

Determinação ao microscópio eletrônico das dimensões das partículas do vírus da poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* Hübner em *Bombyx mori* L.¹ /

M. G. ONGARELLI* D. M. SILVA** I. M. GATTI DE ALMEIDA*

Abstract

A nuclearpolyhedrosis in caterpillars of A. gemmatalis was transmitted to the silkworm, B. mori. This might explain the occurrence of nuclear polyhedrosis in useful insects, acquired from other insects.

An examination of the infected material by the electron microscope revealed the presence of particles of the virus (NPV), both in the nuclear polyhedra and the nucleoplasm of the midgut. Statistical analysis of length and width of the NPV particles for both B. mori and A. Gemmatalis indicated that they are wider in B. mori than in A. gemmatalis.

NPV particles in B. mori nucleoplasm were longer and wider than those found in the polyhedra.

Introdução

Uma virose afetando células de intestino médio de lagartas de *Anticarsia gemmatalis*, procedentes de Rolândia-PR, foi relatada por Gatti et al (4), tratando-se de um vírus causador de poliedrose nuclear (NPV).

Esse NPV isolado de células doentes de *A. gemmatalis* quando inoculado em lagartas de *B. mori*, procedentes de Charqueada-SP, produziu alguns sintomas característicos da poliedrose nuclear do bicho da seda (1).

A fim de investigar a ocorrência do NPV proveniente de *A. gemmatalis* em núcleos de células de intestino médio de *B. mori*, secções histológicas de material infectado foram examinadas ao microscópio eletrônico. Semelhantes secções foram realizadas com lagartas de *A. gemmatalis* também afetadas.

1 Recebido para publicação el 21 de setembro 1979. Os autores agradecem as Indústrias de Seda Rivaben S. A. de Charqueada-SP, pelas lagartas de bicho da seda gentilmente cedidas.

* Bolsista da CNEN-CENA, Caixa Postal 96, Piracicaba, SP. - Brasil.

** Professor Adjunto do Departamento de Química-ESALQ-USP e Responsável pelo Setor de Microscopia Eletrônica-CENA.

Em vista dos diversos valores apresentados na literatura para o NPV, foram medidas partículas encontradas tanto em *A. gemmatalis* como em *B. mori* e aplicados testes estatísticos para observar a influência que o hospedeiro ou condições citológicas podiam ter sobre as dimensões das partículas.

Materiais e métodos

Cristais de NPV de *A. gemmatalis* foram inoculados intrahemocelicamente em lagartas de *B. mori* no 3º estágio de desenvolvimento e quinze dias após essa inoculação apareceram os sintomas da doença.

Porções do intestino médio das lagartas infectadas foram fixadas em glutaraldeído 6,5% e tetróxido de ósmio 2%, ambos em tampão de cacodilato 0,125 M pH 7,2 a 4º C. Após a pré-coloração com acetato de uranila 2% em acetona a 75%, seguiram-se a desidratação em acetona a 90 e 100% e a inclusão em Epon 812, para a obtenção dos blocos para microtomia.

As secções ultrafinas obtidas num ultramicrotomo MT-1 Sorvall, foram coloridas com acetato de uranila a 2,5% e citrato de chumbo (10) e observadas ao microscópio eletrônico Elmiskop IA da Siemens operando a 80.000 V.

Após a obtenção das eletrofotomicrografias foram realizadas medidas de comprimento e largura das par-

tículas de vírus através de um ampliador fotográfico Focomat-II C da Leitz-Wetzlar, utilizando os negativos correspondentes.

Partículas de vírus completas encontradas em núcleos de células de intestino médio de *B. mori* foram comparadas estatisticamente com partículas encontradas em *A. gemmatalis* nas mesmas condições.

Comparam-se também o comprimento e largura das partículas de *B. mori* encontradas nos poliedros e nos respectivos nucleoplasmas.

Resultados

Das eletrofotomicrografias obtidas pôde-se observar a ocorrência de partículas de vírus tanto em poliedros nucleares (Fig. 1A) como em nucleoplasmas (Fig. 1B) de células de intestino médio de *B. mori* afetadas com NPV de *A. gemmatalis*. Essas partículas isoladas ou em feixes (9), apresentaram-se na forma de bastonetes envolvidos ou não por dupla membrana (2).

