

# NOTAS SOBRE A BACTERIOSE DA MANDIOCA (\*)

O. A. DRUMMOND

Do Dept. de Biologia

O. HIPÓLITO

Do Dept. de Bacteriologia

O presente trabalho foi executado de colaboração entre os dois autores citados, ficando a cargo do departamento de Biologia o estudo fitopatológico da doença e do de Bacteriologia, o estudo do organismo causador da doença. Iniciado em Setembro de 1939, vamos apresentar aos snrs. congressistas os dados até agora obtidos.

## INTRODUÇÃO

A cultura da mandioca (*Manihot utilissima* Pohl e *M. aipi* Pohl) (17), é uma das mais antigas na América do Sul, tendo sido já encontrada aqui, pelos primeiros colonizadores europeus (16). Até poucos anos, era tida como uma cultura rústica, de terras pobres, sempre dando colheitas compensadoras ao lavrador, sem problemas culturais importantes. Com o desenvolvimento da Agricultura, tornando-se de extensiva para intensiva, qualquer lavoura, por mais rústica que seja, principia a apresentar sérios problemas culturais, principalmente no terreno de suas pragas e doenças. A cultura intensiva de uma planta, sempre acarreta aumento de seus parasitos e, por outro lado, o novo caracter da lavoura já exige maior atenção do lavrador para a produção por unidade de superfície. As diversas e importantes pragas e doenças da mandioca, que atualmente conhecemos, já existiam, provavelmente, desde o tempo em que somente os aborígenes deste continente a cultivavam. Mas, somente agora, quando os nossos lavradores já têm melhor noção sobre a produção econômica desta cultura e também por sua intensificação, é que suas doenças e pragas chamam a atenção.

A queda da produção de uma lavoura nem sempre é atribuída a uma doença de causa parasitária, embora esta seja geralmente a verdadeira causa, a não ser em casos evidentes, quando a planta definha e morre rapidamente. O lavrador, ignorando geralmente as causas das doenças das plantas, atribue a baixa produção de suas culturas ao tempo, qualidade do solo e os excessivamente religiosos, à exclusiva vontade de Deus. É natural que tal se dê, pois a porcentagem de nossa classe agrícola que tem conhecimentos

(\*) Trabalho apresentado ao II Congresso de ex-alunos da ESAV, em 17-12-940.

exatos sobre as coisas agrícolas é muito pequena e, por outro lado, os fatores solo e agentes climatéricos têm sempre importância na ocorrência de qualquer doença. No caso da Bacteriose da Mandioca, no entanto, todos os lavradores se alarmam, pois o corrimento de latex que ha nas ramas doentes, a murcha da planta, sua seca final, lembram logo uma «doença», causada por micróbio. Já o *mosaico da mandioca*, causando apenas descoloração nas folhas e mau desenvolvimento, não é tido como doença, nem tem nome popular.

A Bacteriose é conhecida por diversos nomes entre os lavradores: *Leiteira* e *Requeima* em Minas, *Agua Quente*, *Murcha*, *Azeite*, *Goma*, *Gomose* e *Bacteriose* em São Paulo (14). O nome Bacteriose é talvez o mais espalhado, devido principalmente aos folhetos e instruções divulgadas pelos meios técnicos. É provavel que todos estes nomes se refiram a uma mesma doença, pelos sintomas descritos.

### Distribuição Geográfica e Importância

A doença acha-se espalhada por grande área cultural do país. Temos informações positivas de sua existência em Minas, São Paulo (14), Santa Catarina (14), Rio Grande do Sul (9) e a Divisão de Defesa Sanitária Vegetal computa a sua existência como um verdadeiro «problema nacional» (correspondência). Em Minas, vimos a doença causando grandes estragos no Município de Bom Sucesso (Fig 1) e o arquivo de ocorrências de doença, da secção de Fitopatologia da ESAV, registra uma erupção da doença em um mandiocal de Viçosa, observada em 4 de Dezembro de 1929, por A. S. Müller, com sintomas de «murcha». Daí para cá, não tem sido observada e o «stock» da doença que mantemos no Jardim de Fitopatologia, é proveniente de Belo Horizonte, por gentileza dos drs. Ildefonso Ferreira Corrêa e Carlos de Almeida. Em Bom Sucesso, onde a cultura da mandioca tem grande importância econômica, pela indústria da farinha e do amido que sustenta, a doença tem causado prejuizos sensíveis, havendo muitos fazendeiros que abandonaram a cultura. Vimos mandiocais com área de 30 a 50 metros de diâmetro de plantas mortas pela doença (Fig. 1). Em Divinópolis, onde a industrialização da mandioca está ainda mais adiantada, devido a fabricação do álcool motor, a doença também tem sido constatada, conforme carta do dr. Lourival Fonseca, da 10ª Circunscrição Agro-Pecuária. Contudo, aí não é tão frequente como em Bom Sucesso. Em São Paulo, a

doença tem se manifestado principalmente entre Caçapava e Guaratinguetá, na Central do Brasil (14). Em Santa Catarina e Rio Grande do Sul, é tida como problema sério, na cultura da mandioca (9,14). — Segundo informação de dr. Homero Diniz de Freitas, agrônomo regional no Espírito Santo, a doença existe no Sul daquele Estado, tendo causado, em anos passados, grande desânimo entre os lavradores.

Fora do país, esta doença não tem sido constatada, conforme a literatura consultada.

Infelizmente não nos foi possível obter dados estatísticos exatos sobre a queda da produção da cultura, em virtude da doença. Segundo verificações de Bondar (8,13) em São Paulo, 10 plantas atacadas produziram, em média, 400 grs. de raízes por planta, enquanto a média de igual n.º. de plantas sãs foi 940 grs. A riqueza em amido das raízes das plantas doentes foi de 9,6%, enquanto das sãs, 13,36%. Castro, Gonçalves e Normanha (14) computaram a produção por Ha., de pés doentes, na região paulista da Central do Brasil, em cerca de 15.000 quilos de raízes, enquanto que a produção normal, vai até 50 a 60 toneladas (19). Por outro lado, citam-se casos de mandiocais atacados, com produção de 40.000 quilos por Ha., em terreno fértil (correspondência).

O prejuízo que a doença causa à cultura varia com as condições locais e com a variedade de mandioca. Temos visto mandiocais da variedade *Gueada*, em terrenos fracos, inteiramente desvalorizados pela doença, de produção nula (Fig. 1). Em terreno de riqueza média, na ESAV, temos observado todos os graus de produtividade dos pés doentes, de acordo com a variedade. Certas variedades morrem em 40 dias após a inoculação com cultura pura do organismo causador da doença, outras perdem a rama inoculada, que seca, mas emitem novos brotos, pois a doença se limita às partes aéreas da planta. Estes novos brotos são atacados por sua vez, murchando e secando (Fig. 6). Num 3.º grupo, podemos considerar variedades que perdem a rama inoculada, mas os brotos novos dominam a doença, por longo tempo. Esta distinção das variedades em grupos de acordo com seu grau de resistência à doença é, contudo, muito relativa, pois dentro de uma mesma variedade, temos observado os diversos tipos de reação à doença, de acordo com o indivíduo-planta inoculado. Na variedade *Gueada*, por exemplo, todas as plantas inoculadas tiveram a rama tratada seca. Uma planta brotou novamente e quando tinha uma rama vigorosa de 2,30ms., murchou e secou em 15 dias, em época

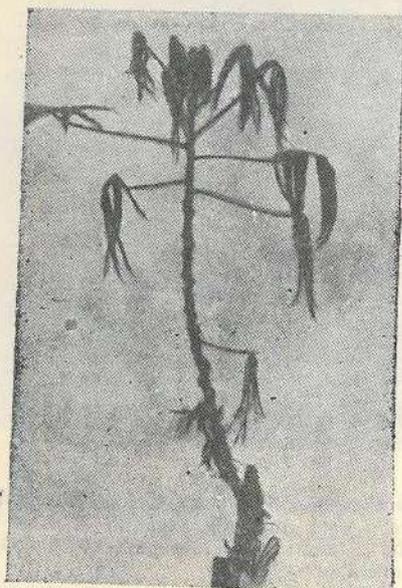


Fig. 9 — Planta murcha pela ação «leiteira». A rama inoculada secou e quebrou-se vendo-se seu tóco a direita.

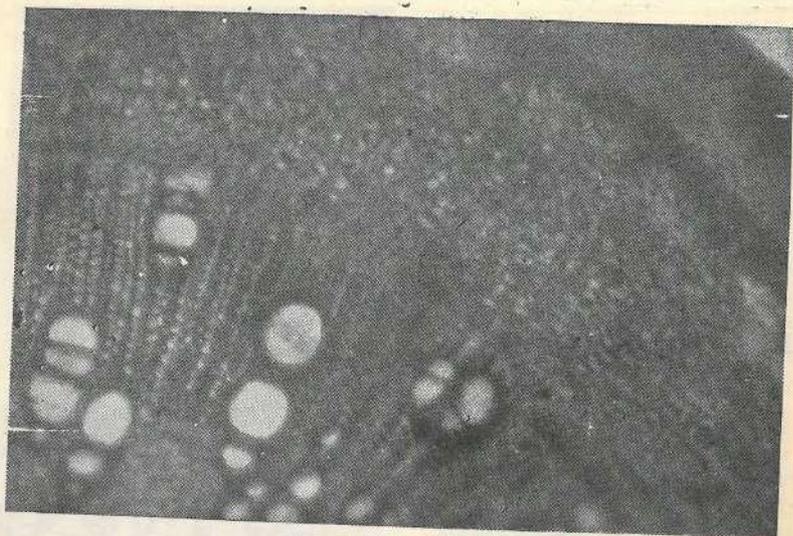


Fig. 11 — Corte transversal dum caule de mandioca atacado de leiteira, vendo-se um único vaso lenhoso cheio de bactérias (o escurecimento no centro. X 135.



Fig. 6 — A rama à direita foi inoculada com cultura pura de *Bacterium Manihotus*, no ponto em que a etiqueta está amarrada, secando. A rama da esquerda já mostra 2 folhas murchas, tendo a doença passado de uma rama para a outra.

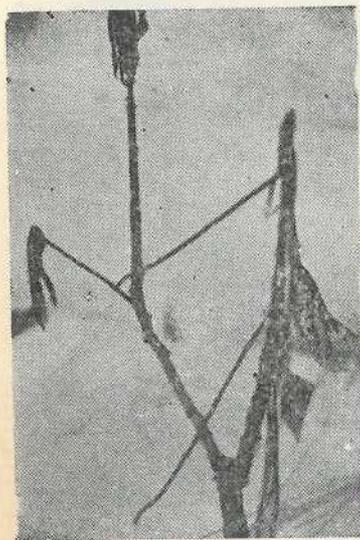


Fig. 7 -- Planta quasi toda seca pela ação da leiteira. Inoculada com cultura de *Bacterium Manihotus*, na rama da direita.



