 millimicra crassis, 400 millimicra longis, 4 lateribus tenuibus, 500 millimicra longis. De nova interpretatione: Striis transversis 14-17 in decamicra sunt lineis virtuales optices conjugendae sub microscopio communi transientes non tantum inter sed etiam per clavosve foraminesve electronicos. Arcibus circumnodularibus electronicis in fig. 28 nigris, 28-30 millimicra latis, cuspidatim decissis. Axis raphei 40 millimicra lato, contiforme, intra 40 millimicra aream medianam bifurcant. Noduli centrali area mediana elliptica plana, 2.888 millimicra x 1.700 millimicra, margine altiore 26 millimicra lata, depressione axiali bioblonda, 1.200 x 400 millimicra. Fascia plana raphei 878-1.630 millimicra lata, fig. 29, axi assymetre (dextra: 30-482; sinistra: 800-1.100 millimicra) expansione circumnodulari sublosangulari 8 x 8 micra.

Novos dados obtidos eletronicamente — Botões a dois furos (mas é preciso notar que saíram ao contrário, saíram salientes, para cima; devemos cuidar como se estivéssemos vendo de dentro da diatomácea, para fora, porque esta frústula silicosa foi destruída pelo ácido fluorídrico, apenas restou uma casquinha de platina que moldou a sua face inferior). Então, eletronicamente: botões a 2 furos geminados, como 2 grãos de café, de 460 m μ de comprimento, por 50 m μ de largura, compostos de duas semielipses de semidiâmetro de 210 m μ , separadas por uma faixa escura, transversal, de 40 m μ de grossura. Os botões eletrônicos em séries quincunciais, se distanciam transversalmente de 611 e longitudinalmente de 474 m μ (fig. 29); no entanto, a série longitudinal mais externa, formada por botões riniformes, mas não geminados, distancia-se de 1.700 m μ da margem da valva (fig. 31). Areolação hexagonal deprimida (fig. 30), com cêrca de 948 m μ de largura transversalmente e cêrca de 822 m μ de altura longitudinalmente. O retoque que fizemos na fig. 30 foi para mostrar melhor o hexágono, alargado transversalmente, de lados longitudinais fortes com 100 m μ de grossura, curtos, e com 400 m μ de comprimento, e representamos em pontilhado: quatro lados finos dêste hexágono, com 500 m μ de comprimento cada lado.

O que faz a aparência ao microscópio de luz, de estrias transversais, de 14-17 em da μ (fig. 29), são linhas que passam unindo virtualmente os espaços entre os botões geminados, com 360 m μ de grossura, cujas carreiras se distanciam de 833 a 1.000 m μ . Os intervalos entre as 10 a 12 carreiras de botões geminados, ao microscópio eletrônico, são que também vão produzir a aparência de estrias oblíquas contínuas, em número de 10-12, ao microscópio de luz. Pela fig. 27, podemos interpretar que, aquilo que faz a aparência de estrias oblíquas ao micros-

cópio de luz, se intersecando em ângulo reto, não são estrias nem sulcos, mas sim séries de furos, que na fig. 29, se distanciam de 624μ e ao microscópio de luz aparecem como se fôsem 16 estrias por $da\mu$. Nódulo (figs. 27-28) com área central elítica, de 2.888μ por 1.700 , lisa, com uma depressão bi-oblonga de 1.200 por 400μ ; sua margem exterior mais alta, regularmente elítica, com 26μ de espessura. Arcos circumnodulares eletrônicos, de cor negra, (67, 69 fig. 6), opacos ao feixe de "luz eletrônica", na fig. 28 com $29-30 \mu$ de espessura, pontas aciculares livres. Eixo da rafe disposto simetricamente em relação ao sentido apical, como bastão rígido de 40 a 50μ , que termina, dentro da área mediana, em forma de arpão bidentado, penetrando 40μ intranodularmente, (n.º 68, 72, fig. 6). Margem justa-areolar lisa, cor cinza na fig. 29, com recortes sinuosos pluricrenados irregularmente, de 878 a 1.630μ de largura; nela o eixo não fica simetricamente em relação ao plano transapical, mas deixando de 30 a 482μ de faixa pela direita, e 800 a 1.100μ pela esquerda. Esta margem se alarga muitíssimo na parte mediana, junto ao nódulo central, dando uma grande expansão sub-losangular plana, de 8 por 8μ (figs. 27 e 28).



