

# O desafio da diferenciação e classificação do virus de plantas (\*)

Professor JAMES JOHNSON e Dr.  
ISME A. HOGGAN

Universidade de Wisconsin e Dept.  
de Agr. dos E. U. A. N.

Desde algum tempo não tem havido phase da phytopathologia com maior necessidade de cooperação de pensamentos e acções do que a da diferenciação e classificação do virus de plantas. Desde 1886, quando foi reconhecida pela primeira vez a existencia de molestias de virus por Adolpho Mayer, tem havido incerteza e confusão neste campo de investigações. Logo depois que o trabalho de Mayer se tornou conhecido, pretenderam alguns que a sua "Mosaikkrankheit" do fumo incluia duas molestias distinctas, uma, o verdadeiro mosaico infectuoso e a outra, uma supposta molestia necrotica não aparentada, conhecida em outro logar como "Pockenkrankheit". Não obstante se ter dado bastante attenção ao assumpto, esta discordancia tem persistido quasi até o presente, apesar de estar quasi geralmente acceito que Mayer não errou em affirmar que a necrose é um dos symptomas do

---

(\*) Não ha, provavelmente, nenhuma phase da Phytopathologia que despertasse maior interesse e preocupações, tanto da parte do agricultor como do pathologista de plantas, como a relativa ao grupo das taes molestias de virus, cuja verdadeira natureza do seu factor etiologico ainda é um mysterio.

O seguinte artigo é a traducção d'um trabalho lido perante a Secção de Mycologia e Pathologia de Plantas do Quinto Congresso Internacional de Botanica em Cambridge, Inglaterra, a 20 de Agosto de 1930. Foi publicado em "Science" 73: 29-32 de 9 de Janeiro de 1931. O Dr. Johnson, da Universidade de Wisconsin, è internacionalmente reconhecido como uma das maiores autoridades no que diz respeito ás molestias de virus das plantas.

A Dra. Hoggan, do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, ha diversos annos tem cooperado com o Dr. Johnson no estudo das varias phases do problema do virus.

Como este artigo apresenta de uma maneira concisa a questão das molestias de virus e indica methodos de accesso a um estudo aproveitavel d'estas importantes molestias, julguei-o digno de ser traduzido e apresentado ao publico em portuguez, o que os auctores gentilmente consentiram.

EDWIN E. HONEY

Professor Cathedratico de Phytopathologia  
E. S. A. "L. de Q."

virus do mosaico ordinario do fumo, assim como de certas outras hospedeiras.

No entretanto, as continuas descrições de molestias de virus em differentes hospedeiras, baseadas somente em symptomas, conduziram a serias confusões, mesmo nas pesquisas fundamentaes sobre a natureza de um virus. Era portanto natural que se desenvolvesse uma escola de pensamento inclinada a acreditar que existisse somente um virus na natureza ou, quando muito, só alguns delles, ou que um virus era uma entidade "labile" capaz de adaptar-se a varias hospedeiras e circumstancias. Este ponto de vista só recentemente é que tem sido dissipado por aquelles que sustentam a existencia na natureza de muitos virus distinctos e especificos e que nós temos nos virus um problema de diferenciação e classificação comparavel em complexidade, se não tambem em extensão, ao encontrado na mycologia e bacteriologia.

Infelizmente, porém, o pendulo parece estar se movendo rapido demais nesta direcção. A tendencia de applicar nomes novos a uma molestia de virus quando só está envolvida expressão de symptoma, tanto numa hospedeira antiga como numa nova, está conduzindo a novas difficuldades, mais graves ainda porque se trata de uma entidade invisivel, cuja verdadeira natureza póde permanecer um mysterio por muito tempo ainda.

O desafio está claramente deante dos investigadores de virus de plantas, em primeiro logar para impedir o tanto quanto possivel a elles e a outros de augmentar as difficuldades já existentes e depois para esclarecer tão rapidamente quanto possivel a confusão que já existe na literatura.