Fig. 8 — Planta inoculada na rama à direita (seca). Os novos brotos terminais murcharam, por sua vez, 5 meses e meio (165 dias) após a inoculação. Vê-se parte dum broto são em baixo.

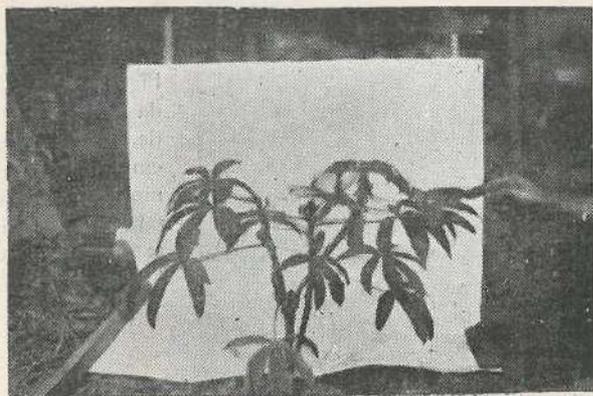


Fig. 4 — Planta inoculada, mostrando 2 folhas murchas, acima do ponto de inoculação, à direita.



Fig. 5 — Planta inoculada com cultura pura de *Bacterium Manihotis*, no ponto onde o barbante se acha amarrado. Vêm-se diversas folhas murchas, 30 dias após a inoculação.

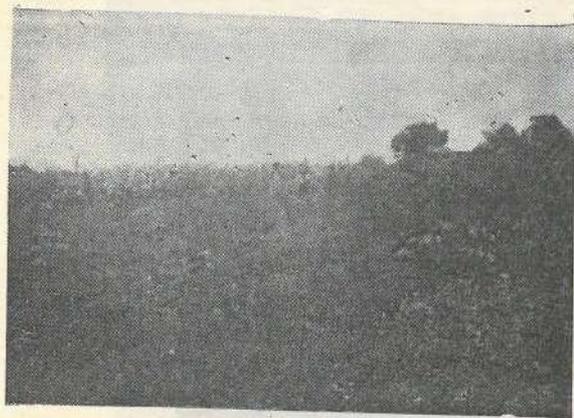


Fig. 1 — Mandioca da variedade Gueada, numa fazenda em Bom Sucesso, mostrando extensa falha, devida à morte de plantas, atacada pela leiteira.

Fig. 2 — Rama de mandioca mostrando corrimento de latex, ocasionado pela «leiteira».

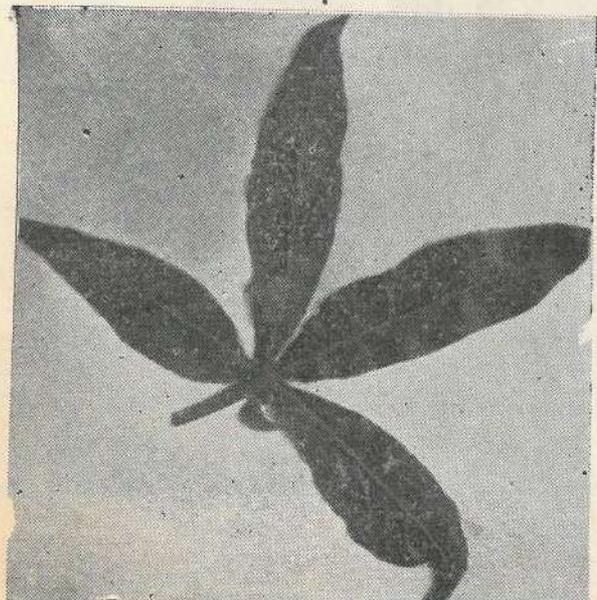
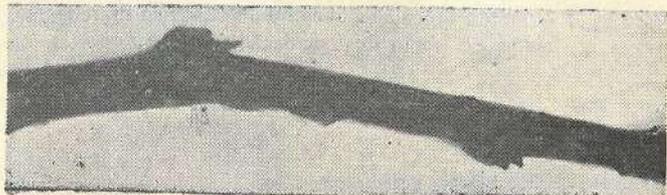


Fig. 3 — Folha de mandioca vista de baixo, mostrando exsudações de latex no limbo.





Fig. 10 — Rama atacada pela leiteira (a indicada), vendo-se os traços escuros no xilema, devidos aos vasos lenhosos, cheios de bactérias. A outra rama está sã.

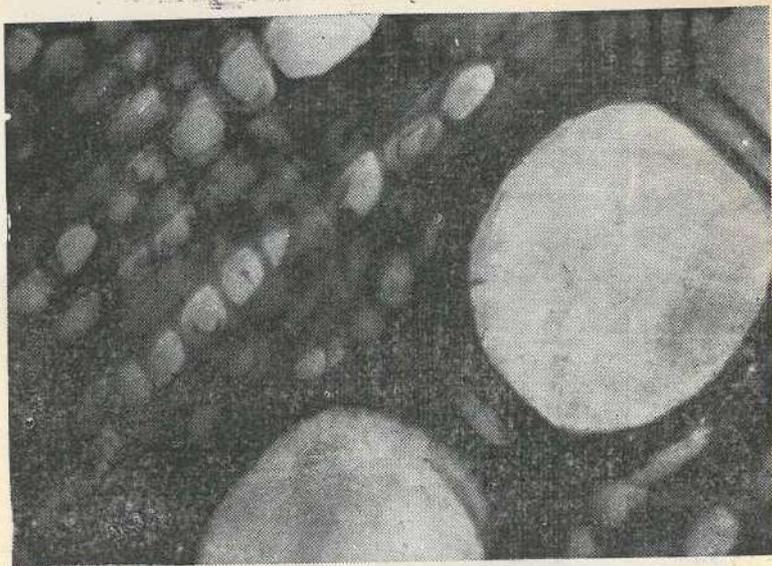


Fig. 12 — Vasos lenhosos, em secção transversal, vendo-se um deles, o de baixo, cheio de bactérias. X 540.

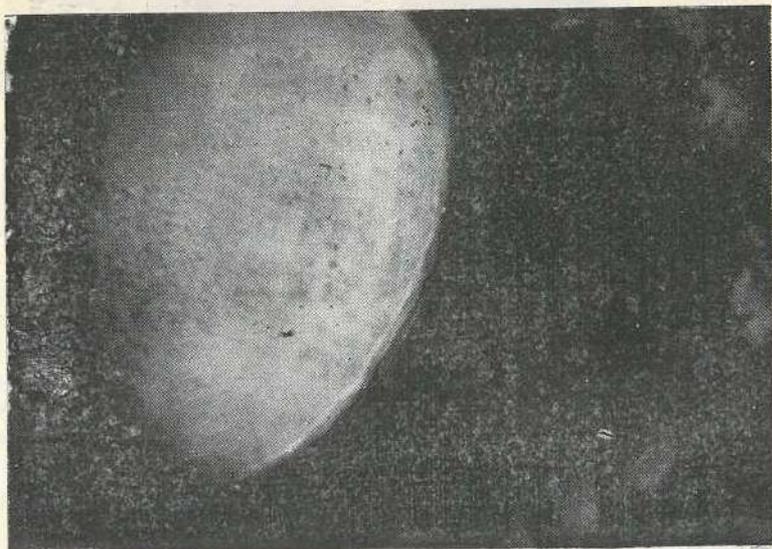


Fig. 13 — Vaso lenhoso, em secção transversal, cheio de bactérias. X 1215.

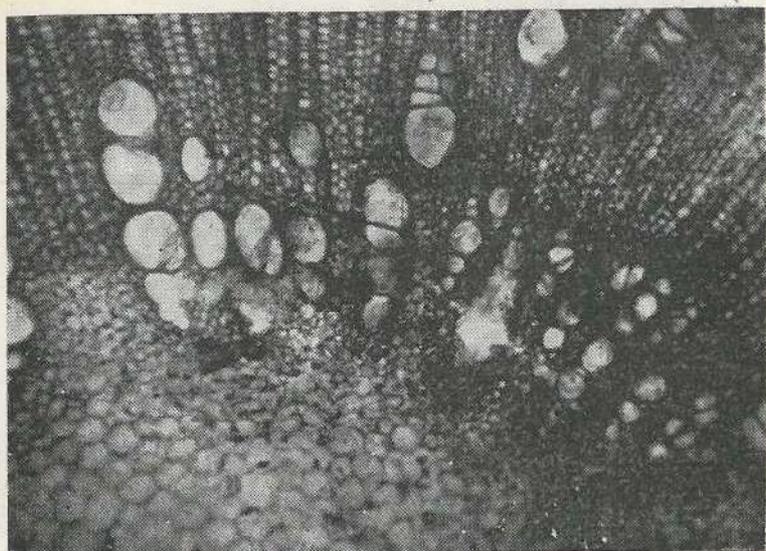
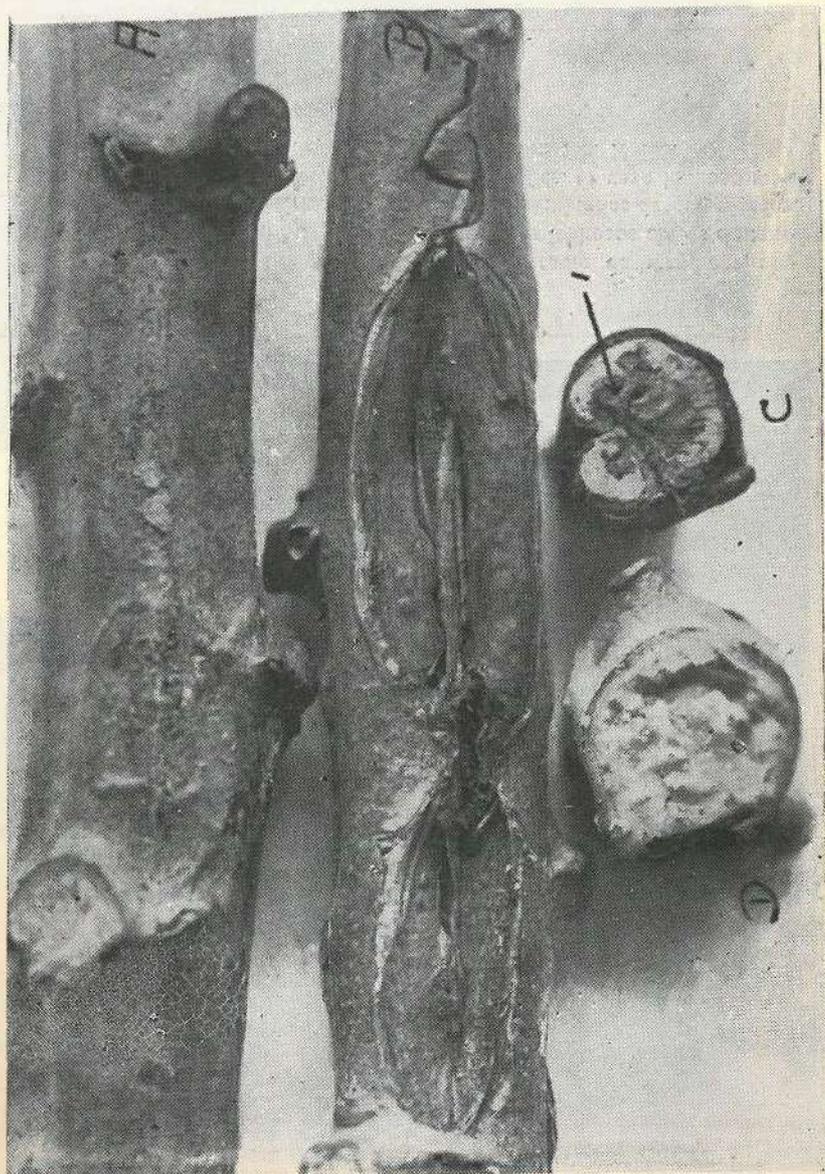