Pleurosigma strigosum W. Sm., apresentado para comparação — Fig. 32: X 4.900, n.º 7.101; fig. 33: X 7.300, n.º 7.102; fig. 34: X 9.600, n.º 7.103; fig. 35: X 7.300, n.º 7.104; fig. 36: X 3.300, n.º 7.105.

Pleurosigma (Eupleurosigma) strigosum (W. Smith, 1852)

Pleurosigma strigosum W. Smith, 1852: 7, t. 1, fig. 6.

Pleurosigma angulatum, var. *strigosum* Van Heurck, 1899: 251, pl. 6, fig. 261.

Pleurosigma angulatum var. *strigosum* De-Toni, 1891: 233.

Novitates sub methodis electronicis (Microphotographiae in figuras 32-36. Diagramma in fig. 6-J.) — Clavi electronici similis biconvexae lentis 480 millimicra longis, 270 millimicra latis, fig. 35, poris ovatis oblongis nigris centralè transversè, 180 x 85 millimicra. Inter clavos, transversè 450, longitudinaliter 300 millimicra; series obliquas: prima 580, secunda 620 millimicra. Cuticula membranae 45 millimicra lata, nigra colorata in fig. 34, usque 40 millimicra in fig. 36. Membranula exterior alba, fig. 34, a 16 millimicra lata, figurata in cymatium, ornata a clavis transversis, intervallo 460 millimicra distantes, videtur 11 clavi in fig. 34. Nodulo centrali 5.200 millimicra x 1.800 secus axin longitudinalem symmetricum, arcibus circumnodularibus, in fig. 32, 33, nigris, 5 micra longis, 280 millimicra latis, cuspidatim decisis. Linea pretenue 7 millimicra lata, in fig. 33, inter aream medianam et ambos arcus circumnodulares. Area mediana biconvexa, 120 millimicra lata. Axis raphei niger fig. 32, 33, millimicra 20 lato, in 27 millimicra longum intranodulum; littera-Y aemulator, cuja furcula 15 millimicra lata. Depressione lentiforme intranodulare, 25 x 170 millimicra lata x longa. Raphe axi, 28-30 millimicra lato duorum surculorum unoquoque 14-15 millimicra latis (fig. 35). Nodulus terminalibus lacrimaeformibus lineolatis, 1.000 millimicra x 500 millimicra in fig. 36.

Novos dados obtidos eletronicamente — Botões eletrônicos lenticulares; com 480 m μ de comprimento, por 270 de largura, e seus pontos internos: 180 por 85 m μ . As distâncias entre estes são: transversalmente de 450 m μ , longitudinalmente de 300, e as duas direções oblíquas — uma com 580, outra com 620 m μ (que produzem a aparência, ao microscópio de luz, de estrias, sendo: transversais 22, longitudinais 33, e oblíquas 17 por da μ). Parede externa, sombreada, negra, de 45 m μ de largura, com uma cimalha ornada por botões atravessados e regularmente espaçados de 460 m μ . Vemos 11 botões em disposição transversal (fig. 34), assim como as carreiras junto a esta moldura externa são um pouco mais apertadas. O que se chama apenas de “margem muito aproximada” ao microscópio de luz, podemos medir como tendo cêrca de 45 m μ (fig. 34) ou então até 40 m μ (fig. 36). Nódulo central, no seu conjunto mede 5.200 por 1.800 m μ (fig. 33). Arcos circumnodulares (figs. 32 e 33) de 5 μ de comprimento, 280 m μ de grossura, pontas finas livres. Área mediana em lente biconvexa, espaço entre os semi-eixos da rafe 235, e largura 120 m μ . A ponta central, axial, em forma de letra Y, tem largura de 15 m μ em cada ramo negro, e no espaço claro, a parte em V desta “letra Y” tem 27-30 m μ de comprimento no sentido pervalvar, a haste tem 20 m μ de largura. Margem entre o arco circumnodular e a área mediana estreitíssima com 7 m μ

de largura (fig. 33). Depressão lenticular intranodular, cercada de negro, 25 μ de largura, comprimento 170 μ . Eixo da rafe 28 até 30 μ formando dois bastões de 14-15 μ cada um (fig. 35). Nódulo polar em lágrima, de 1 μ de comprimento por 0,5 μ de largura, riscado ao meio (fig. 36).

