

ALTERAÇÕES NAS ESTRUTURAS CELULARES ASSOCIADAS À INFECÇÃO PELO ISOLADO "PIRACICABA" DO VÍRUS DO MOSAICO AMARELO DO FEIJOEIRO (¹). E. W. KITAJIMA e A. S. COSTA (²). Um isolado, particularmente severo, do vírus do mosaico amarelo do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) foi recuperado de uma cultura comercial de feijoeiro, na região de Piracicaba, SP (³). Esta nota relata certas alterações celulares, peculiares à infecção por esse isolado do vírus do mosaico amarelo do feijoeiro (VMAF-P), observadas ao microscópio electrónico.

Material e métodos — Pequenos pedaços de tecido foliar de feijoeiro infetado sob condições experimentais pelo VMAF-P, e exibindo sintomas típicos da infecção, foram fixados em glutaraldeído a 3% e tetróxido de ósmio a 1%, ambos em tampão fosfato. O material fixado foi desidratado em acetona, incluído em Epon, seccionado, contrastado com acetato de uranila e citrato de chumbo e examinado em microscópio electrónico Elmiskop I, da Siemens.

Resultados — O exame ao microscópio das seções ultrafinas de tecido foliar de feijoeiro infetado pelo VMAF-P revelou a presença abundante de inclusões lamelares de variado perfil, dependendo do ângulo de seccionamento, no citoplasma de praticamente todos os tipos de célula foliar (estampas 1-B, 2-A), e que são consideradas associadas à infecção pelos vírus do grupo Y da batata (⁴). Também partículas alongadas, provavelmente representando virions (estampa 1-A) do VMAF-P *in situ*, puderam ser ocasionalmente notadas, dispersas no citoplasma (estampa 2-C).

Contudo, duas alterações marcantes distinguiram os tecidos infetados pelo VMAF-P daqueles afetados por outras estirpes do VMAF: (a) a consistente presença de formações membranosas, de tamanho e forma variados, no citoplasma, ou associadas ao envólucro nuclear (estampas 1-B, C, 2-A, B). Essa formação aparentava consistir de uma pilha de 10 ou mais cisternas justapostas, cuja extensão variava

(¹) Este trabalho recebeu auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (C. Agron. 72/376) e do Conselho Nacional de Pesquisas (TC 12275). Recebido para publicação em 15 de fevereiro de 1974.

(²) Com bolsas de suplementação do CNPq.

(³) COSTA, A. S. Dados não publicados.

(⁴) EDWARDSON, J. R.; PURCIFULL, D. E. & CHRISTIE, R. G. Structure of cytoplasmic inclusions in plants infected with rod-shaped viruses. *Virology* 37:498-507, 1968.

de cerca de 1 μm até 7-8 μm . Quando aposta ao envólucro nuclear (estampas 1-B,C), a inclusão membranosa acompanhava o contorno nuclear. Todavia, essa formação tendia a se arquear consideravelmente quando ocorria isolada no citoplasma (estampa 2-A), e conforme a seção produzia figuras concêntricas semelhantes a impressões digitais. Ocasionalmente, as inclusões membranosas foram encontradas nas proximidades da parede celular ou do tonoplasto, acompanhando o perfil destas últimas (estampa 2-B); (b) a ocorrência de mitocôndrios de dimensões bastante avantajadas em relação aos que ocorrem normalmente (estampas 1-A, 2-A, B). Esses mitocôndrios possuíam cristas bem desenvolvidas e ocasionalmente vacúolos (estampa 2-D). Tais mitocôndrios gigantes usualmente apresentavam conformação globular e 2-4 μm em diâmetro. Mitocôndrios normais em geral exibiam perfis circulares (0,2-0,5 μm em diâmetro) ou elípticos (0,2-0,5 μm x 0,5-1 μm).

O aspecto geral do tecido infetado pelo VMAF-P, salvo as alterações acima descritas, não diferia muito daquele das plantas sadias. Todavia, observou-se uma certa contração das células infetadas e também um maior acúmulo de grãos de amido nos cloroplastos (estampa 1-B).

Discussão — A presença de inclusões lamelares e partículas alongadas, provavelmente virósicas, pode ser considerada normal em tecidos infetados pelo VMAF-P, por outro isolado do VMAF^(5,7). É interessante ressaltar que, enquanto as inclusões lamelares induzidas por outros isolados do VMAF tendem a aparecer mais na forma de bandas densas nas seções, aquelas detectadas em feijoeiro afetado pelo VMAF-P exibiam mais o perfil tipo catavento e anéis concêntricos.