Fig. 14 — Corte transversal de lesões do caule da mandioca, atacada por *Bacterium Manihotus*. Vêm-se vasos lenhosos cheios de massas escuras de bactérias, muitos com as membranas desorganizadas, e lise adelantada de tecidos, em certas regiões. O vaso lenhoso mais à esquerda, em cima, mostra um tilo. X 135.

Fig. 15 — Podridão da Medula da rama da mandioca: A. e B. ramas atacadas, mostrando a *rachta* que aparece na região alterada. C. seção transversal da rama doente, vendo-se a medula alterada, internamente. D. rama sã.



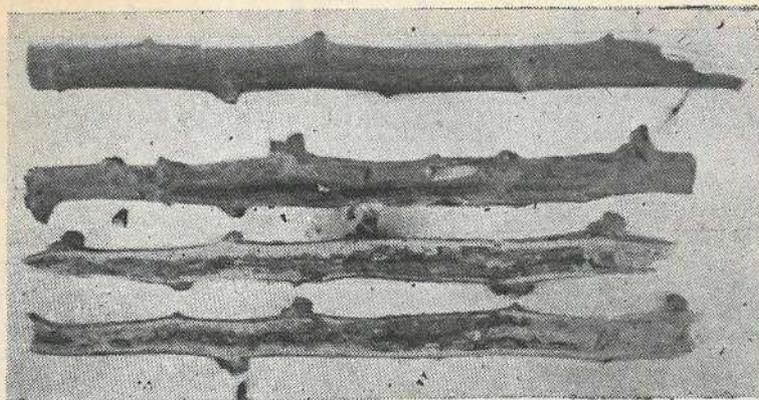


Fig. 16 — Mostrando a *Podridão da medula*. A de cima está sã.

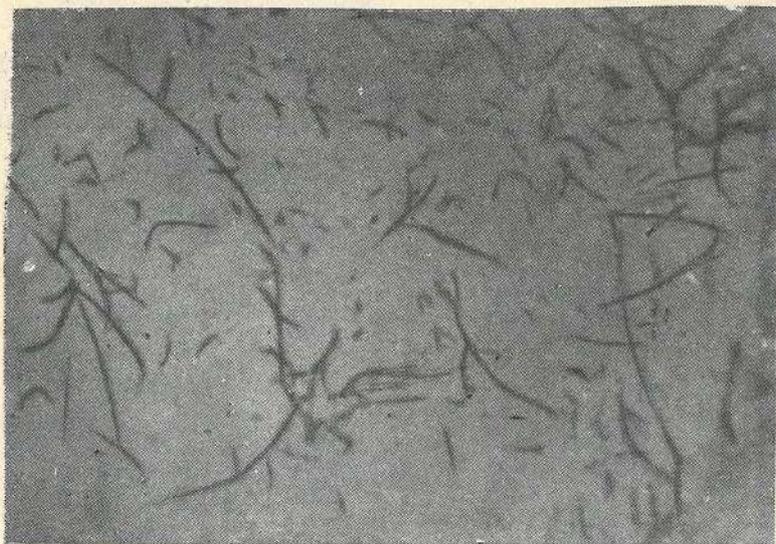


Fig. 17 — *Bacterium Manihotis*, cultura 10R, 3 dias em caldo, a 37° C.



Fig. 18 — Bacterium Manihotus, com cílios corados pelo processo de Van Engerment. Vêm-se 2 bactérias, indicadas por uma seta, com seus cílios polares corados. Outras bactérias vistas no campo, não mostram cílios. X 1620



Fig. 18 A — Bacterium Manihotus, monotríquios. X 1620. Processo de Zettnow, modificado por Bougert.



Fig. 18 B — Bacterium Manihotus, lofo-tríquios. X 1620. Processo de Zettnow, modificado por Bougert.

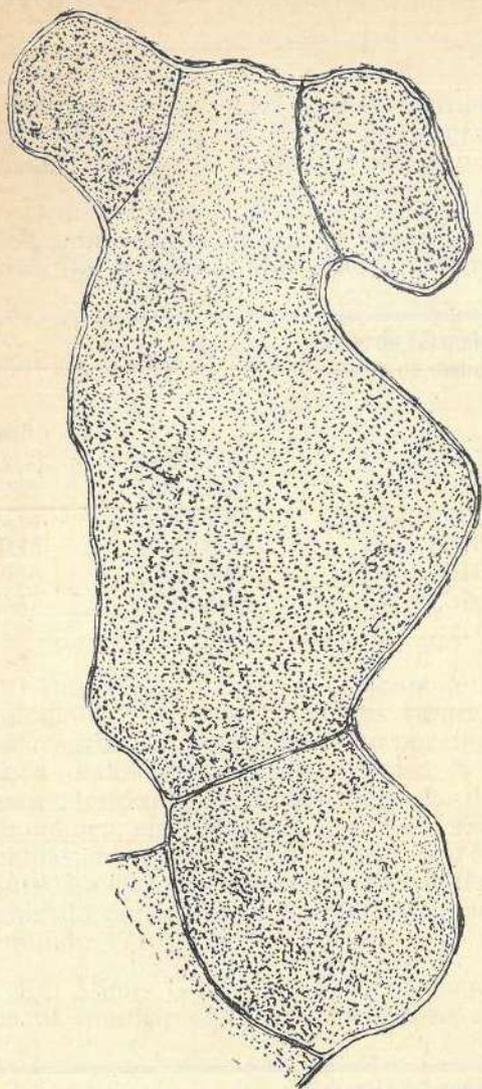
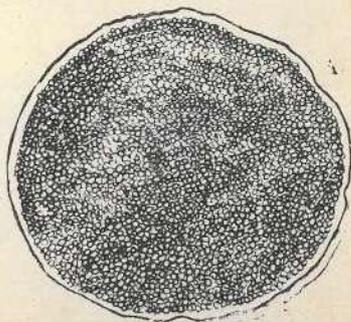


Fig. 19 — Colônias de *Bacterium Manihotus*, confluídas, mostrando alguns dos halos primitivos, ainda persistentes. 5 dias de idade.

Fig. 20 — Colônia de 3 dias de *Bacterium Manihotus*, vendo-se halo hialino (esquema).



chuvosa e quente. Outra planta, contudo, apresenta até hoje bellissimas ramas, de 3 ms. de altura, sem apresentarem quaisquer sinais da doença, 9 meses após a inoculação.

O nosso país é um dos maiores produtores de mandioca. Segundo dados officiais, a nossa produção em raízes e farinha de mandioca tem sido a seguinte (20):

Ano	Toneladas de raízes	Sacas de 60 quilos de farinha de mandioca	Valor em contos de réis
Média			
1928-32	5.028.060	17.131.567	228.582
1933	4.983.300	16.611.000	235.840
1934	5.293.200	18.196.000	272.165
1935	4.541.000	15.357.800	243.031
1936	4.946.850	14.604.610	272.238
1937	5.218.505	15.522.370	311.311

Estes dados devem ser incompletos, pois a mandioca é consumida nos próprios meios rurais, em grande escala, e o nosso agricultor geralmente não possui uma escrituração que forneça dados estatísticos exatos. A nossa exportação é pequena, tendo sido de 14.809 toneladas de productos derivados da mandioca, em 1934 (19) (21). Em 1937, tinha caído a 3.196 toneladas, no valor de 1637 contos de réis. As ilhas de Java e Madura, na Oceania, são os países que têm esta cultura melhor organizada, concorrendo com 90% da mandioca que se exporta no mundo (7).

Em Minas Gerais, a cultura da mandioca é feita em quasi todos os municipios, tendo havido as seguintes produções:

Ano	Toneladas de raízes	Sacas de 60 quilos de farinha de mandioca	Valor em contos de réis
Média			
1928-32	127.600	516.090	6.703
1933	127.500	425.000	6.375
1934	129.000	430.000	6.450
1935	145.000	435.000	6.525
1936	752.260	707.960	10.887
1937	765.000	700.000	10.920

Segundo o recenseamento de 1920 (22), sómente os municípios de Vila de Cambuquira e Tiradentes não cultivavam a mandioca naquela época. A produção de 10.920 contos de réis para todo o Estado, em 1937, representa 0,9% da produção agrícola total de Minas, excluída a Pecuária. Estes são os dados oficiais, mas na realidade, a cultura da mandioca tem ainda maior importância do que a indicada pelos dados estatísticos, pois fornece o alimento usado em maior escala, na alimentação do povo, principalmente nas regiões de clima sêco.

Destes dados, deduzimos o grande valor econômico da assistência técnica na produção da mandioca em Minas, quer em seus problemas culturais, quer de industrialização. O estudo de suas doenças é, portanto, de grande auxílio para a lavoura do Estado, e dentre elas, o da *Bacteriose*, representa a procura da solução do principal problema.

### Histórico

A Bacteriose da mandioca é conhecida dos lavradores desde o século passado, provavelmente, dada a extensa área de disseminação em que é achada hoje. A primeira notícia escrita que encontramos dela é o trabalho feito por G. Bondar, publicado na revista paulista «Chacaras e Quintais» (23) e, posteriormente, em diversas outras publicações. (13) (8) Naquele trabalho, Bondar descreve a doença com sintomas muito semelhantes aos por nós verificados, mas o estudo do organismo causador, aliás, muito incompleto, dá como organismo patogênico uma bactéria bacilar, Gram-positiva, que foi denominada *Bacillus manihotus* Arthaud & Berthet. O organismo encontrado persistentemente em nossos trabalhos mostrou ser totalmente diferente do de Bondar. De 1912 para cá, a doença tem sido constatada por diversas vezes, mas um estudo mais completo da doença até agora não foi publicado. No presente trabalho, vamos expor os dados que obtivemos em 1940, procurando conhecer melhor a etiologia da doença e meios de combate.

