

11

VIRUS NA CÉLULA VEGETAL

OBSERVAÇÕES AO MICROSCÓPIO ELECTRÓNICO

I—VIRUS Y DA BATATEIRA

por

J. F. DAVID FERREIRA

e

M. DE LOURDES V. BORGES



SEPARATA DO
BOLETIM DA SOCIEDADE BROTERIANA
Vol. XXXII (2.^a série)

DEZEMBRO

1958

VIRUS NA CÉLULA VEGETAL

OBSERVAÇÕES AO MICROSCÓPIO ELECTRÓNICO

I — VIRUS Y DA BATATEIRA ⁽¹⁾

por

J. F. DAVID FERREIRA

Laboratório de Microscopia Electrónica Calouste Gulbenkian ⁽²⁾

e

M. DE LOURDES V. BORGES

Estação Agronómica Nacional

INTRODUÇÃO E TÉCNICAS

A partir de 1953, graças aos progressos realizados pelas técnicas histológicas da microscopia electrónica, abriram-se novas perspectivas no estudo dos problemas relacionados com os virus.

A descoberta de uma nova técnica de fixação (PALADE, 1952), as inovações introduzidas na técnica da inclusão (NEWMANN *et al.*, 1949) e da microtomia (LATT & HARTMANN, 1950; PORTER & BLUM, 1953; SJOSTRAND, 1953) foram a base desses progressos.

O emprego de cortes ultrafinos forneceu desde então dados importantes no que diz respeito aos virus dos animais, mas o mesmo não aconteceu com os virus das plantas. Quais as razões desta diferença? Provavelmente, a mais importante, é que os virus das plantas, pelas suas dimensões e constituição, têm, mesmo depois de fixados pelo ácido ósmico, um fraco poder de dispersar os electrões, e a sua imagem confunde-se, nos cortes, com as estruturas em que se localizam. Por este motivo, diversos autores têm utilizado a metalização dos cortes finos, quando pretendem tornar visíveis as partículas de virus. Assim proce-

⁽¹⁾ Trabalho apresentado ao XXIV Congresso Luso-Espanhol para o Progresso das Ciências, Madrid, Novembro de 1958.

⁽²⁾ Instituto de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina de Lisboa.

deram, entre outros BLACK *et al.* 1950, com o Virus do Mosaico do Tabaco, em *Nicotiana Tabacum* L. e SMITH (1953, 1956) com o Virus do Emangericado do Tomateiro em *Datura stramonium* L. e com o Virus do Mosaico Amarelo do Nabo em *Brassica chinensis* L.

Convencidos como WILLIAMS (1957) «that work devoted to investigating the formation of virus within plant cells has not been pushed with the avidity that it deserves», resolvemos empreender algumas tentativas no sentido de observar os virus das plantas com o emprego da técnica de cortes ultrafinos, sem metalização.

Com esse objectivo, fixaram-se durante uma a duas horas, em ácido ósmico a 1 % tamponado a pH 7,2 (PALADE, 1952), fragmentos de folhas de *Datura Metel* L. isentas de Virus e infectadas com o Virus Y da Batateira (Potato Virus Y). Depois de lavados e desidratados, os fragmentos foram incluídos em metacrilato de n-butilo (NEWMANN, 1949). Os cortes feitos no ultra-micrótomo de PORTER-BLUM examinaram-se ao microscópio RCA EMU 3C.

OBSERVAÇÕES E CONCLUSÕES

O estudo das zonas cloróticas das plantas infectadas mostrou-nos que, ao lado de zonas em que a estrutura da célula está aparentemente bem conservada, se observam regiões em que a estrutura celular se encontra completamente desorganizada. Nessas zonas notámos, em grande número, umas formações filamentosas (Est. I e II) pouco contrastadas, de comprimento muito variável de 527,3 m μ a 150,6 m μ e de largura constante de 9,4 m μ .