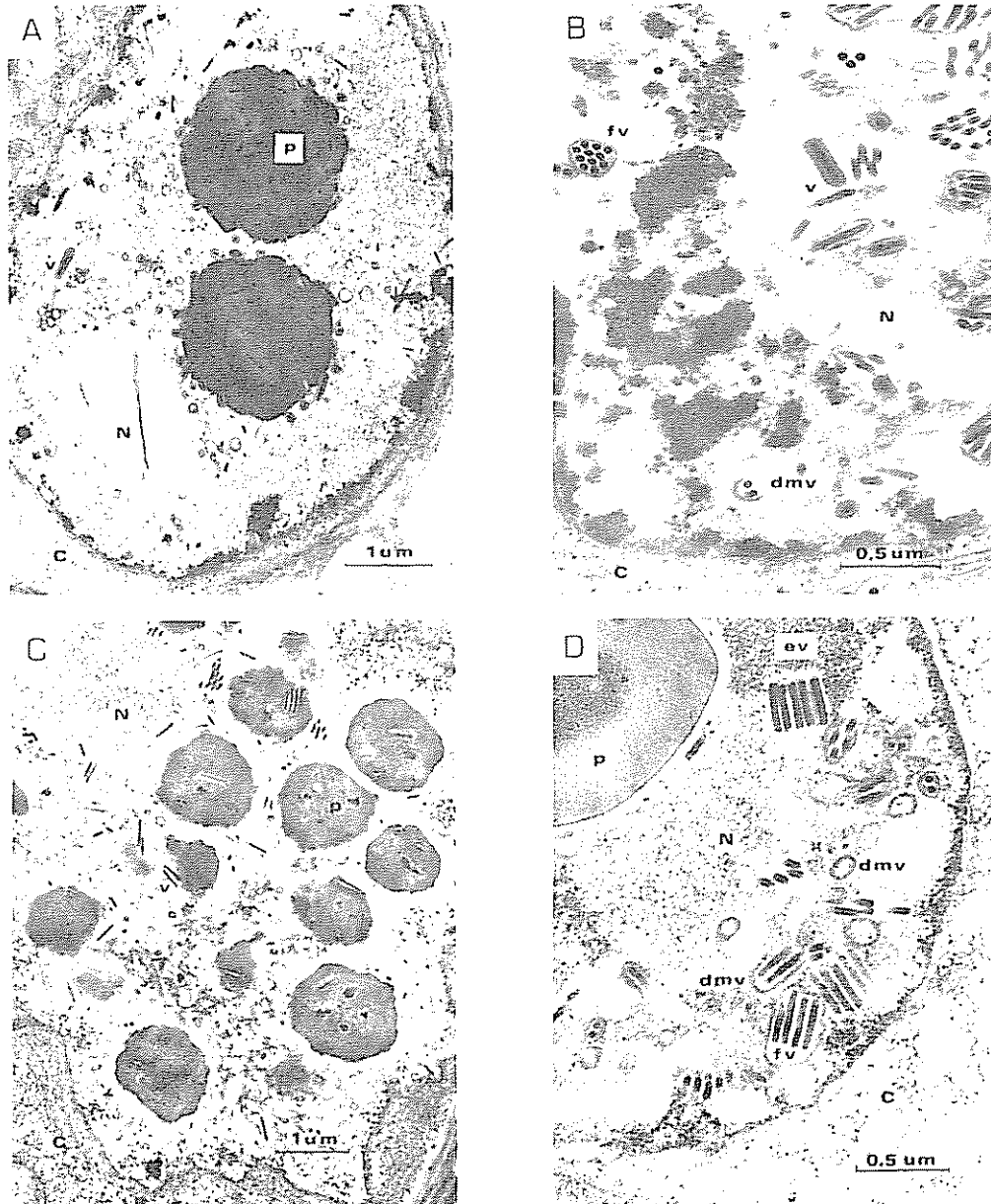


Fig. 1. Eletrofotomicrografias mostrando poliedros nucleares e partículas do NPV em *B. mori* (A, B) e em *A. gemmatalis* (C, D) p = poliedros, v = partículas de vírus, N = núcleo, C = citoplasma, dmv = dupla membrana do NPV, fv = feixes de vírus, ev = estroma virogênico.

Os dados das medidas efetuadas são encontradas nas Quadros 1 e 2.

Discussão

As análises dos testes F e de Tukey realizadas com partículas de NPV encontradas em células de intestino médio de *B. mori*, (Fig. 1A e 1B) quando comparadas com partículas do NPV encontradas em células de intestino médio de *A. gemmatalis* (Fig. 1C e 1D) mostraram não haver diferenças significativas entre os comprimentos dessas partículas tanto com dupla como sem membranas.