Ainda que os methodos dignos de confiança de que dispomos para a diferenciação de virus de plantas não sejam applicaveis em todos os casos nem inteiramente satisfactorios em outros, taes methodos são mesmo assim notavelmente uteis considerando-se quão recente, é o desenvolvimento deste assumpto. Pouço a pouco vão apparecendo methodos novos e melhores para a diferenciação, determinação e descrição de virus especificos, e para o futuro podemos esperar progressos importantes nesta linha de technica. Muitos destes methodos já são conhecidos da maioria dos investigadores. Em conne-

xão com uma discussão desta natureza será bom dar uma lista dos mais obvios destes methodos e discutir suas possibilidades e suas restricções.

Actualmente reconhecem-se quatro typos principaes de caracteres differenciaes ou diagnosticos de virus de plantas. Estes são: expressão dos symptomas, propriedades do virus, modos de transmissão e a figura cytologica.

### EXPRESSÃO DOS SYMPTOMAS

Até o presente, os symptomas comparativos em uma só especie ou variedade de hospedeira tem constituído o principal característico para diagnostico digno de confiança no reconhecimento de virus especificos. O melhor exemplo do uso deste typo de diferenciação está sem duvida no grupo do virus da batatinha. As restricções deste methodo, mesmo que elle tenha sido util no passado, são obvias para qualquer pessoa que tenha se occupado com este grupo de molestias. Os symptomas produzidos podem variar muito com a variedade de batatinha e sua phase de desenvolvimento, com a fonte e o methodo de infecção assim como com o ambiente. Consequentemente, descripções de symptomas de virus diferentes muitas vezes transpõem tanto os limites umas das outras, que se tornam indignas de confiança mesmo para autoridades no assumpto, que podem ficar-se inconscientemente na dependencia antes do reconhecimento directo do que pelas descripções. Entretanto, tudo o que for claramente util neste methodo de diferenciação deve ser conservado, mas ha muita coisa a maneira de descripções detalhadas que devia ser dispensada com vantagem.

O uso de symptomas comparativos em uma serie (= "range") de diferentes especies ou variedades de hospedeiras é um característico de diagnostico que tem sido menos usado do que as possibilidades parecem justificar. Para o progresso da investigação do virus é de importancia fundamental saber alguma coisa sobre a serie de hospedeiras de cada virus ; onde as series das hospedeiras são distinctas e mesmo onde os symptomas são distinctos em algumas hospedeiras ainda que não o sejam em outras, existe uma bôa base para a

diferenciação ou determinação. Deve-se admitir, que, em geral, o uso do methodo de diferenciação de hospedeiras até o presente tem muitas vezes servido para confundir em vez de simplificar o nosso problema, mas cremos que, com os novos factos que vieram á luz, em breve a situação será invertida.

Um terceiro grupo de factores de diferenciação que justificam consideração neste assumpto é o das influências do ambiente, taes como o effeito da temperatura sobre a expressão dos symptomas. A influencia notavel da temperatura sobre a expressão dos symptomas de certos virus da batatinha já é bem conhecida agora. Temperaturas que podem mascarar uma molestia de virus podem intensificar os symptomas de outra, como, por exemplo, no caso do mosaico "crinkle" e no mosaico rugoso da batatinha, usando a terminologia de Schultz. Este caracteristico pode consequentemente ser de valor consideravel na determinação destas e de outras molestias onde não se puder usar outros methodos mais simples ou fidedignos. Em todos os casos, em qualquer tentativa para a determinação ou descrição de uma molestia de virus, sobre a base da expressão dos symptomas, devem-se tomar em consideração os factores do ambiente e outras circumstancias relacionadas, taes como vigor e phase de desenvolvimento da hospedeira.

### PROPRIEDADES DO VIRUS

As propriedades do proprio virus parecem oferecer os caracteristicos mais satisfactorios e dignos de confiança para a diferenciação de certos virus do verdadeiro typo do mosaico, ou de outros virus que são mui facilmente inoculaveis artificialmente de extractes de plantas, distinguindo-se daquelles transmissiveis somente por insectos ou por enxertos, que geralmente são do typo dos "amarellos".