Por outro lado, o aparecimento de formações membranosas e mitocôndrios hipertrofiados em tecidos infetados pelo VMAF-P parecem representar uma peculiaridade desse isolado. As inclusões membranosas, mais bem descritas como uma pilha de cisternas achatadas

(5) WEINTRAUB, M. & RAGETLI, H. W. J. Fine structure of inclusions and organelles in *Vicia faba* infected with bean yellow mosaic virus. *Virology* 28:290-302, 1966.

(6) ————, ————. Intracellular characterization of bean yellow mosaic virus-induced inclusions by differential enzyme digestion. *J. Cell. Biol.* 38: 316-328, 1968.

(7) CAMARGO, I. J. B.; KITAJIMA, E. W. & COSTA, A. S. Estudos ao microscópio eletrônico de tecidos de plantas infectadas pelo vírus do mosaico comum e mosaico amarelo do feijoeiro. *Bragantia* 27:409-420, 1968.

e justapostas, são similares àquelas encontradas em tecidos infetados por duas estirpes brasileiras (Y^a e Y^b) do vírus Y da batata (8). Elas apresentam, inclusive, o mesmo padrão de distribuição nas células, quer associadas intimamente ao envólucro nuclear, quer formando perfis lembrando impressões digitais, no citoplasma. Dada sua semelhança com o complexo de Golgi, postulou-se, no caso do PVY, que talvez essas estruturas pudessem representar dictiosomas hipertrofiadas (8), hipótese que parece ser também extensível ao presente caso. Contudo, as razões dessa possível hipertrofia ainda permanecem obscuras.

Quanto ao mitocôndrio gigante, ocasionalmente notado nos tecidos invadidos pelo VMAF-P, há descrição de fenômenos similares associados à infecção por alguns outros vírus de planta, como o vírus do "etch" do fumo (9) e do mosaico da beterraba (10). Um caso particularmente marcante foi relatado associado à infecção de *Chenopodium quinoa* Wild. e *C. amaranticolor* Coste & Reyn. por vírus alongado isolado de macieira (11), tendo sido considerado pelos autores como uma moléstia de mitocôndrio induzida pelo vírus. Um adensamento da matriz mitocondrial, por outro lado, havia sido observado em *Vicia faba*, mas não em feijoeiro infetado pelo VMAF (5). As alterações no mitocôndrio, associadas à infecção pelo VMAF-P, assemelham-se mais ao acaso descrito para o vírus da macieira (11), muito embora não fossem tão freqüentes como neste. Aliás, no caso do vírus da macieira sugeriu-se que essa hipertrofia mitocondrial compensaria um possível decréscimo no número de mitocôndrios (11).

Evidentemente a microscopia eletrônica por si só não permite esclarecer as razões dessas anomalias intracelulares peculiares ao VMAF-P, mas sua constatação fornece uma maneira adicional de caracterizar este determinado isolado. SEÇÃO DE VIROLOGIA FITOTÉCNICA, INSTITUTO AGRONÔMICO DO ESTADO DE SÃO PAULO.

(8) KITAJIMA, E. W.; CAMARGO, I. J. B. & COSTA, A. S. Intranuclear crystals and cytoplasmic membranous inclusions, associated with infection by two Brazilian strains of potato virus Y. J. Electron Microsc. (Tokyo) 17:144-153, 1968.

(9) RUBIO-HUERTOS, M. & HIDALGO, F. G. Ultrathin sections of intranuclear and intracytoplasmic inclusions induced by severe etch virus. Virology 24: 84-90, 1964.