BIBLIOGRAFIA

- ABBÉ, E., 1882, Relations of aperture and power in the microscope. *J. microsc. News North. Microscopist*, 2: 222.
- AGARDH, C. A., 1816, *Synopsis algarum Scandinaviae, adjecta dispositione universali algarum*. 135 p., 40 ests., Officina Berlingiana, Lundae.
- AGARDH, C. A., 1823, *Species algarum rite cognitae, cum synonymis differentiis specificis et descriptionibus succintis*. 1: 531 p., 1 est. [1823]; 2: 189 p. [1828], Ernest Mauritii, Gryphiswaldiae.
- AGARDH, C. A., 1830, *Systema Algarum*. 312 p., 38 ests., Litteris Berlingianis, Lundae.
- AGARDH, C. A., 1830, *Conspectus criticus Diatomacearum*, 1-4: 66 p., Lundae.
- BODEN, B. P., 1950, Some marine plankton diatoms from the West Coast of South Africa. *Trans. R. Soc. S. Africa*, 32 (4): 321-434, 100 figs.
- BOYER, C. S., 1927, Synopsis of North American *Diatomaceae*, Part II — *Naviculatae, Surirellatae*. *Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia*, 79 (Suppl): 229-583.
- CANDEIAS, A., 1941, Estudos de plancton da Baía de Sezimbra. *Bull. Soc. Port. Sci. Nat.*, 11 (3): 11-72; *Bull. Soc. Port. Sci. Nat.*, 16 (2): 134-187, 4 ests. (1946).
- CARVALHO, J. P., 1950, O plancton do Rio Maria Rodrigues, Cananéa, I — Diatomáceas e Dinoflagelados. *Bol. Inst. Paul. Oceanogr.*, 1 (1): 27-44, fig. 1.
- CASTRACANE, F., 1886, *Report on the scientific results of the voyage of H.M.S. Challenger, during the years 1873-76. Botany — Diatomaceae*, 12 (2): 178 p., 30 ests.
- CLEVE, P. T., 1894, A synopsis of the naviculoid diatoms. *Svensk. Vet. Akad. Handl.*, 26 (2): 1-194, ests. 1-5.
- CLEVE, P. T., 1895, A synopsis of the naviculoid diatoms. *Svensk. Vet. Akad. Handl.*, 27 (3): 1-219, ests. 1-4.
- CLEVE, P. T. & GRUNOW, A., 1880, Beitrage zur Kenntniss der artischen Diatomeen. *Svensk. Vet. Akad. Handl.*, 17 (2): 1-121, 7 ests.
- CONGER, P. S., 1954, Present status of Diatoms studies in the Gulf of Mexico. *U. S. Fish. Bull.*, 89 (55): 227-232.
- CORDA, A. J., 1835, Observations sur les animalcules microscopiques qu'on trouve auprès des eaux thermales de Carlsbad. *Almanach de Carlsbad*: 167-211, 6 ests.
- CUNHA, A. M. & FONSECA, O., 1918, Microplancton das costas meridionais do Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 10 (2): 1-7.
- CUPP, E. E. & ALLEN, W. E., 1939, Plankton diatoms of the Gulf of California obtained by Allan Hancock Pacific Expedition, of 1937. *Univ. S. California Publ. Allan Hancock Pacific Exp.*, 3 (5): 61-74, ests. 4-15.
- DAVIS, C., 1950, Observations of plankton, in 1947-48, taken in marine waters of Florida. *Quart. J. Florida Acad. Sci.*, 12 (2): 67-103.
- DEBY, J., 1878, Synonymie des diatomées décrites dans le "Conspectus Criticus Diatomacearum" de C. A. Agardh. *Bull. Soc. Belg. Microsc.*, 4: 162-170.
- DEBY, J., 1891, Bibliotheca diatomologica, seu catalogus librorum et collectionem exciccatorum *Bacillareas*. In DE-TONI *Sylloge Algarum*, 2 (1): 1-132.