Existem diferenças notaveis entre estes virus do mosaico com relação ao tempo que podem sobreviver no extracto da planta ou fôra da hospedeira viva. E' necessario unicamente chamar a attenção para o virus do mosaico do fumo, que pode aparentemente viver fora da hospedeira viva, durante vinte e cinco annos sob certas condições, em contraste com certos virus do mosaico da batatinha que aparentemente se tornam ina-

tivos no fim de duas ou quatro horas. De igual modo, as tolerancias á diluição podem variar desde 1 a 10 até 1 a 10,000 ou mais com diferentes virus, e as temperaturas de morte por calor podem variar de 40° C a 90° C. Sabe-se existirem tambem variações correspondentes na reacção ao tratamento com substancias chemicas de varias especies, porem este campo como meio de diferenciação dos virus foi até agora relativamente pouco explorado.

Não somente estas propriedades são de grande valor para fins diagnosticos e descriptivos, mas podem muitas vezes servir, especialmente em combinação com o uso de hospedeiras de diferenciação, como um meio facil de separar combinações de virus em suas partes componentes. Temos aqui o inicio da technica para isolamento do que poderia ser chamado "culturas puras" de virus, que seguida com algumas modificações dos postulados de Koch, pode eventualmente collocar a determinação do typo de virus de molestias do mosaico sobre uma base tão solida como a de que se dispõe agora para as molestias de origem bacteriana.

### MODOS DE TRANSMISSÃO

O terceiro meio de diferenciação de virus de plantas que merece mais consideração do que lhe tem sido dada deste ponto de vista, é o dos diferentes modos da transmissão. Podemos passar adiante simplesmente mencionando o facto de que é possivel, em alguns casos, differenciar os virus por meio do seu comportamento com relação á fonte da qual é tirado o inoculum, e o methodo de inoculação usado. O mosaico do fumo, por exemplo, não se pode recuperá-lo de certas hospedeiras, não obstante estas poderem facilmente ser infectadas com a molestia; e o Dr. Goss mostrou, por exemplo, que a molestia "tuberculos - fusiformes" (= "spindle-tubers") da batatinha é transmissivel pela faca que as corta, emquanto que os virus do mosaico commum desta hospedeira não o são. E' claro que muitos virus podem ser distinguidos sobre a base da differença de sua transmissibilidade por meio de enxertos de borbulha ou garfo, insectos vectores e extractos de virus.

E' mais interessante, entretanto, e possui maiores possibilidades para expansão dentro de grupos de parentesco proximo, o isolamento e diferenciação de virus de plantas por meio de sua especificidade de transmissão por insectos. O desenvolvimento de um methodo de diferenciação baseado sobre suas relações com insectos, especialmente com relação áquelles virus que não são facilmente transmissiveis por meios artificiaes, pode eventualmente servir para completar uma chave satisfactoria para a determinação de virus de plantas em geral. Nossos conhecimentos neste campo já são sufficientes para indicar que estamos tratando aqui com pelo menos tres condições especificas que affectam a transmissibilidade de um virus por um insecto, a saber: (1) a especie de insecto em questão; (2) o virus especifico de que se trata; e (3) a especie de planta hospedeira que serve de fonte de infecção. E' possivel que se desenvolva tambem que a especie de planta hospedeira que serve de "susceptivel" pode augmentar as possibilidades de diferenciação.

Pelo menos em alguns casos sabe-se que existe uma relação altamente especifica entre o virus e seu insecto transmissor. Certas molestias do typo dos "amarellos" parecem transmissiveis somente por uma unica especie de cigarrinha e segundo o que sabemos até o presente, por nenhum outro typo de insecto; "ponta crespá" (= "curly top") da beterraba do assucar por *Eutettix tenellus*; "amarello" da margarida por *Cicadula sexnotata* e a molestia "Risca" (= "streak") no milho por *Balclutha mbile*. Não obstante as "series" das hospedeiras das duas primeiras molestias serem grandes e poderem transpor os limites uma da outra até certo ponto, esta relação especifica offerece um meio facil para isolamento e determinação dos respectivos virus em questão. Ainda, das molestias de virus que affectam o medronheiro, por exempto, diz-se que o aphidio *Aphis rubiphila* só espalha o engorvinhamento, e o aphidio *Amphorophora rubi* as molestias do mosaico somente; e outros exemplos podem ser citados de diferentes virus que podem affectar a mesma planta hospedeira, cada um dependendo de um insecto especifico diferente para a sua transmissão.