### Síntomas

A doença mostra-se na planta, em qualquer época do ano, desde que haja brotos em crescimento no mandiocal. Na época de grande vigor na vegetação das plantas, como acontece de Dezembro a Março, a doença pode se apresentar com tanta intensidade como em Maio e Junho, quando o frio é bem intenso, em Viçosa, e as plantas já se enca-

minham para o período de repouso. Na natureza, sem ser em trabalhos experimentais de inoculações, temos observado a doença principalmente de Dezembro a Março, em Bom Sucesso e Belo Horizonte.

A doença é caracterizada, nas variedades mais susceptíveis, pela formação de exsudações de latex, ao longo da rama e, às vezes, no pecíolo e limbo das folhas (Figs. 2 e 3). Forma-se primeiramente uma nodosidade no órgão da planta atacada e logo se rompe a região cortical, dando saída a u'a massa consistente, de cor creme-claro, que logo se solidifica ao ar, transformando-se em massas sêcas, de cor vermelho-sujo. De manhã cedo, com o orvalho, é que se observam bem as massas de exsudação do latex. A quantidade de latex que sai assim em massas consistentes é, às vezes, apreciável, dando para escorrer pela rama abaixo, antes de se solidificar. Outras vezes, formam-se pequenas exsudações. O latex normal da mandioca é bastante fluido e branco, enquanto que na exsudação provocada pela doença, tem consistência pastosa no início, solidificando-se em seguida. Ao mesmo tempo que aparecem as exsudações, a folha ou as folhas da planta, mais próximas da região da exsudação, murcham, o que se nota melhor quando o dia está quente (Fig. 5 e 6). Geralmente uma folha murcha primeiro e depois seguem-se as mais próximas, para baixo e para cima do ponto de sua inserção (Fig. 4). O processo de murcha circunscreve também a rama, de forma que dentro de certo tempo, 1 a 2 meses, a rama atacada perde todas as folhas, até as mais novas do broto terminal (Figs. 8 e 9). A folha murcha seca rapidamente, desprendendo-se com o pecíolo já sêco, do cáule. Quando o processo da murcha é mais lento, a folha mostra primeiramente u'a seca progressiva, das bordas do limbo, para o centro da folha. Ao mesmo tempo que ha esta murcha das folhas, as lesões nas ramas tornam-se fortemente necrosadas, muitas vezes pretas. O processo termina com a sêca completa da rama, a qual fica em pé por um certo tempo (Fig. 7), até ser quebrada por qualquer esforço externo.

A exsudação de latex do pecíolo e limbo da folha é uma forma mais raramente achada no campo: a folha mostra gotas de latex em sua página inferior, geralmente grandes, 0,5 cm. de diâmetro, em número limitado, duas a cinco, e o pecíolo sempre apresenta gotas de latex também. (Fig. 3). Estas gotas de latex que se formam na folha, principiam por pequenas bolsas, parecendo pontos claros na face inferior da folha. Tais bolsas, aumentando de tamanho, rompem-se e formam as exsudações descritas. As folhas que

mostram exsudações de latex, murcham e secam mais rapidamente que no caso da exsudação se manifestar sómente no cáule. É comum elas secarem completamente, antes da doença se manifestar em qualquer outra parte da planta.

A murcha das folhas da ramas doente nem sempre é acompanhada por exsudação de latex, podendo a rama murchar sem mostrar corrimento. O inverso também se dá, podendo-se observar ramas com poucas exsudações de latex, sem apresentarem sinal de murcha.

Internamente, a doença é bem caracterizada pelo escurecimento dos vasos liberianos e lenhosos, na região cortical e na periferia do cilindro central do cáule da planta.

Fazendo-se um corte longitudinal, ao longo da casca da rama atacada, com um canivete de lâmina bem limpa, de modo a se exporem aqueles tecidos, vêm-se estrias pretas mais ou menos interrompidas, ou longas, que são os vasos atacados da planta. (Fig. 10). Quebrando-se uma folha murcha pela base, vêm-se seus traços vasculares, formados pelo conjunto de tecidos de xilema e floema, muitas vezes completamente enegrecidos, apresentando-se como pontos pretos, nas superfícies expostas.

Fazendo-se um corte transversal na rama atacada, podem-se ver, com o microscópio, muitos de seus vasos lenhosos escurecidos. Um corte a mão livre, de 15 a 20 micra, montado em água, sob lamínula, mostrará perfeitamente os vasos atacados cheios de bactérias em forma de bastonetes (Figs. 11, 12 e 13). É necessário variar-se um pouco a focalização do microscópio, para se perceber que são bastonetes, pois a maioria parecerá cocos, à primeira vista. Um processo simples para se corarem as bactérias no interior dos vasos atacados, é deixar em álcool absoluto, durante 0,5 a 3 horas, pedaços de rama fina atacada, de 1 cm. de comprimento. Cortam-se secções deles, recebendo-as em azul láctico (azul de lactofenol), onde ficam 5 minutos. Daí são levadas para o álcool 100 outra vez e, deste, são montadas em Aman (glicerina fenicada), em lâminas semi-permanentes, ótimas para o estudo mais detalhado do material. Cortes mais finos do material, feitos em inclusões em parafina, apresentam, em geral, a desvantagem de perderem as massas de bactérias que contêm, e quando não se vêm bactérias nas lesões que o corte mostra, sempre se tem dúvidas sobre sua etiologia. A fig. 11 mostra, com aumento de 108 diâmetros, regiões do xilema, câmbio, floema, parênquimas vizinhos e outras regiões da camada cortical. Pode-se ver um vaso lenhoso, isolado, com u'a massa escura interna, formada de bactérias

causadoras da doença. Compare-se com outro vaso próximo, completamente limpo. A fig. 12 mostra o mesmo vaso, rico em bactérias, com 540 aumentos, podendo-se ver numerosos pontinhos escuros em seu interior, que são as bactérias parasitas. O vaso cuja secção está toda contida na figura, não mostra bactérias. A fig. 13 mostra as bactérias no interior do vaso atacado, com 1215 aumentos, notando-se diversos bastonetes bem visíveis.

Em cortes de lesões mais adiantadas, com depósitos de latex, nota-se a lise dos tecidos a partir dos vasos infectados, os quais ficam também desagregados, com suas ornamentações de linina soltas. Na fig. 14 podemos ver lesões neste estado, mostrando diversas regiões inteiramente desorganizadas e dissolvidas, formando-se lacunas irregulares, circundadas por tecidos necrosados. Estes processos se iniciam nos vasos lenhosos atacados, daí se estendem para a região cortical, envolvendo os vasos liberianos também. Raramente se dirigem para a medula, mas num caso observado, as células necrosadas e em lise avançavam para a medula e estavam circundadas por um meristema secundário, processo comumente formado na região medular, quando atacada de podridão.

Quando a rama doente morre, é raro morrer a planta toda, até às raízes, pois a invasão dos vasos dá-se apenas até o coleto, geralmente. É comum a planta emitir novos brotos, os quais se conservam sempre sãos ou, pelo contrário, são atacados pela bactéria, morrendo um a um. A fig. 6 mostra uma planta nestas condições: a rama à direita secou por efeito da doença e, somente mais tarde, a rama da esquerda mostrou-se doente, murchando 2 folhas. A fig. 7 mostra a mesma planta, 20 dias mais tarde, já com a rama da esquerda quasi morta, também. A fig. 8 mostra as brotações sucessivas da planta e a murcha destes novos brotos. A planta quando foi inoculada, tinha só a rama da direita, tendo-se feito a inoculação onde está amarrada a etiqueta. Esta rama morreu, brotando então as da esquerda, superiores, que já se acham murchas, 4 meses e meio depois da inoculação da planta. Um broto mais vigoroso, saído da base da planta, ainda está são. Na figura 9 podemos ver uma planta que já perdeu a rama inoculada, morta pela doença. O broto vigoroso que ela apresentava, formado posteriormente, já está quasi todo murchado.

### Podridão Medular da Rama

Temos encontrado em alguns mandiocais, ramas com muito acentuada podridão da medula. A fig. 15 mostra duas

ramas com esta podridão, vendo-se, em ambas, as rachaduras que ocasiona na região cortical, as quais se cicatrizam e tomam o aspecto de beíços de feridas cicatrizada (rama B). Quebrando-se a rama na altura de uma rachadura, vê-se a medula da rama pôdre (mesma figura C). A fig. 16 mostra ramos doentes com rachadura, uma inteira e outra aberta, vendo-se a podridão da medula estender-se longitudinalmente, na rama. A' primeira vista, os tecidos parecem ter sido destruídos por uma broca, pois formam cavidades mais ou menos continuas, nas lesões mais velhas. As zonas necrosadas são limitadas à medula e a rachadura que aparece externamente, é devida à própria destruição dos tecidos, que houve internamente. É comum formarem-se novos tecidos na região medular destruída, pela ação de meristemas secundários que aparecem nesta região, desde que aparece o processo de degenerescência.

A planta atacada por podridão da medula não murcha e nem ha exsudação de latex. Pelos trabalhos de isolamento levados a efeito, com esta doença, chegamos à conclusão de que *a podridão da medula é outra doença, diferente da leiteira*. Nossas inoculações com culturas puras da bactéria causadora da leiteira, em número de 140, nunca produziram podridão da medula e apenas leiteira em 77% das plantas inoculadas. Isolamentos feitos de material com podridão da medula deram sempre bactérias maiores que as da leiteira e, quando inoculadas, deram 30% de casos positivos de podridão da medula. Trata-se pois de uma outra doença e vamos tentar o estudo de sua etiologia completa, em 1941. Outro argumento que confirma esta conclusão é que, na própria natureza, as ramos de mandioca mortas pela leiteira, já sêcas, sempre apresentam a medula perfeita.

A podridão da medula é também uma doença séria da mandioca, tendo sido constatada em Belo Horizonte, Sete Lagoas e Bom Sucesso.

### Etiologia

O organismo causador da leiteira da mandioca pode facilmente ser isolado das ramos doentes, em agar, enriquecido com caldo de tecidos da mandioca e peptona. Foram experimentados diversos meios artificiais de cultura, tendo-se mostrado o mais satisfatório o acima citado, com a seguinte composição:

Agar . . . . .	20 grs.
Brotos novos de mandioca . . . . .	100 grs.
Peptona . . . . .	10 grs.
NaCl . . . . .	1 gr.
Água . . . . .	1000 grs.