- DE-TONI, G. B., 1888, Commentarium phycologicum. *Notarisia*, 3: 608-626.
- DE-TONI, G. B., 1891, *Bacillariae (Raphidae)*. In *Sylloge algarum*, 2 (1): 490 p., Edit. Auctoris. Typis Seminarii; Patavii.
- DONKIN, A. S., 1871, *The Natural History of the British Diatomaceae*. 74 p., 12 ests., 105 figs.
- DUSCHESNE, L., 1890, Étude microphotographique des perles du *Pleurosigma angulatum*. *Diatomiste*, Paris, 1 (3): 27-30, est. 6, figs. 1-2; est. 7, figs. 1-3.
- EHRENBERG, C. G., 1828, Symbolae physicae seu icones et descriptiones animalium evertibratorum sepositis insectis. *Diatomaceae* in a-f, seção *Phytozoa*. 3 ests. (Não há numeração de páginas).
- EHRENBERG, C. G., 1838, *Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen*. 548 p., 65 ests., Leopold Voss, Leipzig.
- EHRENBERG, C. G., 1841, Verbreitung und einfluss der microscopischen lebens in Sued- und in Nord- Amerika. *Phys. Abdh. Akad. Wiss. Berlin*, 291-446, ests. 1-4 (revisto, com extratos por BAILEY, J. N., *Amer. J. Sci.*, 46: 297-313 [1844]).
- FARIA, G. & CUNHA, A. M., 1917, O microplankton da Baía do Rio de Janeiro, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 9 (1): 69-92.
- FIRTH, W. A. & SWASTON, W., 1888, References to Diatomaceous deposits at Lough Mourne. *Proc. Belfast Nat. Field*, 3 (2): 2-62.
- FRENGUELLI, J., 1938, XII contribucion al conocimiento de las diatomeas argentinas. Diatomeas de la Baia de San Blas. *Rev. Mus. La Plata*, n.s., Botanica: 251-337, est. 7.
- GRAN, H. H., 1905, *Nordisches Plankton, Diatomaceae*, 19: 1-146, 178 figs., Edit. Brandt, K. & Apstein, C., Kiel.
- GRIFFITH, J. W., HENFREY, A. & BERKELEY, J., 1875, The micrographic dictionary, a guide to the examination and investigation of the structures and nature of microscope objects. *Diatomaceae*: 235-247, ests. 11-14; 19; 41-53. John van Voorst, London.
- GRUNOW, A., 1860, Ueber neue oder ungenuegend bekannte algen; erste Folge: Diatomaceen, Familie Naviculaceen. *Verh. Zool. Bot. Ges. Wien.*, 10: 503-582, ests. 3-7.
- GRUNOW, A., 1862, Die oestereichischen Diatomaceen. *Verh. Zool. Bot. Ges. Wien.*, 12: 315-472; 545-585; ests. 3-7, 13.
- HABIRSHAW, F., 1877, *Catalogue of Diatomaceae*, with references to the various published descriptions and figures; reproduced by the Edison Pen Process. 272 p., New York.
- HASSAL, A. H., 1845, A history of the British freshwater algae, including descriptions of *Desmidiaceae* and *Diatomaceae*. 1: 395-439; 2: 21-24, ests. 93-102.
- HELMKE, J. C. & KRIEGER, W., 1954, *Diatomeenschalen im Elektronenmikroskopischen Bild*. Atlas, 58 ests. Wilmersdorf, Berlin.
- HENDEY, N. I., 1937, The plankton Diatoms of Southern Seas. *Discovery Rep.*, 16: 151-364.
- HEURCK, H. VAN, 1880, *Synopsis des Diatomées de Belgique*. 355 p., Edit. l'auteur, Anvers.
- HEURCK, H. VAN, 1885, *Atlas du Synopsis des Diatomées de Belgique*. 132 ests., Edit. l'auteur, Anvers.
- HEURCK, H. VAN, 1889, *Traité des Diatomées*. 572 p., 2.000 figs. Edité au frais de l'auteur, Anvers, Belgique.
- HUSTEDT, F., 1927, *Die Kielsenalgen*. In Rabenhorst, *Kryptogamenfl.*, 7 (14).
- HUSTEDT, F., 1930, *Bacillariophyta, Diatomeae*. In Pascher, A., *Suesswasserflora Mitteleuropas*, 10: 466 p. Fisher, Jena.