Além disso, já foi mostrado que o mosaico do pepino é facilmente transmissivel do fumo por diversas especies de aphid-

dios, emquanto que o mosaico ordinario do fumo não é transmissível assim. Aqui está outro meio de diferenciação e um methodo simples para a separação de dois virus envolvidos, caso elles occorram em combinação.

Um unico exemplo pode ser citado actualmente da influencia da hospedeira que serve de fonte de infecção sobre a transmissibilidade de um virus por um insecto. O aphidio *Myzus pseudosolani* aparentemente é incapaz de transmittir o virus do mosaico ordinario do fumo e de certas outras hospedeiras solanaceas, porém elle transmite facilmente este mesmo virus do tomate. Não obstante não se poder presentemente offerecer uma explicação adequada desta singular relação de hospedeiras, é evidente que, ao menos aqui a especie de planta hospedeira do mosaico pode exercer uma influencia determinante sobre a quantidade de transmissões por insecto de um certo virus. Se isto é ou não um caso inteiramente excepcional, está ainda por determinar.

Por outro lado, a relação entre insecto e virus nem sempre parece ser especifica. Diz-se, por exemplo, que o mosaico do pepino é transmissível por ao menos cinco especies de aphidios assim como por duas especies de besouros do pepino. Alem disso tem sido relatado que o aphidio do pecegueiro transmite diversas molestias de virus taes como crestamento do espinafre, varios mosaicos da batatinha, enrolamento da folha da batatinha, mosaico da alface, mosaico da beterraba do assucar, mosaico do aipo, mosaico do feijão e mosaico do repolho chinês, da mostarda e do nabo. Não obstante ainda não ter sido demonstrado que as diversas molestias mencionadas sejam realmente em todos os casos causadas por diferentes virus especificos, pois nossos conhecimentos de algumas dellas se limitam praticamente a symptomatologia em uma só hospedeira, diversas destas são definitivamente reconhecidas como distinctas; consequentemente, quer nos parecer que a diferenciação de virus por meio de insectos transmissores pode ser um pouco limitada em sua applicação.

#### A FIGURA CYTOLOGICA

O quarto e ultimo typo de diferenciação que desejamos

mencionar é o da figura cytologica dos tecidos affectados de virus. Este methodo, naturalmente, é muitas vezes usado para determinação de certos virus de animaes, comtudo ainda não tem sido muito desenvolvido para virus de plantas. Foi demonstrado que os chamados "corpos x" ou inclusões vacuoladas, estão invariavelmente associados com o virus do mosaico do fumo, independente da hospedeira sobre a qual existem, comtanto que se produzam os symptomas da "variegação" ou chloroticos, mas que não são encontrados no caso do virus do mosaico do pepino e de certos outros virus nas mesmas hospedeiras, mesmo que occorra "variegação" da hospedeira. A figura cytologica dos virus da batatinha quasi não foi estudada sufficientemente para justificar quaesquer conclusões definitivas, mas suspeitamos que tambem aqui os detalhes differem com certos virus diferentes. Sabe-se que inclusões características em cellulas estão constantemente associadas tambem com certas outras molestias de virus de plantas e isto pode eventualmente provar-se um caracteristico distintivo de valor para diagnosticco.

Naturalmente, a utilidade do methodo cytologico dependerá de haver ou não meios de differenciação mais simples, rapidos ou mais convenientes onde se requer a determinação. Apresentamos simplesmente a suggestão de que a technica cytologica pode eventualmente provar-se o melhor methodo de differenciar dois ou mais virus especificos que de outro modo são muito semelhantes.

