

BRAGANTIA

Boletim Técnico da Divisão de Experimentação e Pesquisas
INSTITUTO AGRONÔMICO

Vol. 3

Campinas, Agosto de 1943

N.º 8

TÉCNICA DE CORTES À MÃO LIVRE

A. P. Viégas

Em micologia, os cortes à mão livre, por serem expeditos e pouco dispendiosos, são de grande auxílio no estudo dos fungos em geral.

Com uns poucos apetrechos, de fácil obtenção no comércio, e certa dose de prática, pode-se fazer estudo bem razoável dum organismo no momento da colheita (estudo do material fresco), ou depois de sêco (estudo de espécimes de herbário).

Os textos de microtécnica, quer clássico (6), quer mais modernos (1, 2, 4, 5), nem sempre cuidaram de dar explicações detalhadas do processo, talvez por julgá-lo não muito científico.

Estamos de acôrdo que, para se estudar convenientemente um fungo, afora outros numerosos recursos de que se lança mão, não se pode prescindir do exame de material no estado fresco. O micrótomo de congelação seria um grande auxílio, mas nem sempre, por maiores que sejam as precauções tomadas, poderemos contar com êle em certas ocasiões. No campo, valendo-se de microscópio portátil, os cortes à mão livre são os únicos de que poderemos dispor. Na pesquisa dos himenomicetos, secções feitas à navalha comum são talvez as mais úteis como já havia observado Buller, autor dos **Researches on fungi**. A mania dos cortes seriados foi responsável por atraso no concernente à interpretação dos vários tipos de **basídias**. Essas estruturas, por demais delicadas, deformam-se, rompem-se, perdem-se durante o preparo das lâminas.

Por outro lado, o processo tem suas desvantagens que não vamos enumerar. O importante é reunir proveitos de tôdas as técnicas disponíveis, a-fim-de podermos estudar um fungo qualquer, sob tôdas as facetas possíveis.

Os apetrechos necessários para a técnica dos cortes à mão livre são os ilustrados na estampa I.

Em (Est. I, a) temos a navalha. Há tipos especiais de navalhas para cortes, que trazem uma das faces planas. No geral, essas navalhas são pesadas demais, desajeitadas. Preferimos usar as comuns, empregadas pelos barbeiros.

Deve-se procurar uma de aço bom. Reconhece-se uma boa navalha ao passá-la na pedra de afiar. Escolhida uma (preferir sempre a de cabo de osso ou baquelite), o segredo todo na técnica do corte reside no **fio** do instrumento. Trazer sempre a navalha bem afiada é coisa um tanto magante, porque amolar e afiar são operações bem cacetes, exigindo paciência e boa vontade.

Vejamos rapidamente o modo de se amolar e afiar a navalha. A pedra de amolar deve ser grande: 25x6 cm mais ou menos, trazendo duas faces bem planas, uma amarelada de granulação um tanto grossa, e outra chocolate, de granulação fina. Começa-se por limpar cuidadosamente a face amarelada da pedra, umedecendo-a com água e sabão, ou mesmo óleo de máquina.

Ao passar a navalha sobre a pedra, observar:

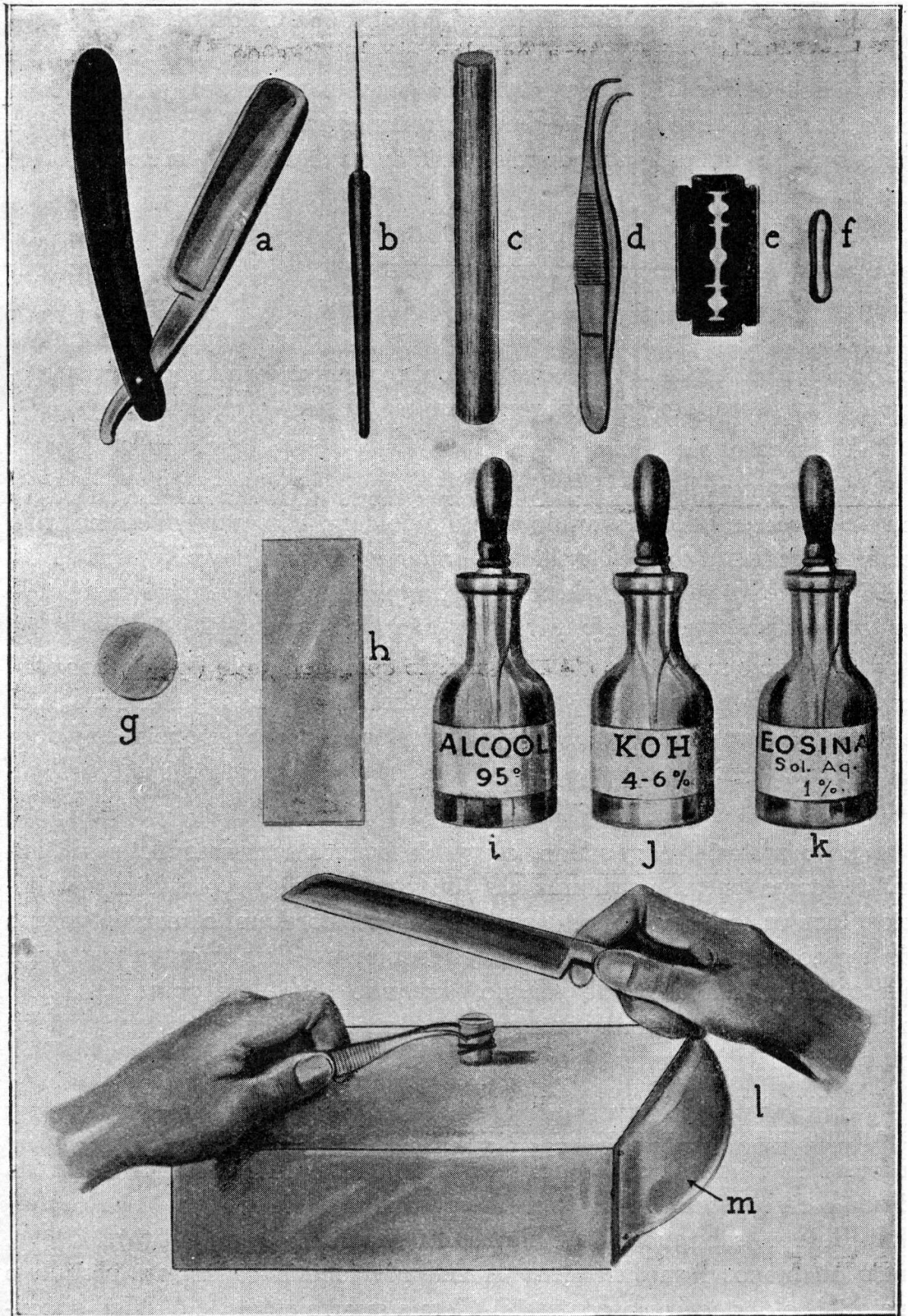
- a) a costa e o corte devem apoiar-se sobre o plano da pedra;
- b) o corte deve fazer um ângulo de 45°, mais ou menos, com a aresta mais longa da pedra;
- c) o corte deve ir **contra** a pedra, nunca a favor;
- d) não aplicar força ao amolar. Usar apenas o "pêso da mão", em movimentos firmes, compassados.

Depois desta primeira operação, examiná-la sob a lupa ou lente de bolso de 14 diâmetros, a-fim-de verificar se há uniformidade ao longo de todo o corte. A seguir, passá-la sobre a face chocolate, tomando os mesmos cuidados acima apontados. Terminada esta operação, ambas as faces do corte ou fio deverão estar finamente "riscadas". Estes riscos não saem a não ser pelo afiar.

Para se **afiar**, emprega-se couro untado com esmeril. Há vários números de esmeris, uns mais grossos outros mais finos. O melhor é procurar uma série de granulação decrescente, adaptada à da pedra de que se dispõe.

