

SEPARATA DE
PORTUGALIAE ACTA BIOLOGICA
Série A — Vol. VI — N.º 1 — págs. 18 a 22
LISBOA — 1959

VÍRUS NA CÉLULA VEGETAL. OBSERVAÇÕES AO MICROSCÓPIO ELECTRÓNICO

II — VÍRUS X DA BATATEIRA

por

MARIA DE LOURDES V. BORGES
(Estação Agronómica Nacional)

e

J. F. DAVID FERREIRA
(Laboratório de Microscopia Electrónica Calouste Gulbenkian)

VÍRUS NA CÉLULA VEGETAL. OBSERVAÇÕES AO MICROSCÓPIO ELECTRÓNICO

II — VÍRUS X DA BATATEIRA

por

MARIA DE LOURDES V. BORGES

(Estação Agronómica Nacional)

e

J. F. DAVID FERREIRA

(Laboratório de Microscopia Electrónica Calouste Gulbenkian)⁽¹⁾

Recebido em Junho, 16, 1959.

INTRODUÇÃO E TÉCNICAS

Dado o interesse das relações Vírus-Célula e o pouco que ainda se conhece sobre o assunto, dedicamos a nossa atenção à observação ao Microscópio Electrónico de cortes finos, não metalizados, de folhas de plantas infectadas com Vírus. Tinha-se como finalidade aperfeiçoar uma técnica que nos permitisse observar o Vírus na própria célula, para poder determinar a sua disposição e localização.

Assim, em trabalho anterior (FERREIRA e BORGES, 1958) apresentamos o resultado da observação do Vírus Y da Batateira (Potato Virus Y) em folhas de *Datura Metel* L. Na presente nota comunicam-se as observações feitas em folhas da mesma espécie infectadas com o Vírus X da Batateira (Potato Virus X), em comparação com folhas de plantas sãs.

As plantas infectadas apresentavam os sintomas característicos do Vírus X da Batateira neste hospedeiro, ou seja, mosaico de contrastes pouco marcados e marginado das nervuras. Fixaram-se fragmentos de folhas, aproximadamente quadrados, com cerca de 1 mm de lado, em ácido ósmico a 1% tamponado a pH 7,2 (PALADE, 1952). Após lavagem e desidratação fez-se a inclusão em metacrilato de n butilo (NEWMANN et al., 1949).

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

Os cortes feitos no ultra-microtomo de Porter-Blum examinaram-se ao microscópio RCA EMU 3C.

As fotografias apresentadas dizem respeito a material inoculado em 8-11-1958 e fixado em 10-12-1958.

OBSERVAÇÕES E CONCLUSÕES

Nos cortes das folhas das plantas infectadas notamos, quase sempre junto dos cloroplastídios, inclusões de cerca de $2,7\mu$ de comprimento, tendo na largura máxima $1,2\mu$. Estas inclusões (fig. 1 e 3) que no corte aparecem geralmente fusiformes, são constituídas por filamentos ordenados paralelamente e dispostos em agrupamentos seriados ao longo da inclusão. O comprimento de cada uma das séries de agrupamentos varia entre $320m\mu$ e $620m\mu$. A largura de cada um dos filamentos que os constitui é de aproximadamente $15m\mu$. Embora não tenha sido possível fazer uma medição rigorosa os valores obtidos para as dimensões das partículas caem dentro dos limites dos valores obtidos em medições de partículas isoladas de diversas estirpes do Vírus X (TAKAHASHI e RAWLINS, 1946, $560-600m\mu$; BODE e KÖHLER, 1952, $560-580m\mu$ e $600-620m\mu$; BODE e PAUL, 1955, $500-525m\mu$).

Nos cortes feitos em folhas de plantas sãs, da espécie em estudo, nunca se observou qualquer formação comparável. Consideramos, portanto, estas inclusões como constituídas por partículas de Vírus X.

A comparação das partículas que formam as inclusões com as que se notam dispersas irregularmente no citoplasma de algumas células (Fig. 2), parece confirmar esta interpretação. Tanto pelas dimensões como pelo contraste que apresentam, as partículas dispersas no citoplasma são idênticas às que constituem as inclusões.

A disposição das inclusões no interior das células não é sempre idêntica. Ao lado de inclusões que parece terem sido cortadas segundo um plano paralelo à sua maior dimensão (Fig. 1, v_1) observam-se outras em que o corte seguiu uma direcção oblíqua (Fig. 1, v_2). Nas primeiras a disposição das partículas em agrupamentos seriados é mais evidente.

Os agregados das partículas de Vírus, embora bem delimitados, não são separados do citoplasma por qualquer membrana.