- JANISCH, C. & RABENHORST, L., 1862, Ueber Meeres-Diatomaceen von Honduras. In Rabenhorst, *Beitraege zur naeheren Kenntniss und Verbreitung der Algen*, 1 (1).
- JOHNSTON, C., 1860, Descriptions of *Diatomaceae*, chiefly of those found in "Elide" Lower California guano. *Quart. J. Micr. Sci.*, 8: 11-21.
- KARSTEN, G., 1899, Diatomeen der Kieler Bucht. *Wiss. Meeres Untersuch.*, 4 (3): 70-197.
- KARSTEN, G., 1905, Das Phytoplankton des Atlantischen Ozeans, nach dem Material der Dtsch. Tiefsee Expedition. *Wiss. Ergebn. Dtsch. Tiefs. Expd. Valdivia*, 2 (2): 140-220.
- KARSTEN, G., 1908, Das Phytoplankton des Antarktischen Meeres. *Wiss. Ergebn. Dtsch. Tiefs. Expd. Valdivia*, 2 (2): 136.
- KARSTEN, G., 1928, *Bacillariophyta (Diatomeae)*. In Die Natürlichen Pflanzenfamilien, A. Engler & K. Prantl., 2 (2): 105-303, figs. 93-424.
- KUETZING, F. T., 1833, Synopsis Diatomacearum. *Linnaea*, 8: 529-620, ests. 13-19.
- KUETZING, F. T., 1844, *Die Kieselschaligen Bacillarien oder Diatomeen*. 152 p., 29 ests., W. Koehne, Nordhausen.
- KUETZING, F. T., 1849, *Species algarum*. 922 p. Brockhaus, Lipsiae.
- LAPORTE, L. J. & LEFÉBURE, P., 1930, *Diatomées rares et curieuses*. 30 ests., 220 figs. Atlas. Lechevalier, Paris.
- LEFÉBURE, P., 1947, *Atlas pour la détermination des Diatomées*. 31 ests. P. Lechevalier, Paris.
- LYNGBIE, H., 1819, *Tentamen hydrophytologiae danicae*, continens omnia hydrophyta cryptogama Daniae, Holsatiae, Feroae, Islandiae, Groenlandiae, hujusquae cognita, systematicè disposita, descripta et iconibus illustrata, adjectis simul speciebus norvegicis. 248 p., 70 ests. Typis Schultzianis.
- MANN, A., 1907, Report of the Diatoms of the Albatross Voyages during the years 1888-1904, in the Pacific Ocean. *Contrib. U. S. Nat. Herbarium*, 10 (5): 221-442, ests. 44-54.
- MANN, A., 1925, Marine Diatoms of the Phillipines Islands. *U. S. Nat. Mus. Bull.*, 100 (6): 1-182, 39 ests.
- MEUNIER, A., 1913, Microplancton de la Mer Flammande, 1.^{er} partie. *Mem. Mus. R. Hist. Nat. Belgique*, 3: 1-55.
- MEUNIER, A., 1915, Microplancton de la Mer Flammande, 2.^{eme} partie. *Mem. Mus. R. Hist. Nat. Belgique*, 7: 78.
- MILLS, F. W., 1933, *An Index to the Genera and Species of the Diatomaceae from 1816-1932, and their synonyms*, 3 vols., London.
- MUELLER-MELCHERS, F. C., 1949, Los "Chaetoceros" de Atlantida, Uruguay. *Lilloa*, 19: 161-169.
- MUELLER-MELCHERS, F. C., 1951, *Actinoptychus frenguelli*, n. sp. *Physis*, 20 (58): 320, 1 est.
- MUELLER-MELCHERS, F. C., 1955, Las Diatomeas del Plancton marino de las costas del Brasil. *Bol. Inst. Oceanogr.*, 6 (1): 93-138, ests. 1, 2.
- MUELLER-MELCHERS, F. C. & FERRANDO, H., 1956, Técnica para el estudio de las diatómeas. *Bol. Inst. Oceanogr.*, 7 (1, 2): 151-160.
- OLIVEIRA, L. P. H., 1959, Limnologische Notizen ueber die Rio de Janeiro Lagunen, *Arch. Hydrobiol.*, 55 (2): 254.
- PERAGALLO, H., 1893, Monographie du genre *Pleurosigma* et des genres alliés. *Diatomiste*, 2 (5): 17-35, ests. 6-10.
- PERAGALLO, H., 1893, Monographie du genre *Pleurosigma* et des genres alliés. *Diatomiste*, 2 (5): 17-35, ests. 6-10.
- PERAGALLO, H. & PERAGALLO, M., 1897, *Les diatomées marins de France*. 137 ests. Paris.