As análises dos testes F e de Tukey realizadas para as medidas de largura, demonstraram que as particu-

las encontradas em células de intestino médio de *B. mori*, apresentam largura maior que as encontradas em células de intestino médio de *A. gemmatalis*.

Levando-se em consideração que o NPV de *A. gemmatalis* foi o mesmo inoculado em *B. mori*, torna-se interessante considerar as prováveis causas da diferença significativa encontrada na largura da partícula, quando transmitido a outro hospedeiro.

Pelos resultados obtidos pode-se inferir que o NPV precedente de lagartas de *A. gemmatalis* é capaz de infectar lagartas de *B. mori*, e que as dimensões relativas ao comprimento e largura típicos do NPV podem depender do tecido em que se desenvolve, quer por um processo de seleção, quer por condições da célula hospedeira. Isto talvez seja o motivo pelo qual

Quadro 1. Comprimento e largura das partículas de NPV com e sem membranas encontradas em *B. mori* e *A. gemmatalis* e os resultados dos testes F e Tukey para as dimensões das mesmas nos dois hospedeiros.

Partículas		hospedeiros		F	Tukey (Δ)
		<i>B. mori</i>	<i>A. gemmatalis</i>		
Comprimento (nm)	c/membr.	356,3	339,9	1,01 ^{ns}	32,73 ^{ns}
	s/membr.	293,8	284,6	1,92 ^{ns}	13,26 ^{ns}
Largura (nm)	c/membr.	106,7	90,2	32,69**	5,81**
	s/membr.	50,4	46,1	7,64**	3,08**

ns não significativo.

** significativo a nível de 1% de probabilidade

Quadro 2. Comprimento e largura das partículas de NPV encontradas nos nucleoplasmas de *B. mori* e os respectivos resultados dos testes F e Tukey.

Partículas	nucleoplasma	poliedro	F	Tukey (Δ)
Comprimento s/membr (nm)	300,2	270,9	36,83**	9,78**
Largura s/membr (nm)	47,3	43,3	6,86*	3,09*

* significativo à nível de 5% de probabilidade

** significativo à nível de 1% de probabilidade

as dimensões do NPV apresentadas na literatura para um mesmo hospedeiro tenham sido variáveis e pode também explicar os dois tipos de partículas relatados por Khosaka et al. (7) em *B. mori*.

Bergold (3), tratando do NPV em geral, enquadra-o entre os comprimentos de 200 a 400 nm e largura variando de 20 a 50 nm. Para o NPV de *B. mori* os mesmo autor apresenta as dimensões de 330 x 85 nm enquanto Koslov e Alexeenko (8) relata os valores de 400 x 90 nm e Khosaka et al. (7) distingue dois grupos de partículas com as dimensões de 330 nm x 80 nm e 360 x 60 nm.

No presente trabalho, as médias de 40 repetições das medidas de comprimento e largura do NPV com dupla membrana foram de 356,3 x 106,7 nm; para o comprimento e largura sem membrana foram de 293,8 x 50,4 nm.

Entretanto deve ser ressaltado que partículas de NPV com dupla membrana, cujas médias no tecido de *A. gemmatalis* foram 339,9 x 90,2 nm passaram a ter 356,3 x 106,7 nm em tecido de *B. mori*. Com respeito às partículas nuas, as dimensões encontradas nos tecidos de *A. gemmatalis* foram de 284,6 x 46,1 nm e em *B. mori* 293,8 x 50,4 nm.

As análises dos testes F e de Tukey realizadas com partículas nuas de NPV, encontradas no nucleoplasma de células de *B. mori* e nos poliedros desses mesmos núcleos, revelaram que as do nucleoplasma, com 300,2 x 47,3 nm, são maiores que as dos poliedros, com 270,9 x 43,3 nm.

Uma explicação para o fato poderia ser a de que apenas partículas imaturas seriam utilizadas na formação de poliedros, apresentando assim menor tamanho quando comparadas com as encontradas no nucleoplasma. Outra possibilidade seria a de que as partículas encontradas dentro dos poliedros, estariam submetidas a pressões capazes de reduzir o tamanho das mesmas (6).