SMITH em 1924 foi quem, pela primeira vez, assinalou ao Microscópio Optico a existência de inclusões celulares em Batateiras infectadas com o Vírus X da Batateira. O mesmo autor em 1954, diz ter tido resultados negativos com este mesmo Vírus, quando tentou a observação em cortes finos não metalizados, de folhas de batateira.

As primeiras observações de inclusões ao Microscópio electrónico foram feitas em inclusões destacadas de células infectadas com o Vírus do Mosaico do Tabaco e outros, usando metalização (RUBIO, 1950 e 1956, STEERE e WILLIAMS, 1953).

Mais recentemente, alguns autores (NIXON e SAMPSON, 1954, WEHRMEYER, 1957 e MATSUI, 1958) utilizando o método dos cortes finos, associado ou não com metalização, descreveram inclusões no interior das células de folhas de *Nicotiana tabacum* L. infectadas com o Vírus do Mosaico do Tabaco, em que as partículas têm disposição seriada. No que diz respeito à delimitação da inclusão, verifica-se ser bastante mais nitida nas imagens aqui apresentadas do que nas dadas por NIXON e por MATSUI.

Se existe qualquer relação entre as partículas de Vírus e os diferentes organitos celulares não se pôde pôr em evidência. A disposição dos elementos das células vegetais torna difícil averiguar, pela simples análise dos documentos morfológicos, se a sua localização junto dos cloroplastídios é determinada por qualquer razão de natureza fisiológica.

Na proximidade das partículas de Vírus que constituem as inclusões observámos com frequência agregados de grãos de Palade (Fig. 1 e 2, gP) que parecem mais abundantes nessas zonas do que nas células não infectadas. Facto idêntico foi referido recentemente por MATSUI, em relação ao Vírus do Mosaico do Tabaco.

SUMMARY

Electron microscopy of Potato Virus X in cells of Datura Metel L.

Thin sections of leaves of *Datura Metel* L. infected with Potato Virus X, observed through the Electron Microscope have

shown Virus particles in two types of arrangement: a) intracellular, well delimited inclusions, without a true membrane, with the particles ordered in parallel groups, repeated along the inclusion and; b) loose particles in large numbers, dispersed through the citoplasm.

AGRADECIMENTOS

Agradece-se a D. KARIN DAVID FERREIRA a colaboração técnica dada a este trabalho.

BIBLIOGRAFIA

- BODN, O. & KÖHLER, E.
1952 Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Kartoffel-X- und Tabakmosaik-Viren. *Z. Naturf.* **7**:598-600.
- BODE, O. & PAUL, H. L.
1955 Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Kartoffel-Viren. I Vermessungen an Teilchen des Kartoffel-X-Virus. *Biochim. biophys. Acta* **16**:343-345.
- FERREIRA, J. F. D. & BORGES, M. L. V.
1958 Virus na célula vegetal. Observações ao microscópio electrónico. I-Virus Y da batateira. *Bol. soc. Brot.* **32**:329-332.
- MATSUI, C.
1958 Pathological cytology of tobacco leaf infected with tobacco mosaic virus. *J. Biophys. and Bioch. Cytology* **4**:831-832.
- NEWMANN, S. B., BORYSKO, E. & SWERDLOW, M.
1949 New sectioning technique of light and electron microscopy. *Science* **110**:66-68.
- NIXON, H. L. & SAMPSON, J.
1954 A study of healthy and virus-infected plant cells by thin section methods. *Proc. Int. Conf. Electron Microscopy* 251-255, London.
- PALADE, G. E.
1952 A study of fixation for electron microscopy. *J. exp. Med.* **95**:285-298.
- RUBIO, H.
1950 Estudios sobre inclusiones intracelulares, producidas por virus em las plantas. *Microbiologia Española* **3**:207-231.
1956 Origin and composition of cell inclusions associated with certain tobacco and crucifer viruses. *Phytopathology* **46**:553-556.

SMITH, K. M.

1924 On a curious effect of mosaic disease upon the cells of the potato leaf. *Ann. Bot.* **38**:385-388.

1954 Some aspects of the behaviour of certain viruses in their hosts, and their development in the cell. *Proc. roy. Soc.* **142**:196-207.

STEENE, R. L. & WILLIAMS, R. C.

1953 Identification of crystalline inclusion bodies extracted intact from plant cells infected with tobacco mosaic virus. *Amer. J. Bot.* **40**:81-84

TAKAHASHI, W. N. & RAWLINS, T. E.

1946 An electron microscope study of two strains of potato X Virus. *Amer. J. Bot.* **33**:740-742.

WEHRMEYER, W.

1957 Darstellung und Strukturordnung eines Tabakmosaikvirus-Einschlussskörpers in der Zelle. *Naturwissenschaften* **44**:519-520.

LEGENDAS DAS ESTAMPAS VII, VIII

Fig. 1 — Aspecto parcial de uma célula de folha de *Datura Metel* L. infectada com Vírus X da Batateira.