- PRINGSHEIM, E. G., 1946, *Pure cultures of Algae, their preparation and maintenance*. Cambridge.
- PRITCHARD, A., 1861, *A History of Infusoria*, living and fossil, arranged according the "Die Infusionsthierchen of C. G. Ehrenberg", containing coloured engravings illustrative of all genera and descriptions of all species in that work, with several new ones. 968 p., 40 ests., London.
- QUEKETT, J., 1848, *A practical treatise of the microscope*. London (* não visto).
- RABENHORST, L., 1853, *Die Suesswasser Diatomaceen*, fuer Freunde der Mikroskopie. 72 p., 10 ests., Berlin.
- RABENHORST, L., 1863, Diatomaceen. In *Kryptogamen-Flora*, 1: 1-56, Leipzig.
- RABENHORST, L., 1864, *Diatomaceae*, In *Flora Europea Algarum*, 1 (1): 359 p. Edit. Eduard Kemmerum, Lipsiae.
- REINHARD, L., 1882, Zur Kenntniss der Bacillariaceen des Weissen Meeres. *Bull. Soc. Imp. Nat. Moscou*, p. 297.
- SCHMIDT, A., 1874-1906, *Atlas des Diatomaceenkunde*, 67 vols., ests. 1-268, Reisland, Leipzig.
- SCHOENFELDT, H., 1907, *Diatomaceae Germaniae*. 263 p., 19 ests., 466 figs., W. Junk, Berlin.
- SCHOENFELDT, H. 1913, *Bacillariales*. In: Pascher, *Die Sueswasser Flora Deutschlands*, 10: 187 p., 379 figs., Jena.
- SKWORTZOW, B. W., 1929, Marine Diatoms from Dairen, South Mandchuria. *Philip. J. Sci.*, 38: 419-430, ests. 1-2.
- SMITH, W., 1852, Notes on the *Diatomaceae* with descriptions of British species, including the genus *Pleurosigma*. *Ann. Mag. Nat. Hist.*, 9 (2): 1-12, ests. 1-2.
- SMITH, W., 1853-1856, *A synopsis of the British Diatomaceae*, 1: 89 p., 31 ests., [1853]: 2: 107 p., ests. 32-42. [1856]. Smith & Beck. London.
- TEMPÈRE, J. & PERAGALLO, M., 1894, *Diatomées du monde entier*. 350 p., J. Tempère, Paris.
- TRUAN, A., 1885, Ensayo sobre las sinopsis de las Diatomeas de Asturias. *An. Soc. Esp. Hist. Nat.* 13: 307-364, ests. 7-10.
- WALLICH, G. C., 1860, On the marking of *Diatomaceae* in common use as test object. *Ann. Mag. Nat. Hist.*, 10 (3): 122.
- WARD, H. B. & WHIPPLE, G. C., 1918, *Fresh Water Biology*. 1.111 p., 1.547 figs., J. Wiley & Sons., New York.
- ZIMMERMANN, C., 1916, Contribuição para o estudo das diatomáceas dos Estados Unidos do Brasil. *Broteria (Ser. Bot.)*, 13: 124-146.