Vale lembrar ainda que o intestino médio não é o local mais comum para a replicação do NPV de insetos, mesmo quando a infecção se dá por via oral (5). Os locais mais afetados pelos vírus são as células de sangue, células gordurosas, hipoderme e epitélio da traquéia.

Do ponto de vista prático é importante observar que a transmissão do NPV proveniente de *A. gemmatalis* para *B. mori* constitui um exemplo concreto de que insetos de outras espécies podem ser reservatórios de vírus e portanto uma potencial ameaça às culturas de *B. mori*.

Resumo

A poliedrose nuclear de lagartas de *A. gemmatalis* foi transmitida para lagartas de *B. mori*, fato este que pode explicar a ocorrência de poliedrose nuclear em insetos úteis a partir de outros insetos.

O exame ao microscópio eletrônico do material infectado evidenciou a presença de partículas de vírus (NPV) tanto em poliedros nucleares com em nucleoplasma de células do intestino médio e análises estatísticas do comprimento e largura das partículas de NPV tanto em *B. mori* como em *A. gemmatalis* indicaram que a largura das mesmas em *B. mori* é maior que em *A. gemmatalis*.

As partículas de NPV no nucleoplasma de *B. mori* apresentaram largura e comprimento maiores do que as encontradas em poliedros.

Literatura citada

1. AIZAWA, K. The nature of infections caused by nuclear polyhedrosis viruses. In STEINHAUS, E. A. Insect Pathology. 2nd. New York, Academic Press, 1963. vol. 1, pp. 381-412.
2. BERGOLD, G. H. Insect viruses. Advanced Virus Research. 1:91-139. 1953.
3. BERGOLD, G. H. The nature of nuclear polyhedrosis viruses. In STEINHAUS, E. A. Insect Pathology. 2nd. New York, Academic Press, 1963. vol. 1, pp. 413-456.
4. GATTI, I. M.; D. M. SILVA; I. C. CORSO. Polyhedrosis occurrence in caterpillars of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) in the south of Brazil. IRCS Medical Science. 5: 163 p. 1977.
5. HARRAP, K. A.; J. S. ROBERTSON. A possible infection pathway in the development of a nuclear polyhedrosis virus. Journal of General Virology. 3:221-225. 1968.
6. HARRAP, K. A. The structure of nuclear polyhedrosis viruses. III - Virus assembly. Virology. 50:133-139. 1972.

7. KHOSAKA, T.; M. HIMENO, K. ONODERA. Separation and structure of components of nuclear polyhedrosis virus of the silkworm. *Journal of Virology*. 7(2):267-273. 1971.
8. KOZLOV, E. A.; I. P. ALEXEENKO. Electron microscope investigation of the structure of the nuclear polyhedrosis virus of the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 9:413-419. 1967.
9. RAGHOW, R.; T. D. C. GRACE. Studies on a nuclear polyhedrosis virus in *Bombyx mori* cells in vitro. I — Multiplications kinetics and ultrastructural studies. *Journal of Ultrastructure Research*. 47:384-399. 1974.
10. REYNOLDS, E. S. The use of the lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cellular Biology*. 17:208-212. 1963.

Reseña de Libros

FITZPATRICK, E. A. *Soils. Their formation, classification and distribution*. Longman. New York. 1980. 353 p.

Este libro viene a llenar la necesidad sentida de un texto de pedología que incluya, además de los aspectos básicos de esa ciencia, una exposición comparada de los diferentes sistemas de clasificación de suelos en boga actualmente.

La pedología, como ciencia, posiblemente nació con los trabajos de Dokuchaev, sobre los chernozem rusos, llevados a cabo a fines del siglo XIX. Hasta esa época los estudios sobre suelos se habían limitado a investigaciones sobre su fertilidad y la nutrición de

las plantas y se había omitido, casi por completo, el estudio de ellos como un fenómeno natural tomando en cuenta su composición, distribución y maneras como se han formado. El sistema ruso se usó por numerosos años en todo el mundo, con modificaciones más o menos notorias dirigidas a adaptarlo a condiciones locales. Los trabajos de Marbut en Estados Unidos son un buen ejemplo de esa acción llevada a cabo, en este caso, por uno de los más grandes pedólogos occidentales de este siglo.

Pero luego de la Segunda Guerra Mundial y del período que la siguió de amistad meliflua entre las potencias vencedoras, vino el deshielo y la guerra fría y con ella el afán de independizarse de toda sospecha de sujeción tecnológica o científica de cualquier potencia a otra; y en 1951 surgió en los Estados Unidos un nuevo sistema de clasificación que ha evolucionado a través de numerosas "aproximaciones" o ajustes (en la actualidad se utiliza ya la "séptima aproximación") hasta la forma actualmente en uso.