Em V_1 e V_2 agrupamentos de partículas de vírus, constituindo duas inclusões separadas por grãos de Palade (gP). Em C parte de um cloroplastidio e em m mitocôndria em cujo interior são visíveis as cristas. $\times 31\ 000$.

Fig. 2 — Aspecto parcial de uma célula de *Datura Metel* L. infectada com o Vírus X da Batateira.

Junto de um cloroplastidio (C) partículas de Vírus (V) dispostas irregularmente. Em gP grãos de Palade. $\times 51\ 000$.

Fig. 3 — Partículas de Vírus X da Batateira formando uma inclusão no citoplasma de uma célula de folha de *Datura Metel* L. $\times 75\ 000$.

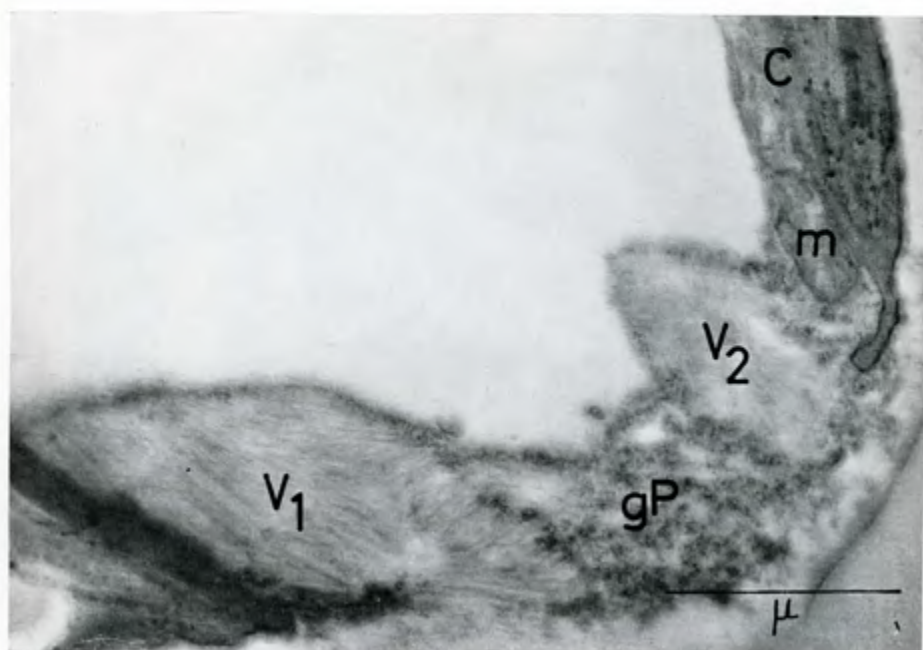


Fig. 1

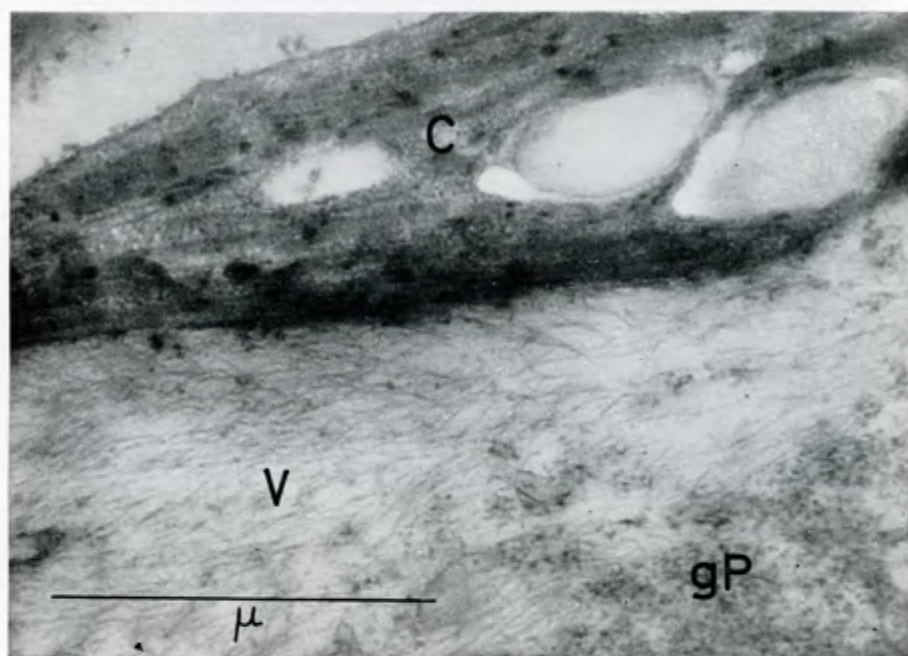


Fig. 2



Fig. 3