Identificámos estas formações com o Virus Y da Batateira, por duas razões:

- 1 — Estarem presentes nas plantas infectadas com este Virus e nunca se observarem em plantas da mesma espécie não infectadas.
- 2 — Corresponderem pelas suas características às partículas de Virus Y quando se observam em suspensões purificadas após metalização (BODE e PAUL, 1956).

A grande variabilidade de comprimento das partículas explica-se não só pela sua variabilidade natural (BODE e PAUL, 1956), mas ainda pelo facto de serem intersectadas pelos cortes não se observando em todo o seu comprimento na grande maioria dos casos.

Os valores obtidos para largura 9,4 m μ são inferiores aos indicados para este Virus (Quadro I) pela técnica de metali-

QUADRO I

Dimensões das partículas do Virus Y da Batateira

Autores	Comprimento	Largura
BODE e PAUL . . .	759 m μ	12 m μ
BAWDEN e NIXON .	Variável	10 m μ
SCHRAMM	700 m μ	13 m μ
Neste trabalho. . .	Muito variável	9,4 m μ

zação, em partículas isoladas, mas isso pode explicar-se pelo aumento devido à metalização. Aproximam-se, contudo, muito dos valores obtidos por BAWDEN e NIXON.

Com o emprego da técnica de cortes ultra-finos, e tendo em relação à técnica habitual, unicamente aumentado o tempo de exposição, na obtenção das fotografias ao microscópio, conseguimos observar imagens do Virus Y da Batateira, nas zonas cloróticas de folhas de *Datura Metel* L.

Estes resultados permitem-nos encarar com mais optimismo experiências em curso com a finalidade de estudar as relações célula-virus nos tecidos vegetais.

SUMMARY

Potato virus Y particles in leaf cells of *Datura Metel* L. have been detected through the electron microscope in thin sections, without shadow.

BIBLIOGRAFIA

BAWDEN, F. C. & NIXON, H. L.

- 1951 The application of electron microscopy to the study of plant viruses in impurified plant extracts. *J. gen. Microbiol.* **5**: 104-109.

BLACK, L. M., MORGAN, C. & WYCKOFF, R. W. G.

- 1950 Visualization of tobacco mosaic virus within infected cells. *Proc. Soc. exp. Biol.* **73**: 119-122.

BODE, O. & PAUL, H. L.

- 1956 Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Kartoffelviren. III Vermessungen an Teilchen des Kartoffel-Y-Virus. *Phytopath. Z.* **27**: 107-112.

LATTA, H. & HARTMANN, J. F.

- 1950 Use of a glass edge in thin sectioning for electron microscopy. *Proc. Soc. exp. Biol.* **74**: 435-439.

NEWMANN, S. B., BORYSKO, E. & SWERDLOW, M.

- 1949 New sectioning technique of light and electron microscopy. *Science*, **110**: 66-68.

PALADE, G. E.

- 1952 A study of fixation for electron microscopy. *J. exp. Med.* **95**: 285-298.

PORTER, K. R. & BLUM, J.

- 1953 A study in microtomy for electron microscopy. *Anat. Rec.* **117**: 685-710.

SCHRAMM, G.

- 1952 Über die Grosse und Gestalt des Kartoffel-Y-Virus. *Z. Naturf.* **7**: 513-518 (Ref. BODE & PAUL, opus cit.).

SJÖSTRAND, F. S.

- 1953 A new microtome for ultrathin sectioning for high resolution Electron Microscopy. *Experientia*, **9**: 114-115.