No processo de afiar, sobre o couro esmerilhado o corte da navalha tem que correr a **favor** do couro, está claro. Em todos os couros, aplicar força dos braços. O último couro será **liso**, isto é, sem esmeril. Uma navalha assim afiada deverá apresentar ambas as faces do corte brilhantes e lisas, um **fio** uniforme, retilíneo, quando examinados sob lupa.

Est. I



ou lente de bolso. Há vários testes para se verificar se ela se acha bem afiada.

Um bom processo é o do fio de cabelo, conhecido de todos. Uma vez bem afiada, conservar a navalha em lugar sêco. Evitar tocar na âmina com os dedos. Tôda vez que não nos utilizarmos dela, por períodos mais longos de que semana, para bem conservá-la, deveremos passá-la no couro liso, untando-a ao depois com óleo ou vaselina antes de guardá-la em lugar sêco.

As agulhas (Est. I fig. b) deverão trazer cabo de osso ou madeira, e a ponta feita de bom aço. É conveniente ter-se pelo menos um par de agulhas bem pontudas e lisas. Consegue-se isto, primeiro limando a ponta e, a seguir, passando-a sôbre pedras ou lixas. Uma agulha áspera ou defeituosa tende a prender os cortes, aborrecendo-nos constantemente, na hora de os remover para a lâmina.

Vejamos agora o que temos a dizer a respeito dos cortes.

Se o material é grande, como, por ex.: o piléo duma agaricácea ou poliporácea, basta segurá-lo com a mão esquerda, passando a navalha com a direita. É de boa prática inundar a face da navalha com álcool a 95° (42 cartier), antes de fazer o corte. O álcool remove bolhas de ar e umidade, facilitando a penetração dos corantes.

Quando o material pode ser dobrado com facilidade (fôlhas, por ex.), os cortes podem ser feitos sem outro cuidado que o de segurar o material entre o polegar e indicador, a face inferior da navalha apoiando sôbre êste último dedo que servirá de guia, e depois de certa prática, de regulador de espessura dos cortes.

Se o material é pequeno, ou se desejamos cortar espécimes diminutos, como certas estruturas de fungos (acérvulos, picnídios, peritécios, lóculos, estromas, etc.), basta destacar, com um canivete, porção do tecido contendo o que se deseja seccionar. Êsse fragmento deverá ser colocado em vidro de relógio, juntando sôbre êle gotas de álcool a 95° e após alguns minutos, água destilada. À seguir, com agulha ou pinça coloca-se o material entre 2 meios cilindros de medula.

A medula que vínhamos usando até hoje, era a de sabugueiro. Esta é a mais usada. Aparentemente importamo-la do estrangeiro. Vem sob a forma de cilindros de 10 cm de comprimento, e de diâmetro variando desde o da grossura de um lapis até 10 mm mais ou menos. (Est. I fig. c) A medula de sabugueiro é estraida de *Sambucus nigra* L. (2). É leve, mais ou menos firme, branca. A sua côr facilita os cortes, porque o material se destaca pelo contraste. Com a guerra atual, já é difícil encon-

trar-se medula de sabugueiro, no mercado. Por isso vimos usando, com grande economia, medula de **guapuruvú** (*Schizolobium excelsum* Vog.) também chamado **árvore da fichinha**, pelas crianças.

Um pé de guapuruvú com 3-4 metros de altura, fornece, em seus pecíolos, medula de côr pardacenta, firme, ótima para cortes à mão livre. De um único pé, com 2 para 3 anos de idade obtivemos estoque de medula para muitos anos. À medida que a planta cresce, menores se tornam os pecíolos, os quais são caducos. Basta deixar que o vegetal vá crescendo e, de tempo a tempo, traz-se braçada de pecíolos caídos. Boa época para colheita é no inverno, quando os pecíolos secam normal e longamente. A medula, então, é de qualidade superior. Dos pecíolos mais novos, grossos, a medula alcança 10 mm ou mais de diâmetro, depois de trabalhada. Temos feito estoque de medula, conservando apenas as bases e porções medianas dêstes órgãos. Rejeitamos as pontas. Assim é fácil reuní-los em feixes, os quais, depois de irem para o secador, são preservados com paradiclorobenzênio e naftalina, em latas fechadas de querosene. Quando se necessita de medula, basta remover a "casca" com um canivete e depois passar os pedaços sôbre uma fôlha de lixa, para dar-lhes melhor aparência.

