

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo XXV

Novembro — 1931

Fasciculo 4

Pesquizas sobre *Phytomonas francai* (*)

pelo

DR. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO

(*Chefe de Serviço*)

(Com as estampas LXXV—LXXVI).

Em trabalhos anteriores já nos ocupamos deste interessante flagelado do nosso aipim (*Manihot palmata*) e que encontramos no *latex* de uma variedade existente no horto do Instituto Oswaldo Cruz ¹. Agora vamos apresentar o resultado das pesquisas feitas com o fim de conseguir culturas e obter a infecção de plantas indenes com este *Phytomonas*.

Os meios a que primeiro recorreremos para obter as desejadas culturas foram os mais comumente usados para *trypanozomas*, *leishmanias* e flagelados de plantas. Assim usamos sucessivamente o de Novy e Mac Neal, o de Noeller, o classico N. N. N. todos com sangue de coelho e os meios semi-solidos manipulados, com tanto sucesso, por Noguchi para os mais variados flagelados inclusive os fitofilos. Taes meios foram semeados com *latex* de aipins infectados, colhido asseticamente e em todos eles foi possivel obter um começo de multiplicação dos parasitos que neles

(*) Recebido para publicação a 30 de Maio de 1931.

¹ Aragão H. B.—Sur un flagellé du latex de *Manihot palmata* : *Phytomonas Françai* n. sp. C. R. Soc. Biologie, vol, 97, n. 27, 1927.

Aragão, H. B.—Uber *Phytomonas Françai*. Abhandlungen aus dem Gebiete der Auslandskunde. Hamburgsche Universität, Bd. 26, Reihe D. Medizin, Bd. 2, Festschrift Prof. B. Nocht.

permaneciam vivos, cerca de um mês, mas desapareciam depois desse prazo e não davam culturas quando transplantados.

Diante do insucesso pensamos na possibilidade de ser necessário, para obter um resultado positivo, colocar nos meios acima, pequenos fragmentos de raízes de aipim e a seguir depositar sobre eles o *latex* infectado na esperança de que esses pontos pudessem se tornar núcleos de formação de cultura. Ainda assim não obtivemos o resultado esperado.

Resolvemos então experimentar novamente com meio de Noeller porém substituindo nele o sangue de coelho pelo humano nas mesmas proporções e que já fôra usado por Migone, para cultura de outras espécies de flagelados do gênero *Phytomonas*, por ele estudados.

Este meio mostrou-se lógico mais favorável, que os anteriormente usados, ocorrendo nele uma proliferação mais ativa dos parasitos que se apresentavam bastante móveis, isolados ou unidos longitudinalmente em grupos de 4 a 6 indivíduos e, às vezes, mais. As culturas porém não se tornaram muito abundantes, mas esperavamos que com as repicagens e, se habituando o flagelado ao meio, afinal se tornassem abundantes como, de regra, sucede aos *Phytomonas* nos meios aos quais se habituam. Tal resultado porém não veio corôar nossas esperanças, e embora conseguíssemos manter por 2 a 3 meses essas culturas no meio em questão fazendo 10 a 12 repicagens, nunca elas se tornaram muito abundantes e com a vitalidade perfeita através dessas passagens. Afinal porém as culturas sempre se extinguíram sem que pudessemos apurar a causa.

Nas culturas predominam as formas longas do parasito com o aspecto de *Leptomonas* cujo corpo mede em geral de 10 a 25 micra de comprimento por 2 a 3 micra de largura; o flagelo têm 5 a 8 micra de comprimento.

Encontram-se frequentemente formas em divisão binária provando a multiplicação do parasito no meio e não raro elas aparecem em grupos de 4 a 6 elementos acolados uns aos outros e dotados de vivos movimentos. Nas preparações fixadas e coradas pelo Giemsa estes parasitos apertam um protoplasma finamente alveolar corado em azul e o núcleo, o blefaroplasto, o corpusculo basal e o flagelo tomam um colorido vermelho mais ou menos intenso.

Em suma foi possível obter no meio de Noeller feito com sangue humano o desenvolvimento de culturas pouco abundantes do *Phytomonas françai* através de 12 passagens e durante cerca de 2 a 3 meses. Nunca porém elas se tornaram abundantes nem foram muito duradouras como acontece as dos demais *Phytomonas* conhecidos. São necessárias portanto novas pesquisas para se estabelecerem as condições ótimas para o desenvolvimento do flagelado nos meios artificiais de cultura.