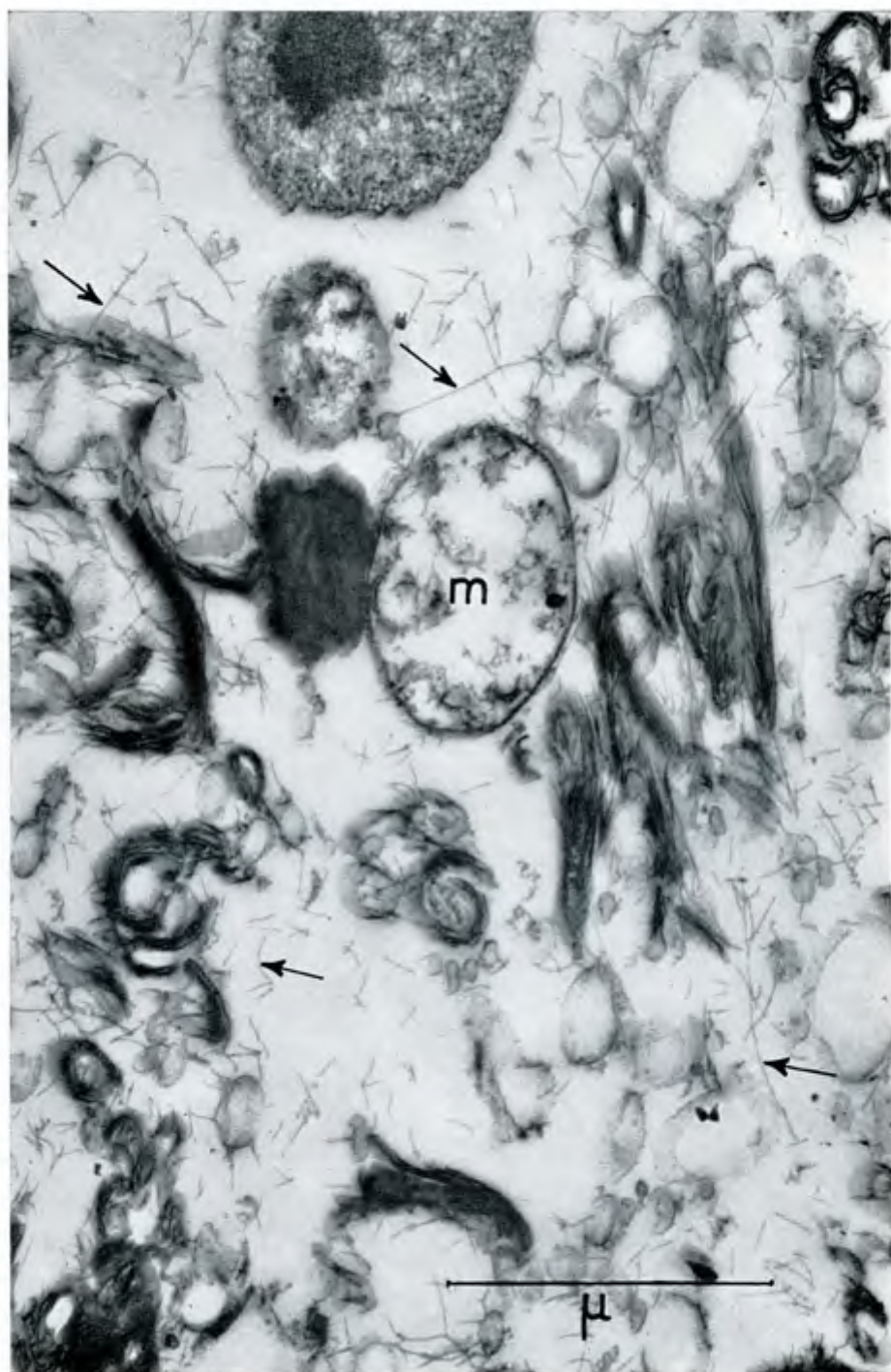
SMITH, K. M.

- 1953 A note on the observation of viruses in the cells of infected plants. *Biochim. biophys. Acta* **10**: 210-214.