Os brotos devem ser macerados em um almofariz e o caldo incorporado à solução de agar ainda quente. Corrigir o pH para 6,5 a 7. Autoclavar. O pH sobe geralmente para 7 a 7,5 com o qual a bactéria se desenvolve bem.

O isolamento é feito em cápsulas de Petri, com o meio acima, já solidificado. Com toda a asepsia levanta-se por meio de um escalpelo esterilizado a casca da rama atacada, em lugares onde não haja exsudação de latex. Retiram-se pequenos pedaços, com um estilete de ponta fina, das riscas escuras descobertas, e estes pedaços são plantados, em n.º de 4, igualmente esparsos, na cápsula de Petri. A temperatura ambiente, em 24 horas, cada inóculo ficará coberto por uma colônia creme-escura, da bactéria causadora da doença. Por este processo, obtem-se diretamente culturas puras do organismo, enquanto que isolamentos do latex que exsuda das ramas doentes dão muitas contaminações, o que é fastidioso eliminar.

As culturas obtidas devem ser repicadas semanalmente e mesmo assim, é comum cessarem de crescer, morrendo. O meio mais seguro de se ter a doença em «stock» é conservando plantas inoculadas.

As inoculações das culturas, obtidas para demonstrar-se sua patogenicidade e para estudos posteriores, foram feitas colocando-se massas de bactérias, de culturas de 3 a 6 dias, logo abaixo da casca da rama a ser inoculada. Para isto, com um escalpelo esterilizado, faz-se uma incisão na casca, na forma de três lados de um quadrilátero de 0,5 cm. de lado, levantando-se então uma janelinha na casca, presa ainda pelo 4º lado. Este lado, pelo qual a parte levantada da casca ainda fica presa à planta, deve ser o mais elevado, de modo a parte destacada da casca continuar a receber seiva elaborada, não vindo a secar. Posta a massa de bactéria sob a casca levantada, abaixa-se a janelinha feita e amarra-se a lesão com barbante, etiquetando-se. Vinte dias depois, mais ou menos, aparecem os primeiros corrimentos, ao longo da rama inoculada, do lado da inoculação. As folhas próximas começam a murchar e secar. A fig. 4 mostra, por exemplo, uma planta inoculada, depois de 30 dias (18/6/1940 a 18/7/1940). A inoculação foi feita na rama da direita, onde se vê a etiqueta amarrada e perto dela, acima, vêm-se duas folhas já quase secas. A fig. 5 mostra uma planta também inoculada, no ponto onde se vê um barbante amarrado e com a murcha das folhas bem adiantada, 40 dias após a inoculação.

A inoculação da bactéria não exige meio ambiente apropriado, nem tão pouco parte especial da rama. Inocula-

ções em rama nova e velha deram bons resultados, principalmente, em ramas novas, em região onde a casca começa a perder seu verde muito intenso, passando ao verde de tecido menos novo. Com a proteção que a própria casca oferece ao inóculo, a inoculação pode ser feita até em hora quente do dia. Todavia, para maiores garantias, sempre preferimos fazer as inoculações em dias encobertos ou à tarde de dias ensolarados. Não é necessário terem-se as plantas em vasos, o que é uma grande vantagem prática. Com estes cuidados, obtivemos 77% de casos positivos em nossas inoculações, o que demonstra uma alta patogenicidade do organismo em estudo.

Foram feitos reisolamentos, obtendo-se sempre culturas em tudo semelhantes às inoculadas.

### Estudo do organismo parasita

Foram usadas culturas de isolamentos e de reisolamentos, obtendo-se os seguintes dados :

**MORFOLOGIA:** É um bacilo medindo cerca de 1,0 a 4,6 micra de comprimento por 0,4 - 1,2 micron de diâmetro; pelo exame microscópico da lâmina corada verifica-se que o germen se apresenta irregularmente isolado ou formando cadeias de número variável de elementos, chegando, às vezes, a atravessar o campo do microscópio (1.200 aumentos), principalmente quando a cultura se encontra em meio líquido. Estas cadeias mostram-se, em meio líquido, como verdadeiros filamentos contínuos, lembrando até um *Actinomices* (fig. 17). Quando isolados, os bacilos são bastante móveis, mas em pequena porcentagem. Possuem cílios polares (mono ou lofotríquios). A fig. 18 mostra, quasi no centro, indicados pela seta, 2 bacilos com seus cílios coloridos pelo processo de van Ermengen (16). Apesar das inúmeras vezes em que se repetiu o processo, usando-se culturas de caldo, com 24 horas de incubação, bem ricas, não se conseguiu uma lâmina mais rica do que a da figura. Nesta, apenas aqueles bacilos do centro apresentam cílios. Estes são bem longos, até 7 vezes o tamanho da bactéria. As figuras 18 A e 18 B, mostram bactérias com cílios corados pelo processo de Zettnow, modificado por Bougart. Na fig. 18 A, vê-se 1 bactéria com 2 cílios num pólo e na fig. 18 B, duas bactérias com 1 cílio polar.

**COLORAÇÃO:** Cora-se pelos corantes usuais de anilina e é Gram negativo.

**CULTURA:** O germen causador da bacteriose da mandioca é aeróbio estrito e não se desenvolve bem nos meios de cultura comuns, a menos que a cultura seja de grande vigor.

O melhor meio para seu desenvolvimento é o meio de mandioca já descrito. Neste meio, as colônias de três dias, à temperatura ambiente, são brilhantes, arredondadas e com bordos lisos, branco-creme e pequenas, raramente, atingindo 0,7 mm. de diâmetro. As colônias apresentam na periferia um halo de tamanho variável (fig. 20). Quando ha coalescência de colônias vizinhas, este halo permanece por um certo tempo, como se vê na figura. 19.

A temperatura ótima para o desenvolvimento do germen é de 37 graus Centígrados, sendo que ela vegeta bem na temperatura ambiente, aproximadamente 20° C..

**AGAR:** As culturas vigorosas conseguem se desenvolver nos meios de agar simples, sendo que o aparecimento das colônias se dá depois de 24 horas de incubação a 37° C..

**GELATINA:** Neste meio, em picada, notamos nos primeiros dias uma liquefação sacciforme. A liquefação total foi observada após 7 dias, na temperatura ambiente (20° C.).

**LOEFFLER:** O germen se desenvolve bem neste meio dando, após alguns dias de incubação, colônias pequenas e pela proteólise determina o aparecimento de um sulco mediano.

**CALDO:** Desenvolvimento pequeno, excepto quando as culturas são vigorosas; neste caso o crescimento é regular, dando formação de uma fina película na superfície do meio e um depósito brancacento no fundo do tubo.

**LEITE:** Verificamos que o germen determina a coagulação total do leite em 3 dias.

**MEIOS ESPECIAIS:** No meio de *Voges Proskauer* a reação para pesquisa do *acetilmetilcarbinol* foi negativa; o mesmo aconteceu para a reação do *vermelho de metila*. A prova de *redução de nitrato a nitrito* deu resultado positivo.

AMIDO: A prova de hidrólise do amido foi sempre negativa.

INDOL: A prova de produção de indol foi negativa.

CÁPSULA: Não possui.

Todas as provas acima citadas foram repetidas, com diferentes culturas de isolamentos diferentes, mostrando-se todas 100% constantes.

**FERMENTAÇÃO DE AÇÚCARES:** Devido ao crescimento irregular da bactéria nos meios comuns de hidratos de carbono, falhando muitas vezes, a prova da fermentação dos açúcares não pode ser muito considerada na identificação desta bactéria. Contudo, pelos dados colhidos de meios onde a bactéria conseguiu se desenvolver em abundância, verificamos sua grande tendência para os resultados negativos nesta prova. De 9 provas realizadas, obtiveram-se os seguintes dados, usando-se 5 culturas de procedência diferente (10, 10R, 20R, 30R e 40R):

Xilose	— 75%	de resultados negativos	(25% positivos)
Galactose	— 29%	«	«
Arabinose	— 50%	«	«
Levulose	— 80%	«	«
Maltose	— 75%	«	«
Glicose	— 71%	«	«
Dextrina	— 75%	«	«

Vê-se que o germen mostrou tendência para fermentar somente a galactose, mas não constantemente.

Deram resultados inteiramente negativos em todas as provas realizadas, os seguintes açúcares: lactose, manita, salicina, amigdalina e inosita.

Damos em seguida o quadro obtido, de onde foram tirados os dados acima.

Açúcares	CULTURAS								
	10	10R	10R	10R	10R	10R	20R	30R	40R
Xilose	0	—				+++		—	—
Galactose	0	—	++	+	+	+		—	+
Arabinose	0	—	—	+	+	+++	+	—	—
Lactose	0	—	—	—	—	—			
Levulose	0	—	⊕⊕	—	—		—		
Maltose	0	—(1)	++	—	—	++++	—	—	—
Eritrita	0	—							
Sacarose	0	—							
Dextrina	0	—						—	—
Manita	0	—	—	—	—	—		—	—
Amigdalina			—	—	—			—	—
Salicina			—	—(?)			—		
Inosita						—		—	—
Glicose	0	—	++	—		++++	—	—	—
Adonita						—			

(1) = desenvolvimento pobre

0 = sem desenvolvimento

— = fermentação negativa

+ = fermentação positiva sem gás

⊕ = " " com gás

(?) = leve mudança de cor do meio, mas logo desaparecendo.

Leitura feitas a partir de 24 hs., a 37° C.

Apezar da tendência geral de não fermentar os açúcares, podemos ainda supor que este organismo possua mais de uma raça fisiológica, o que não ficou demonstrado, por não termos trabalhado com culturas provenientes, cada uma, de uma só bactéria. É possível que, conquanto puras para espécie, nossas culturas não estivessem puras para as possíveis raças fisiológicas do organismo. Este é um ponto que deverá ser pesquisado ainda.