Além destas tentativas de cultura do *Phytomonas françai* procuramos obter a inoculação do parasito de uma planta a outra por diversos metodos. Os primeiros ensaios tiveram logar fazendo-se um pequeno entalhe num ramo novo de aipim e nele depositando uma gota do *latex* de um aipim infectado. Tambem usamos a tecnica de depositar uma gota de *latex* sobre a superficie da secção de um broto novo da planta aí deixando o material infectado até que o *latex* secasse. Estas experiencias, feitas repetidas vêses não nos deram o resultado desejado no sentido de conseguir a infecção de um *Manihot palmata* são, inoculando-o com o *latex* de uma planta contendo *Phytomonas*.

Em face do insucesso destas experiencias resolvemos experimentar recorrendo a enxertia e de preferencia por encosto entre uma planta doente e uma sã. E' muito facil fazer uma tal especie de enxerto entre exemplares de *Manihot palmata*. Para isto enterram-se em vasos separados ou num mesmo vaso duas hastes de aipim e quando os brôtos atingem um certo desenvolvimento corta-se uma lasca longitudinal e proximamente igual em cada um deles; em seguida aproximam-se superficies assim entalhadas uma da outra até se justaporem completamente. Esta justaposição é mantida envolvendo as duas hastes em uma tira de pano ou em barbante. Deixam-se as plantas assim ligadas por uns 12 a 15 dias, tempo necessario para que as hastes se soldem uma a outra. Geralmente ao cabo de 10 dias se observa que a infecção pelo flagelado propagou-se de uma planta a outra, pois o *latex* da planta que estava sã começa a apresentar alguns *Phytomonas*. Corta-se então a haste sã ou a doente antes da parte enxertada, e as duas plantas continuam a se desenvolver perfeitamente confirmando o resultado do encosto nelas feito. A infecção se transmitiu perfeitamente por este modo não só entre exemplares da mesma especie de aipim (*Manihot palmata*) como a diversas variedades da mesma especie e ainda a uma especie diferente a mandioca (*Manihot utilissima*) conforme tivemos occasião de verificar no decurso destas pesquisas.

As plantas infectadas não mostraram diferença das sãs o que prova a inocuidade do *Phytomonas françai* para elas embora as infecções fossem as vezes bastante abundantes. Nas estampas LXXV e LXXVI apresentamos 2 fotografias de enxertos de plantas sãs e doentes, após a soldadura das hastes e secção de uma delas.

Em relação a transmissão da infecção de planta a planta por intermedio de um hospedeiro intermediario a molde do que sucede com outras especies de *Phytomonas* nada adiantaram até agora nossas pesquisas. Ainda não encontramos nenhum inseto que possa ser incriminado de pagar a infecção nos aipins. As plantações de aipim infectados mantidas

por muitos meses ao lado de plantas sãs nunca deram logar a propagação da infecção de umas plantas as outras. Pesquisas anteriormente feitas em Manguinhos com hemipteros sugadores de plantas pertencentes as familias *Pyrrhocoridae*, *Miridae* e *Pentatomidae* falharam até agora. Tudo isto leva a crêr que o inseto transmissor seja de outra zona e falte em Manguinhos. Esta hipotese é plausivel porquanto os aipins e mandiocas são plantados por meio de fragmentos das hastes da planta os quaes ás vezes vem de pontos muito distantes. Nós supomos que os exemplares infectados que existem no Instituto Oswaldo Cruz tenham vindo de localidade onde existe o inseto transmissor o qual porém aqui não se encontrando esta a causa de permanecer obscuro até agora o modo de propagação natural da molestia de planta a planta. Torna-se portanto necessario ampliar a pesquisa do flagelado ao *latex* de aipins de outras zonas assim como estudar os insetos fitofagos que lhes são peculiares de modo a se poder obter esclarecimento a respeito do modo de transmissão da infecção de uma planta a outra.

São estes os resultados que alcançamos até este momento a respeito de culturas e propagação do *Phytomonas françai*.

Rio, 30-5-31.