Pelo uso dos varios caracteristicos de differenciação que agora discutimos, já foi mostrado em certos casos que molestias de virus de varias hospedeiras descriptas na literatura são, ou podem ser, devidas a um certo virus especifico. Mostrou-se, por exemplo, que o virus do mosaico do pepino, é o agente causador de molestias de mosaico de muitas especies de hospedeiras, onde não se suspeitava esta relação quando as proprias molestias foram descriptas originalmente. Ha ainda logar para muito mais redução na synonymia do que se tem conseguido até agora. Por outro lado, tem crescido, e sem duvida continuará a crescer, a lista de virus especificos de plantas descriptos de modo adequado e aceitos tanto em hospedeiras antigas como nas novas.

Entretanto, o primeiro desafio que temos diante de nós agora é se existe alguma justificação para uma pessoa descrever e dar nome a uma molestia de virus em qualquer hospedeira sem sujeitar o virus em questão, adequada e completamente, a um numero sufficiente de provas differenciaes utilizaveis para determinar se o virus ou a molestia em questão deve ou não receber um nome novo.

Na America este problema de applicação promiscua de nomes novos a molestias de virus sobre a base da expressão dos symptomas sómente, tornou-se tão grave que é opinião geral que se deve combinar alguma acção e pôl-a em pratica para protecção dos proprios investigadores de virus, assim como dos professores e estudantes do futuro que se vejam obrigados a se occupar do assumpto. Portanto, na ultima reunião da "American Phytopathological Society" fez-se sentir intensamente a necessidade de haver um grupo de pathologistas incumbidos de considerar os modos e os meios de reduzir as difficuldades que nos defrontam. A iniciativa, neste sentido, para ser mais efficiente, devia partir antes de uma corporação internacional de pathologistas. Uma phase intimamente relacionada com o assumpto da differenciação do virus é a "standardização" da technica requerida. Manifestamente, deverse-ia adoptar direcções uniformes para determinação das propriedades dos extractos de virus. Somos tambem obrigados a reconhecer que a propria fonte de inoculum com relação á especie ou variedade de hospedeira assim como a outras condições pode ter alguma influencia sobre os resultados obtidos. Finalmente deve-se reconhecer que as plantas hospedeiras ás quaes se applica o inoculum podem reagir differentemente segundo sua idade e vigor e ás condições do ambiente. O assumpto da "standardização da technica é um em que se poderia dar um bom começo pela selecção de um grupo internacional para ajudar a abrir caminho.

Talvez não estejamos sufficientemente adiantados para ir longe no campo da classificação estricta dos virus de plantas. Entretanto, aquelles de nós que teem tentado comprehender os virus como um grupo, estão impressionados pelo facto que

parece haver diversas classes ou formas de parentesco proximo que podem ser comparadas a especies de um unico genero, emquanto que outros grupos de virus são distinctos, sem duvida, como os grupos mais separados de bacterias. O desenvolvimento de um systema de classificação para os virus parece ser quasi inevitavel em um futuro proximo, emquanto que isto ao mesmo tempo é uma questão na qual poderemos proseguir devagar.

A adopção de um systema uniforme de nomenclatura para os virus seria mui desejavel para os estudiósoos do assumpto. Parece não haver obstaculo serio no caminho de algum accordo internacional satisfactorio neste assumpto. Já se tem feito diversas propostas na literatura, mas desejamos apontar aqui que o esforço fundamental devia ser no sentido de dar nome ao virus em vez de dal-o á molestia que elle causa. Na pratica talvez nunca vençamos a synonymia e confusão dos nomes commus de molestias de plantas, mas não existe razão para que um só nome technico não represente uma entidade especifica productora de molestia.

Pervimo-nos propositalmente desta oportunidade pouco commum para fazer um appello desta natureza, em vez de apresentar detalhes reaes de resultados e conclusões neste campo de investigação. Se o desafio dos problemas da differenciação do virus trouxer homens ao campo, estamos convencidos que nada mais util se poderia realizar do que uma corporação internacional chegar a algum accordo sobre um systema para differenciação, classificação e nomenclatura de virus de plantas, e usar toda a sua influencia para obter a adopção universal de tal systema ou "standard", que eventualmente colloque a questão do virus de plantas em uma posição digna de sua importancia nas sciencias.

---

Comendo toda a sorte de bichinhos que pululam nas hortas e jardins, o sapo se tornou um bom amigo dos hortelões e jardineiros.