**RESISTÊNCIA AO CALOR:** O germen em estudo apresenta notável resistência ao calor. Utilizamos cultura em caldo, de forte desenvolvimento (10R), incubada 48 hs. e obtivemos os seguintes dados:

Temperaturas do tratamento		Crescimento da cultura depois do tratamento, quando repicada em:	
Varição na temperatura (Graus C)	Temperatura média (Graus C)	CALDO	Meio sólido de mandioca
39,6—40,0	39,8	++	++
42,5—43,0	42,7	++	++
44,1—44,3	44,2	++	++
49,5—50,0	49,7	++	++
53,5—55,2	54,3	+	+
57,1—58,0	57,4	+	+
59,0—59,0	59,0	+	+
60,5—60,5	60,5	+	+
62,0—62,5	62,2	+	—
64,0—64,0	64,0	—	+
65,0—66,0	65,5	—	+
66,0—67,0	66,5	—	+
67,0—68,0	67,5	--	+
68,0—69,0	68,5	—	+
69,0—70,0	69,5	—	+
71,0—72,0	71,5	—	—
73,0—74,0	73,5	—	—
75,0—76,0	75,5	—	crescimento pobre
77,0—78,0	77,5	—	crescimento muito pobre
79,0—80,0	79,5	—	—

O tempo de exposição observado para cada temperatura foi de 10 minutos, a partir do instante em que a cultura atingia a temperatura desejada, o que sempre acontecia, no máximo, em 3 minutos. No presente quadro, ++ significa crescimento normal da cultura, + crescimento suficiente para mostrar que a cultura foi pouca alterada. Vê-se, assim, que a cultura em estudo suportou até 77,5 graus C, o que denota uma alta resistência, comparando com outras espécies de bactérias parasitas dos vegetais e, também, pelo facto de não produzir esporos. Mesmo desprezando as temperaturas que deram crescimento abaixo do normal, vemos que a bactéria resistiu bem até 49,7 °C, o que demonstra sua alta resistência aos calores extremos aos quais está sujeita na natureza.

A experiência acima foi continuada, procurando-se saber a resistência da bactéria a determinada temperatura, em períodos diferentes de exposição. A temperatura escolhida foi 55° C., à qual a mandioca resiste bem, quando exposta até durante 25 minutos, conforme dados obtidos em um peque-

no ensaio por nós efetuado e também segundo Costa e Normanha (11). Usando-se a cultura 10R em caldo, obtivemos o seguinte quadro:

Tempo de exposição	Crescimento da repicagem do caldo tratado em meio sólido de mandioca	
	DEPOIS DE 24 HS.	DEPOIS DE 3 DIAS
10 minutos	crescimento pobre	crescimento rico
15 «	—	—
20 «	—	—
25 «	—	—
30 «	—	—

Por estes dados, vemos que a bactéria em cultura em caldo, não resiste a 15 ou mais minutos de exposição a temperatura de 55 a 55°C, média 54,5°C.

A resistência ao frio foi também determinada, expondo-se culturas de bactérias, por uma semana, a temperatura de 3°C, tendo-se obtido repicagens de grande vigor das culturas assim tratadas.

**BACTERIÓFAGO**—Tendo-se observado que partes necrosadas do cáule, pela ação da bactéria, e já velhas, nunca davam culturas do organismo causador da doença, parecendo assim, haver uma ação destruidora sobre o germen, nas lesões velhas, suspeitou-se da presença de algum bacteriófago nos tecidos atacados, responsável por esta ação. A dificuldade que se tinha em manter a bactéria em culturas por mais de uma semana, as repicagens de pobre ou nulo crescimento de culturas aparentemente fortes, foram outros pontos que nos lembraram a necessidade da pesquisa de bacteriófago nos tecidos atacados. Os resultados obtidos foram negativos, comquanto repetidos.

Técnica usada: o macerado em água esterilizada foi filtrado em vela de Berkefeld N, esterilizada anteriormente. Colocou-se em 3 tubos de caldo simples, para onde pouco tempo antes se havia repicado uma amostra vigorosa do germen (cultura 10R), respectivamente 0,5, 1,0, e 2,0 cc. do filtrado. Um 4º tubo recebeu somente a cultura e serviu de testemunha para a mesma. Um 5º tubo recebeu somente 0,5 cc. do filtrado e serviu para demonstrar a esterilidade do mesmo. Todos os 5 tubos foram incubados na estufa, a 37° C, durante 24 hs. Após isto, fez-se a leitura dos resultados e constatou-se que o mesmo era negativo isto é, o filtra-

do não impediu o desenvolvimento do germen. Uma segunda prova foi feita e o resultado foi ainda negativo.

Não se pesquisou a presença de bacteriófago no extrato de culturas porque nunca se observou propriamente a morte de uma cultura forte, mas, somente, o seu não crescimento em repicagens. Vê-se, assim, que o mau crescimento da bactéria em meios comuns é uma questão de exigência da natureza química do meio, apenas. O comportamento da bactéria no hospedeiro mostra isto também, pois em vez da bactéria preferir a região medular, rica em hidratos de carbono, por excelência, ataca principalmente tecidos de grande vitalidade, como o floema, parênquimas corticais, câmbio e parênquima do xilema.

**CLASSIFICAÇÃO** — O estudo taxonômico das bactérias patogênicas às plantas ainda não está completo, pois, como bem o fez notar Burkholder (15), a taxonomia das bactérias que causam doenças em plantas tem sido organizada, atualmente, por bacteriologistas que não são fitopatologistas, redundando daí, na classificação moderna, agrupamentos de organismos que são muito dissemelhantes entre si. Basta ver o número elevado de espécies que Bergey colocou em seu gênero *PHYTOMONAS*, cerca de 137 (5), para se ter uma idéia da grande dissemelhança entre estas espécies. Como mostrou Burkholder, qualquer espécie de *PHYTOMONAS* pode ter positivo ou negativo quase todos os caracteres básicos para sua classificação, com exceção da motilidade e do Gram, que ocorrem em uma mesma forma em elevada porcentagem, dentro do grupo (71 espécies, em 77, não são móveis e 13, em 77, têm Gram positivo). Os outros característicos básicos para a classificação das bactérias, tais como pigmento no agar, coagulação do leite, hidrólise do amido, fermentação dos hidratos de carbono, produção de indol, de  $H_2S$ , aerobiose, presença de cápsula, ocorrem positivos em praticamente 50% das espécies e negativos nos outros 50%. Não é pois um grupo definido. Outro defeito da classificação de Bergey é usar o caracter de patogenicidade como básico para as espécies de gênero *PHYTOMONAS*, quando em certas espécies de parasitas em plantas, já se conhecem formas não parasitas, como por ex., as formas do solo, não patogênicas, de *BACTERIUM TUMEFACIENS* Smith and Townsend (15) (5). Além disto, muitas espécies de *PHYTOMONAS* mostram-se mais relacionadas com espécies de *BACTERIUM* do que com outras espécies do mesmo gênero. Bergey dispoz todas as espécies de bactérias patogênicas em plantas em dois gêneros: *PHYTOMONAS*, com bactérias

móveis e não-móveis, as móveis com cílios mono ou lofo-tríquios; ERWINIA, com cílios peritríquios. Esta é a classificação mais moderna, aceita por grande número de fitopatologistas e combatida por muitos. Elliot, em seu «Manual of bacterial plant pathogens», 1930, não a usa, mas sim a de Smith. Fazendo-se um retrospecto na história da classificação das bactérias, vamos ter os seguintes nomes para as bactérias bacilares: BACTERIUM para as formas imóveis, BACILLUS para as móveis peritríquias e PSEUDOMONAS para as móveis mono ou lofo-tríquias, nomes estes adotados por Migula em 1897. (15) Erwin F. Smith, o fundador da bacteriologia dentro da Fitopatologia, pois foi quem demonstrou em grande escala, que as bactérias são capazes de causar doenças em plantas, em contradição com a escola européia, que o negava, verificou, em 1906, que o nome BACTERIUM tinha prioridade sobre o de PSEUDOMONAS, pois fôra dado por Cohn, em 1872, para as formas em bastonete com cílios polares. As formas não móveis foram então chamadas por Smith APLANOBACTER. Lehmann e Neumann, em 1896 denominaram BACILLUS a todos os bastonetes que produzem esporos e BACTERIUM, aos que não produzem. (15) Como todas as bactérias parasitas em plantas, até hoje conhecidas, não produzem esporos, todas elas seriam do gênero BACTERIUM. Esta classificação não tem sido adotada, porque traria mais confusão.

Outro ponto que nos faz, de uma vêz, recusar a classificação de Bergey para as bactérias parasitas nos vegetais, é ter sua classificação incorrida num erro de homonímia. O nome PHYTOMONAS foi dado, em 1909, por Donovan, às formas de LEPTOMONAS e LEISHMANIA, que vivem nos vegetais (4). Bergey criou seu gênero PHYTOMONAS em 1923 (5). As regras de nomenclatura são taxativas, neste ponto. Foi resolvido pelos próprios microbiologistas (Jour. Bact., 33, 1937, 445) (5) que não deve haver nomes genéricos homônimos, entre os Protistas e até entre Protistas e animais e vegetais, comquanto os botânicos e zoólogos aceitem nomes homônimos entre animais e vegetais. Estas disposições, tomadas no II Congresso Internacional de Microbiologia, realizado em Londres, em 1936, foram aceitas por todos e o próprio Bergey as menciona, no início de seu Manual (5).

Já na prática se evidencia o conflito que ha entre PHYTOMONAS flagelados e PHYTOMONAS bactérias. Procurando-se na literatura trabalho sobre bactérias parasitas da mandioca, lá achamos «Pesquisas sobre o PHYTOMONAS FRANÇAIS» (3), por H. B. Aragão, onde o autor discute a

ocorrência do flagelado assim chamado, na mandioca. «Não causa distúrbios no hospedeiro, vivendo em seu latex» (3). No entanto, devido à confusão trazida pela nomenclatura de Bergey, o simples nome do organismo pode ser tomado como um flagelado ou como uma bactéria, os quais ocupam posições perfeitamente distintas, dentro dos Protistas.

Por todas estas considerações e devido a bactéria em estudo ser um bacilo mono ou lofotríquio, resolvemos chama-la BACTERIUM MANIHOTUS n.sp., adotando a nomenclatura de Smith.

O nome BACILLUS MANIHOTUS Arth & Bert. não é aplicável ao organismo estudado devido seu característico, dado na diagnose da espécie, de possuir Gram positivo e de não se enquadrar nos caracteres do gênero BACILLUS. Como a descrição original foi muito incompleta, é possível, contudo, tratar-se da mesma espécie, motivo pelo qual conservamos o nome específico.

**TRANSMISSIBILIDADE** — Constatamos que o germen causador da doença se transmite, na natureza, por dois modos: por estacas doentes e de planta a planta, por gotas de água carregadas de bactéria causadora da doença. O primeiro modo de transmissão foi verificado plantando-se estacas de plantas doentes, tendo-se obtido cerca de 50% de plantas doentes. A doença se manifestou, nestes casos, muito cedo ou só quando a planta já estava em pleno desenvolvimento. No 1º. caso, as mudas morreram, secando sem brotar outra vez, pois ainda não tinham formado raízes. No 2º. caso, as ramas mais velhas murchavam, as novas que saíam por sua vez murchavam também, como já foi descrito linhas atrás.