En adición, Kubiëna, pedólogo alemán, en 1953, y otros seis o siete científicos de diversos países (Avery, Inglaterra; Del Villar, España; Mac Vicar et al., Africa del Sur; Leeper y Northcote, Australia; FitzPatrick, Inglaterra) se sintieron animados a producir sistemas de clasificación que comenzaron por tímidos esquemas regionales, para luego transformarse en ambiciosas propuestas de carácter universal; la FAO al entrar a producir un mapa de suelos del mundo, agregó otro sistema de clasificación que más que un ordenamiento taxonómico "es una lista de unidades de suelo no agrupadas en categorías superiores a diferentes niveles de generalización". Fácil es calcular la confusión que existe en la actualidad en el campo de la clasificación de suelos, en donde, además, los conceptos básicos, inteligibles hasta mediados del siglo actual, han sido ahora envueltos en una jerga para iniciados que busca, se nos ocurre, fortalecer el esoterismo para agregarle visos de profundidad científica.

El libro que comentamos es el primero que conocemos en el cual se hace un esfuerzo serio por comparar los diferentes sistemas de clasificación de suelos que hemos mencionado, buscando similitudes, señalando diferencias, intentando compatibilizaciones y, lo que no es menos importante, criticando las debilidades e inconsistencias de cada sistema como instrumentos básicos de agrupación de los suelos del mundo.

La conclusión primera de este examen a que el autor llega es la de que han fallado los "intentos de producir sistemas jerárquicos de clasificación de suelos basados en principios de morfogenética" y que los nuevos sistemas de Northcote y el USDA "son poco más que claves incompletas y engorrosas".

La segunda conclusión es la de que se necesita un enfoque nuevo, en el cual se examinen los suelos como fenómenos separados y diferentes, a fin de establecer aquellos rasgos comunes a todos, para luego determinar cómo estos rasgos diferentes y específicos pueden usarse para construir un sistema de organización para los suelos. El primer rasgo que todos los suelos poseen es un perfil; pero como Jones lo señaló en 1959, los perfiles tienen apenas dos dimensiones, lo cual los hace inutilizables para cualquier sistema de ordenación. El segundo rasgo

común a todos los suelos es el horizonte; este existe en tres dimensiones tangibles: longitud, anchura y profundidad. El tercer rasgo común es el de que los horizontes se intergradúan lateral y verticalmente, y en el tiempo, con otros horizontes; la intergraduación lateral es, posiblemente, la más importante ya que en muchas situaciones todos los horizontes no se intergradúan lateralmente a la misma tasa. Los suelos, por lo tanto, deben organizarse a nivel de sus horizontes constituyentes y cualquier intento de hacerlo a un nivel más alto "puede ser solo "ad hoc" y falto de significado fundamental pues sacrifica las situaciones de intergraduación, cayéndose así en la omisión del continuum espacial y abandonándose el concepto de evolución del suelo".

En los últimos capítulos de la obra se presentan las clases de suelos más importantes a escala mundial, procurando comparar la nomenclatura del sistema FAO, que es el usado como base, con otros seis o siete sistemas de clasificación. Algunas de esas clases se ilustran con fotografías a colores de los perfiles típicos, lo cual agrega claridad y hace aún más valiosa esta obra para los estudiosos de la pedología. Finalmente, se examinan a espacio las relaciones de los suelos con diversos factores (espaciales; el material parental; el clima; los organismos; la topografía; el tiempo; las relaciones entre horizontes y entre propiedades).

La obra contiene tres apéndices referidos a los materiales minerales secundarios en los suelos; a las definiciones de los horizontes del suelo de acuerdo con FitzPatrick (el autor); y a las formas de suelo en Africa del Sur y sus secuencias de horizontes. Contiene también un glosario bastante amplio, una abundante lista de referencias bibliográficas y un índice analítico.

Nos atrevemos a creer que el libro que comentamos será, en un futuro muy próximo, de consulta obligada para todos los estudiantes y estudiosos de la pedología.

FERNANDO SUAREZ DE CASTRO
INSTITUTO INTERAMERICANO DE
CIENCIAS AGRICOLAS
SAN JOSE, COSTA RICA