Usamos pedaços de medula de mais ou menos 15 mm de alto, cortados ao meio, ao longo do maior eixo, com lâmina gilete (Est. I fig. e). Entre os dois meio-cilindros vai o material. A seguir, passamos um anel de borracha (Castell n.º 8) (Est. I fig. f) ou mesmo nacional de igual tamanho, o qual prende o material umedecido e amolecido pela água.

Sob a lupa, segurando com a mão esquerda, por meio de uma pinça fincada nos flancos do cilindro refeito, fazemos os cortes com a navalha afiada, com a direita (Est. I fig. l). Com a agulha de aço, procede-se a retirada dos cortes. Uma pequena almofada de pano (**m**) (Est. I fig. l), presa ao lado da mesa ou bloco de madeira, se presta para limpar a agulha cada vez que é usada. Seguindo essa técnica obtêm-se cortes finíssimos. Se formos pacientes e cuidadosos, poderemos estudar detalhes diminutos, com surpreendente precisão.

Os cortes vão para a lâmina (Est. I fig. h) que trazem uma gota de KOH a 4-6%, (Est. I fig. j), à qual se adiciona uma gota de eosina (solução aquosa a 1%) (Est. I fig. k). Colocam-se os cortes em desordem. Não convem arranjá-los sôb a lamínula (fig. g). Fazem-se os estudos que se queiram. No caso de certos fungos, é necessário montar os cortes em líquido de **Amann**, aquecendo-os sobre a chama. Se dos cortes montados em KOH, desejamos fazer lâminas de caráter **semi-permanente**,

basta, com uma gota de água colocada de um lado da lamínula, retirar o corante como papel de filtro, do lado oposto. A seguir (é preciso muita rapidez neste trabalho e mesmo certa prática), adiciona-se uma gota de glicerina acidificada (glicerina e ácido acético) (3) Se não houver lavagem perfeita, a eosina se precipita pela ação do ácido.

Feitas umas tantas lâminas, estas deverão ser conservadas em uma gaveta ou caixa ao abrigo da poeira, a-fim-de que a glicerina se evapore em parte. Limpam-se cuidadosamente os bordos da lamínula e, passados 10-15 dias, lutam-se as lâminas.

Lâminas assim preparadas duram 10-20 ou mais anos, especialmente se conservadas em caixa de madeira, em posição horizontal. Belíssimas lâminas de basidiomicetos podem ser fácilmente obtidas por êste meio.

LITERATURA CITADA

1. **Johansen, D. A.** *Em* Plant microtechnique, pg. 1-623, Mc Graw-Hill Book Co. N. Y., USA. 1940.
2. **McClung, C. E.** *Em* Handbook of microscopical technique, pg. 1-698, 2.ª Edição. Paul B. Hoeber, N. Y., USA 1937.
3. **Overholts, L. O.** Research methods in the taxonomy of hymenomyces, Proceedings of the International Congress of Plant Sciences 2: 1688-1712. 1929.
4. **Rawlins, T. E.** *Em* Phytopathological and botanical research methods, pg. 1-156. John Wiley & Sons, N. Y. USA. 1933.
5. **Riker, A. J. e Regina S. Riker.** *Em* Introduction to research on plant diseases pg. 1-117, planogr., 1936.
6. **Strasburger, E.** *Em* Das Botanische Praktikum, pg. 1-883, 7.ª Edição. Jene G. Fischer, 1923.