O 2º. modo de transmissão verificado foi por meio de gotas de água cheias da bactéria parasita. Suspeitamos desse modo de transmissão por acharmos no campo, em cultura atacada, em dias chuvosos, folhas de mandioca com exsudações de latex no limbo e no peciolo (fig. 3) de plantas que não apresentavam doença em nenhuma outra parte. Enraizamos, então, algumas mudas em caixotes pequenos e, quando mostravam brotação abundante, pulverizamos 2 delas com uma suspensão, em água esterilizada, da bactéria patogênica, tirada de uma cultura forte (40 R). Outras duas plantas foram inoculadas com a mesma suspensão, em feridas no caule, para servirem de testemunha da patogenicidade da cultura. Vinte dias depois (de 21/10/1940 a 10/11/1940) as duas plantas testemunhas mostravam corrimento e início de murcha das folhas e 5 dias mais tarde (16/11/1940), uma das plantas inoculadas por aspersão mostrava uma folha mur-

chando, com exsudação de latex no limbo. Alguns dias mais tarde a doença se manifestava na rama que suportava esta folha. Todas as plantas foram mantidas em ambiente saturado de umidade, em estufa com chuveiro fino, por 7 dias.

### Combate à bacteriose da mandioca

Com os dados obtidos no estudo da etiologia desta doença, tornou-se possível a dedução rigorosa de algumas práticas que podem ser postas em vigor pelos agricultores, em seu combate. São as seguintes:

**EXCLUSÃO:** Devido certas regiões que cultivam a mandioca em Minas ainda não possuírem a doença, e mesmo certas fazendas dentro de regiões infetadas ainda estarem livres deste mal, é de toda conveniência os lavradores terem o máximo cuidado na procedência das ramas que venham a usar para plantio. Vimos como a doença se transmite por meio de estacas doentes. Um mandiocal com plantas doentes deve ser condenado, para o fornecimento de ramas, tanto mais que a nova brotação de uma planta doente pode não apresentar sintomas da doença por muito tempo e, no entanto, está infetada. Aconselhamos às autoridades fitossanitárias do país a proibirem o transito de ramas de mandioca que não forem acompanhadas de um certificado de sanidade, o qual poderá ser passado pelo agrônomo regional da Circunscrição. Os lugares reconhecidamente infectados, deveriam ser interditados, na exportação de rama para plantio. Da mesma forma, o fazendeiro deverá fazer polícia sanitária em sua fazenda, não adquirindo ramas de mandiocais atacados.

Um meio que poderá ser usado para se evitar o plantio de estacas doentes é trata-las com água quente, a temperatura tal que mate a bactéria, sem prejuízo da rama. Como vimos linhas atrás, a bactéria não suporta 15 a mais minutos de exposição, a 55°C. e a rama da mandioca suporta esta temperatura, pelo menos até 25 minutos, comquanto até 75% das ramas também morram (11). É possível, pois, que a temperaturas mais baixas e exposições maiores, de modo a bactéria morrer sem a rama nada sofrer, consiga-se fazer um tratamento eficiente, evitando-se assim plantar ramas com a bactéria. Contudo, somente experiências com o tratamento de ramas infeccionadas é que darão o real valor desta prática.

**ERRADICAÇÃO DAS PLANTAS DOENTES:** Vimos que a doença se transmite da planta doente à planta sã, bastando

para isto, que produza exsudações de latex ricas da bactéria patogênica, o que sempre acontece, e que haja alguns dias de chuva fina. É mesmo possível que muito orvalho de manhã, seguido de dias nublados, permitam este tipo de transmissão. Os insetos que pululam nos mandiocais provavelmente transmitem também a doença, como o fazem em outras doenças já melhor conhecidas. É aconselhável portanto, que se arranque e queime ou se enterre a mais de 40 cms. todas as plantas que se manifestarem doentes, no mandiocal. Acreditamos mesmo ser esta uma prática de prontos resultados, principalmente se feita logo que a doença apareça, pois somente sob condições muito favoráveis de umidade, como vimos, é que a doença se transmite, parecendo que os insectos não são muito responsáveis pela disseminação da bactéria. Contudo, não possuímos dados a este respeito.

**PROTEÇÃO DIRETA DA PLANTA :** Este método é baseado na pulverização da planta sujeita à doença, o que seria applicavel no caso da bacteriose da mandioca, como medida preventiva, desde que a bactéria se transmite externamente, de planta a planta. Contudo, o custo das pulverizações não compensaria, provavelmente. Todavia, é um ponto digno de experimentação.

**VARIEDADES RESISTENTES OU IMUNES À DOENÇA**—O emprego de uma variedade resistente na cultura da mandioca e com boas qualidades culturais é o meio mais exato de se combater esta doença. Uma variedade que não seja atacada pela doença, mesmo quando inoculada em doses maciças, servirá de ponto de partida para a obtenção de outras variedades com este característico e de boas qualidades culturais. Para isto era necessário estudar-se a resistência do maior número possível de variedades de mandioca do Estado e de outros pontos do país e aproveitar aquelas que se mostrassem resistentes, para serem distribuidas nas regiões infestadas pela doença; ou, primeiramente melhora-las, por meio de cruzamentos com outras de boas qualidades culturais.

Conquanto o processo de inocular a variedade com grandes doses da bactéria patogênica pareça drástico, é contudo o mais conveniente, pois a resistência de uma planta baseada num quimiotropismo negativo é a melhor proteção que esta planta pode ter. A exigência de um quimiotropismo positivo, por parte do parasito, para seu desenvolvimento com sucesso no hospedeiro é o principal fator que restringe o número de hospedeiros para um determinado parasito. O BACTERIUM MANIHOTUS provavelmente só ataca a mandioca

e plantas com ela relacionadas, como outras espécies do genero MANIHOT. Dentre as variedades de mandioca, é possível achar-se alguma mais resistente ou mesmo imune ao parasito, desde que não ofereça um meio próprio para o desenvolvimento da bactéria, o que talvez não seja muito difícil, dadas as exigências da bactéria em relação à composição do meio de cultura.

Os seguintes quadros mostram os dados obtidos em nossos trabalhos de inoculações, tendo-se inoculado 2 plantas de cada variedade, pois as culturas inoculadas sempre mostraram 100% de patogenicidade. Se as duas plantas inoculadas não contraíssem a doença, a variedade seria então digna de maiores estudos, repetindo-se a inoculação, em maior número de plantas. Os nomes das variedades são locais; e algumas repetidas, de acordo com a procedência, foram consideradas como variedades diferentes, para maior controle.

### Variedades de Belo Horizonte — Horto Florestal

Cultura usada: 1OR

Nº	Nome	Data da inoc.	Data verificada do aparecimento		Dias de incubação	N.º de Pl.
			Do corrimento	Da murcha		
1	Sabará					
2	Saracura	18-6-1940	8-7-1940	15-7-1940	20	2
3	Serrana	18-6-1940	29-7-1940		41	1
4	Coscoró	18-6-1940	8-7-1940	29-7-1940	20	2
5	1-32-39 (a)					
6	Quiri-quiri	18-6-1940	8-7-1940	15-7-1940	20	1
7	Quenta-Fogo	18-6-1940	15-7-1940	22-7-1940	27	1
8	Pão do Chile	18-6-1940	15-7-1940	19-7-1940	27	1
9	Joaquinzinha	18-6-1940	8-7-1940		20	2
10	Goianinha	18-6-1940	8-7-1940	15-7-1940	20	2
11	Matranha	18-6-1940	8-7-1940	29-7-1940	20	1
12	Dente de Ouro	18-6-1940	8-7-1940	22-7-1940	20	2
13	Castelhão	18-6-1940	8-7-1940	15-7-1940	20	2
14	Chitinha	18-6-1940	8-7-1940	15-7-1940	20	2
15	Mulatinha	18-6-1940	8-7-1940	15-7-1940	20	2
16	1-33-39 (b)					
17	Amarela	18-6-1940	8-7-1940	15-7-1940	20	2
18	Vassourinha					
19	Guiada	18-6-1940	8-7-1940	15-7-1940	20	2

Nº	Nome	Data da Inoc.	Data verificada do aparecimento		Dias de incubação	N.º de Pl.
			Do crescimento	Da murcha		
<b>Variedades da ESAV — Viçosa</b>						
Culturas usadas; 10, 40R e 10R.						
20	Vassourinha	23-5-1940	8-6-1940	11-6-1940	16	2
21	Mata Fome	30-10-1940	10-12-1940		41	1
22	Chitinha	18-6-1940	8-7-1940		20	1
23	Pão do Chile	30-10-1940	10-12-1940		41	2
24	Sabará	18-6-1940	8-7-1940	15-7-1940	20	2
25	Brava do Mato	18-6-1940	cicatrisado		—	2
26	Cinco minutos de rama escura	30-10-1940	10-12-1940		40	2

### Variedade de Campos — Estado do Rio Janeiro

Cultura usada: 20R						
27	S/ nome	15-7-1940	29-7-1940		14	2

### Variedades de Campo Grande — Estado de Mato Grosso

Cultura usada 40R						
27	Rama Roxa	30-10-1940	cicatrisado		—	1
29	Amarela	30-10-1940	10-12-1940		42	1
30	Menina	30-10-1940	cicatrisados		—	2
31	Salsa	30-10-1940	10-12-1940 (1)			1
32	Paulista	30-10-1940	cicatrisado		—	1

### Variedade de Aquidauana — Estado de Mato Grosso

Cultura usada: 40R						
33	Cambi	30-10-1940	10-12-1940 (1)			1

### Variedades de Montes Claros

Cultura usada: 40R						
34	Duas caras	30-10-1940		10-12-1940	40	2
35	Castelona	30-10-1940	10-12-1940	10-12-1940	40	2
36	Sabará	30-10-1940	10-12-1940		40 a -	1
37	Serrana	30-10-1940	10-12-1940	10-12-1940	40 a -	2
38	Pitangui	30-10-1940	10-12-1940	10-12-1940	40	1
39	Aipim Branco	30-10-1940	10-12-1940	10-12-1940	40	2
40	Perequita	30-10-1940	10-12-1940 (1)		40	2
41	Castelinha	30-10-1940	10-12-1940	10-12-1940	40 a -	2
42	Congonha	30-10-1940	10-12-1940 (1)		40 a -	1
43	Lagoa	30-10-1940	10-12-1940	10-12-1940	40 a -	2
44	Curvelinha	30-10-1940		10-12-1940	40	1
45	Mulatinha Branca	30-10-1940	10-12-1940		40	1
46	Pretinha	30-10-1940	10-12-1940	10-12-1940	40 a -	2
47	Mata Rato	30-10-1940	10-12-1940	10-12-1940	40 a -	2

Nº Nome	Data da Inoc.	Data verificada de aparecimento		Dias de incubação	N.º de Pl.
		Do corrimento	Da murcha		
<b>Variedades de S. Domingos do Prata</b>					
Cultura usada: 4OR					
48 Preta	31-10-1940	10-12-1940	10-12-1940	40 a -	2
49 Rouxinha	31-10-1940	10-12-1940	10-12-1940	40 a -	2
50 Branca	31-10-1940	10-12-1940		40	1
51 Sertaneja	31-10-1946	10-12-1940	10-12-1940	40 a -	2
52 Brava de Água	31-10-1940	10-12-1940	10-12-1940	40 a -	2
53 Amarela	31-10-1940	10-12-1940		40	1