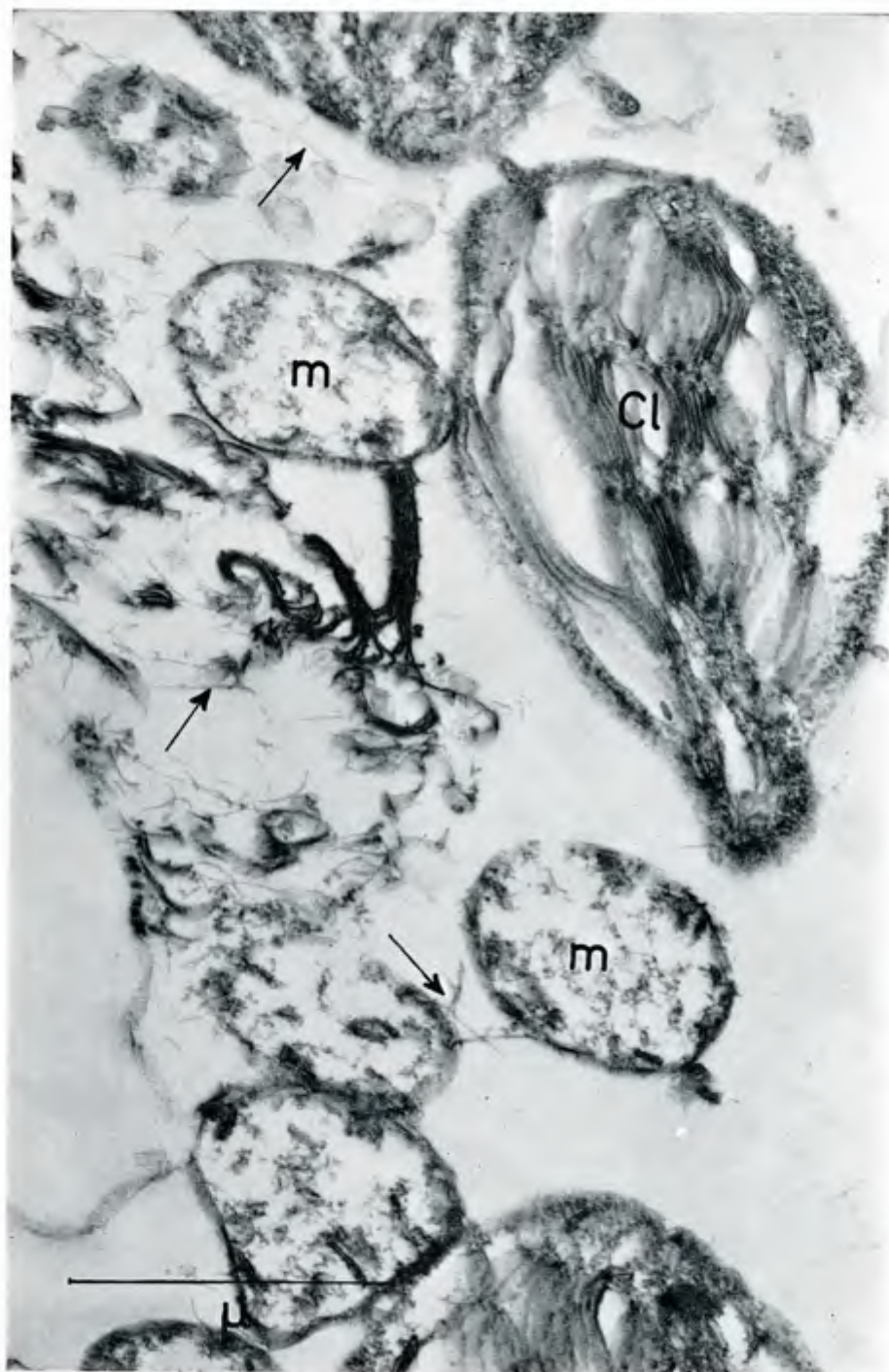
- 1956 Apparent crystalization of tomato bushy stunt virus in the cells of infected plants. *Virology* **2**: 706-709.

WILLIAMS, R. C.

- 1957 The role of the electron microscope in virus research. *Int. Rev. Cytology* **6**: 129-191.



Aspecto parcial de uma célula de *Datura Metel* L. infectada com o Virus Y da Batateira.
Partículas do Virus dispersas no citoplasma.
m — mitocôndria. $\times 44\,250$



Aspecto parcial de uma célula de *Datura Metel* L. infectada com o Virus Y da Batateira.

Notar as partículas do Virus dispersas no citoplasma.

m — mitocôndria; Cl — cloroplastidio. $\times 44\ 250$