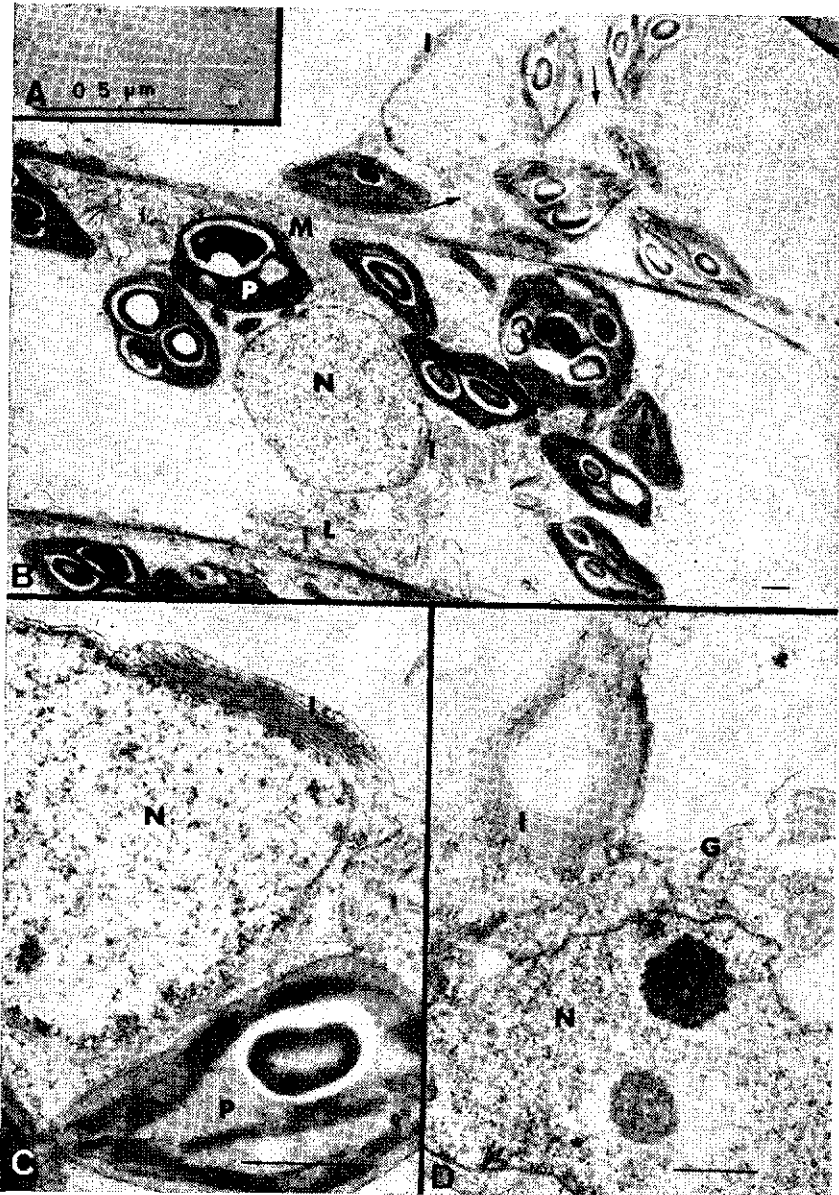
(10) RUSSO, M. & MARTELLI, G. P. Cytology of *Gomphrena globosa* L. plants infected by beet mosaic virus (BMV). Phytopath. Medit. 8:65-82, 1969.

(11) WEINTRAUB, M. & RAGETLI, H. W. J. A mitochondrial disease of leaf cells infected with an apple virus. J. Ultrastruct. Res. 36:669-693, 1971.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES ASSOCIATED WITH THE INFECTION BY
THE ISOLATE "PIRACICABA" OF THE BEAN YELLOW MOSAIC VIRUS

SUMMARY

An electron microscopic study was made on the tissues of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants, infected with the isolate "Piracicaba" of the bean yellow mosaic virus (BYMV-P). Besides the lamellar inclusions, typical of infection by viruses of the potato virus Y group, and elongated viruslike particles in the cytoplasm, two distinctive features were noticed in these tissues, not observed in those infected with other isolates of BYMV: (a) the presence of membranous inclusions, which in sections appeared as a pile of flattened, large cisternae, usually apposed onto the nuclear envelope, or as large whorled structure. They are similar to membranous structures found associated with the infection with two Brazilian strains of the potato virus Y; (b) hypertrophied mitochondria, 2-4 μm in diameter, in some of the infected cells.



- A — Uma partícula do vírus do mosaico amarelo do feijoeiro, isolado "Piracicaba" (VMAF-P), encontrada numa preparação "leaf dip", contrastada negativamente; B — Parte do parênquima paliádico de folha de feijoeiro, infetada pelo VMAF-P. Além das inclusões lamelares (L), podem ser notadas formações membranosas (I) apostas ao núcleo (N). Alguns mitocôndrios (M) aparecem hipertrofiados (setas); C — Detalhe de um dos núcleos (N) da figura B, mostrando a formação membranosas (I). Esta aparece como uma pilha de cisternas grandes e achatadas. P — cloroplasto; D — Outro tipo de configuração exibida pela formação membranosas (I),



A — Detalhe de uma célula do parênquima esponjoso, em que se vêem inclusões lamelares (L) e formações membranosas (I), além de um mitocôndrio gigante (M). N — núcleo; B — Uma formação membranosas (I) bastante extensa, entre um cloroplasto (P) e o tonoplasto. N — núcleo; C — Partículas alongadas (V), provavelmente virósicas, numa área do citoplasma, próxima ao núcleo (N); D — Mitocôndrio gigante (M) em uma célula do parênquima