### Variedades de Resplendor

Cultura usada: 4OR					
54 Gigante	31-10-1940	10-12-1940 (1)	10-12-1940	40 a -	2
55 Margosinha Mansa	31-10-1940	10-12-1940 (1)	10-12-1940	40 a -	2
56 Alecrim	31-10-1940	10-12-1940 (1)	10-12-1940	40 a -	2
57 Rosa	30-10-1940	10-12-1940 (1)		-de 40	1
58 Sinhá Está na Mesa	30-10-1940	10-12-1940		40	1
59 Manteiga Mansa	31-10-1940	10-12-1940 (1)		-de 40	1
60 Amarela	31-10-1940	10-12-1940 (1)		-de 40	2
61 Pão do Chile	31-10-1940	10-12-1940 (1)		-de 40	2
62 Saracura	31-10-1940	cicatrizado		—	2
63 Vara de Canôa	30-10-1940	10-12-1940 (1)		-de 40	2
64 Espalha Rama	30-10-1940	10-12-1940 (1)		-de 40	1
65 Cambrainha Brava	30-10-1940	10-12-1940 (1)		-de 40	2
66 Armônica	31-10-1940		10-12-1940	40	2
67 Seis meses mansa	31-10-1940	10-12-1940	10-12-1940	40 a -	2
68 Mata Formiga	31-10-1940	10-12-1940 (1)		-de 40	1
69 Sinhá Está na Mesa (proc. Nestor Ferreira)	30-10-1940	10-12-1940	10-12-1940	40 a -	2
70 Número Vinte e Cinco	30-10-1940	10-12-1940 (1)		-de 40	2

(1)—As ramas inoculadas deram corrimento e estavam secas, na data da verificação.

Além destas variedades, estamos também estudando a resistência de outras, provenientes de: Itajubá, Carangola, Juiz de Fora, Serviço de Defesa Sanitária Vegetal (Estado do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul), Machado, Divinópolis, Alto Rio Doce, Teófilo Otoni e São Francisco. Destas, ainda não apuramos dados de inoculações.

Vê-se que neste primeiro grupo de 70 variedades inoculadas, apenas as seguintes suportaram bem as primeiras inoculações:

- |                     |                           |
|---------------------|---------------------------|
| N. 25—Brava do Mato | —Viçosa—Minas Gerais      |
| N. 28—Rama Roxa     | —Campo Grande—Mato Grosso |
| N. 30—Menina        | —Campo Grande—Mato Grosso |
| N. 32—Paulista      | —Campo Grande—Mato Grosso |
| N. 62—Saracura      | —Resplendor—Minas Gerais. |

Em 1941, vamos fazer 2ª. série de inoculações nestas variedades, usando-se o maior número possível de plantas. A n.º. 25 é sem valor cultural, quasi não produzindo raízes tuberosas. É mesmo uma espécie diferente, *MANIHOT DIGITIFOLIA* Pohl (17). As outras 4 variedades são boas, principalmente a de n.º. 32, pela boa produção e qualidade das raízes, segundo referências de seu lugar de origem.

### Agradecimentos

Terminando, queremos aqui registrar os nossos agradecimentos aos snrs. Prefeitos Municipais de Itajubá, Montes Claros, Resplendor, S. Domingos do Prata, Carangola, Juiz de Fora, Machado, Divinópolis, Alto Rio Doce, Téoilo Otoni e São Francisco, assim como aos drs. Idelfonso Ferreira Correia, Carlos de Almeida, Magarino Torres, Renato Ribeiro G. Carneiro e J. Soares de Gouvêa, pelos auxílios materiais que têm proporcionado aos nossos trabalhos.

### SUMMARY

The authors describe the disease named «Bacteriose» or «Leiteira» (Milk Disease) of the Cassava *Manihot utilisima* Pohl, *M. aipi* Pohl). It is a quite serious and very much disseminated disease, caused by *BACTERIUM MANIHOTUS* n. sp. This organism grows well only in special medium, made with cassava shoots. Several isolations were made from diseased plants and 140 inoculations with pure cultures gave 77% positive results.—The organism was studied in pure cultures obtained from isolations and reisolations. The following characteristics are described: size 1,0—4,6 X 0,4-1,2 micra; bacilli lopho or monotrichia; Gram negative; gelatin liquified, giving sacciform type, in 3 to 4 days; nitrates are reduced to nitrites; no hydrolisation of starch; no production of indol; capsule absent; no acids from lactose, manite, salicine, amigdaline and inosite. Other sugars, like xilose, arabinose, levulose, maltose, glucose and dextrine are not attacked generally, but some tests gave positive results. Galactose gave 71% positive results.

The bacteria is killed at 77.5° C., when exposed 10 minutes.

The organism is named as above, BACTERIUM MANIHOTUS n. sp., since it has a bacillar form and polar cilia. The nomenclature of Smith is used instead of Bergey's, with which the authors don't agree, due to two reasons: (1) — The name PHYTOMONAS given by Bergey in 1923 to the bacteria of this type was used before by Donovan in 1909, to describe the forms of LEPTOMONAS and LEISHMANIA which live in the latex of plants. The best authorities of these groups of flagellate accept this terminology. PHYTOMONAS bacteria is homonymous to PHYTOMONAS flagellate and this one is an older name. According to the rules of nomenclature, accepted at the II International Congress of Microbiology, held in London, in 1936, «generic homonyms are not permitted in the group Protista.» (2) — As it was shown by Burkholder (15) the group PHYTOMONAS, created by Bergey, is an artificial one, so the name BACTERIUM, given by Cohn in 1872 to the bacilli with polar cilia is as good as PHYTOMONAS and it has the priority.

Experiments were undertaken to study the transmissibility of the organism and two types of spreading the disease were found: by diseased stems, which are commonly used to plant the cassava and by contaminated drops of water.

The disease can be controlled by the following methods: avoiding the planting of contaminated stems which can be the only source of the disease in the regions where it doesn't exist yet; eradicating the diseased plants since the dew and rain drops are able to carry the disease from plant to plant; raising resistant varieties of cassava. 70 varieties were studied and 5 showed some resistance. This work will be continued.

## RESUMO

Os autores descrevem a doença chamada «Bacteriose» ou «Leiteira» da mandioca, que tem causado sensíveis prejuízos a esta cultura, em algumas regiões de Minas e de outros Estados. O organismo causador é o BACTERIUM MANIHOTUS, que os autores consideram nova espécie, por ainda não ter sido descrita.

A bactéria é transmitida facilmente por estacas doentes e também de planta a planta, por meio de gotas d'água carregadas com o organismo. 70 variedades, de diversas procedências, foram estudadas quanto à sua resistência à bacte-

riose, tendo-se mostrado 5 com alguma resistência. Os trabalhos serão continuados em 1941.

A exigência do certificado de sanidade das estacas usadas para plantio, adquiridas fora da fazenda, será um grande passo no controle desta doença. A erradicação dos pés doentes na cultura é outra prática aconselhável, principalmente se feita antes do período chuvoso.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) — BARREIRA, Milton — Mandioca. Aspectos Agrícolas e Econômicos. Min. Agr. Rio de Janeiro Publ. n. 1, serie Tub. e Raizes Aliment., 1940.
- (2) — GRANER, E. A. — Contribuição para o estudo citológico da mandioca, 1935, 27 pags.
- (3) — ARAGÃO, H. B. — Pesquisas sobre o PHYTOMONAS FRANÇAII. Mem. Inst. Osw. Cruz 25(4)299 : 1931.
- (4) — WENYON, C. M. — Protozoology, 1926.
- (5) — BERGEY, D. H. et alt. — Bergey's 'Manual of Determinative Bacteriology, 1939, pags. 142, 419 e 68.
- (6) — ELLIOT — Manual of Bacterial Plant Pathogens, 1930, pag. 61
- (7) — COLON, J. — A Mandioca: seu cultivo e aproveitamento. União Pan-Americana bol. 49 e 50, Maio e Junho de 1933.
- (8) — BRANDÃO SOBRº., Julio — Mandioca, 1916.
- (9) — Secr. Agr. Rio Grande do Sul — A Bacteriose da Mandioca e do Aipim.
- (10) — Curzi, M. — De Fungis et Morbis Africanis, Boll. della R. Staz. di Patol. Veg. Roma, 14(1)183 : 1934
- (11) — COSTA, A. S. e NORMANHA, E. — Nota sobre tratamento de Manivas de mandioca em água aquecida a diversas temperaturas. Rev. de Agricultura, Piracicaba. 14(5-6)227—230 : 1939.
- (12) — DRUMMOND GONÇALVES, R. A Bacteriose da mandioca no Vale do Paraíba. O Biológico, 5(6)117, 118 : 1939.

- (13) — BONDAR, G. — Moléstia bacteriana da mandioca. Bol. Agric. S. Paulo, 16(6)513-524 : 1915.
- (14) — CASTRO, J. B., DRUMMOND GONÇALVES, R. e NORMANHA, E. S. — Bacteriose ou Água Quente da Mandioca. Secret. Agric. S. Paulo.
- (15) — BURKHOLDER, W. H. — The Genus *Phytomonas*. Phytopathology 20(1)1-24 : 1930.
- (16) — SMITH, E. F. — Bacteria in Relation to plant diseases, vol. I, pag. 191, 1905.
- (17) — POHL, J. F. — Plantarum Brasiliae, I, 1827 pags. 29 e 32.
- (18) — DE CANDOLLE, Prodrômus, XV post, pag. 1057.
- (19) — CAMPESE, O. — Culture Tropicale e Lavorazione dei prodotti, 1939.
- (20) — Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística — Anuário Estatístico do Brasil, ano IV, 1938.
- (21) — Quadros Estatísticos — Diretoria da Estatística, Min. da Fazenda, Rio de Janeiro. Nº. 2. 1938.
- (22) — Recenseamento do Brasil (1 Set. 1920). Diretoria Geral de Estatística, Min. da Agricultura. Vol. III, 2ª parte, pag. 186 - 199.
- (23) — BONDAR, G. — Uma nova moléstia bacteriana das hastes da mandioca. Chacaras e Quintais, 5(4)15-18—1912.

**Errata:**

A citação (16) da pag. 280, refere-se a Hoehne, F. C. Botânica e Agricultura no Brasil (Século XVI) pg. 77 1937.

## AGRICULTOR :



Evite a entrada de doenças e pragas em suas culturas, exigindo certificados de sanidade das sementes, mudas e estacas que for adquirir.