

MICROSCOPIA ELECTRÔNICA DO VÍRUS DO MOSAICO COMUM DA MANDIOCA NOS TECIDOS FOLIARES DE DIFERENTES PLANTAS HOSPEDEIRAS (1). ÂNGELA TASCÓN (2), E. W. KITAJIMA (3, 4) e A. S. COSTA (4). O vírus do mosaico comum da mandioca (*Manihot esculenta* Kranz.) (VMCM) é alongado, pertence ao grupo morfológico do vírus X da batata e é transmissível mecanicamente à mandioca e algumas outras plantas hospedeiras, sob condições experimentais (5, 7). Ocorre este vírus esporadicamente nas áreas onde a mandioca é cultivada no Brasil, tendo sido já constatada a sua presença em material oriundo do Peru (Kitajima e Lozano, dados não publicados). Sua disseminação se dá através do plantio de manivas de plantas infetadas (5, 6) ou eventualmente pelo uso de ferramentas de corte contaminadas (8), não havendo provavelmente inseto vector (6). Exame de seções ultrafinas de tecido foliar de mandioca infetado pelo VMCM mostrou que suas partículas aparecem em quase todos os tipos de célula foliar, usualmente formando agregados frouxos no citoplasma (9).

Esta nota relata o aspecto intracelular do VMCM nos tecidos de outras plantas hospedeiras, suscetíveis a esse vírus.

Material e métodos — Plantas de *Datura stramonium* L., *Euphorbia prunifolia* Jacq., *Malva parviflora* L., *Chenopodium amaranticolor* Coste & Reyn. e *C. quinoa* Wild. foram inoculadas mecanicamente com um isolado do VMCM mantido em mandioca e deixadas em condições de estufa. Duas a três semanas após a inoculação, as plantas exibiam lesões locais cloróticas nas folhas inoculadas, exceto *Euphorbia*, na qual a infecção do VMCM é latente.

Pequenos fragmentos das lesões locais, ou, no caso da *Euphorbia*, uma amostra foliar retirada ao acaso, foram fixados em uma solução de aldeído glutárico a 3% e pós-fixadas em OsO₄ a 1%,

(1) Trabalho realizado durante o estágio do primeiro autor, o qual foi iniciado na Seção de Virologia Fitotécnica, Instituto Agronômico, e concluído no Depto. Biologia Celular, da Universidade de Brasília. Recebido para publicação em 24 de outubro de 1974.

(2) Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colômbia.

(3) Dep. Biologia Celular, IB, Un. B., Brasília, DF.

(4) Com bolsa de suplementação do C.N.Pq.

(5) COSTA, A. S. Observações sobre o mosaico comum e o mosaico das nervuras da mandioca (*Manihot utilissima* Pohl.). J. Agron., Piracicaba 3:239-248, 1940.

(6) ——— & KITAJIMA, E. W. Cassava common mosaic virus. In: Commonwealth Mycological Institute and Association of Applied Biologists. Description of plant viruses. (Gibbs, A. J.; Harrison, B. D. & Murrant, A. F., eds.). Kew, 1972. (n.º 90).

(7) KITAJIMA, E. W.; WETTER, C.; SILVA, D. M.; OLIVEIRA, A. R. & COSTA, A. S. Morfologia do vírus do mosaico comum da mandioca. *Bragantia* 24:247-260, 1965.

(8) COSTA, A. S. Transmissão do vírus do mosaico comum da mandioca através de ferramentas de corte. In: Resumos da 6.ª Reunião Anual Soc. bras. Fitopatologia, Pelotas, RS, 1973.

(9) KITAJIMA, E. W. & COSTA, A. S. Microscopia eletrônica de tecidos foliares de mandioca, infetados pelo vírus do mosaico comum da mandioca. *Bragantia* 25:XXIII-XXVII, 1966. (Nota 6)

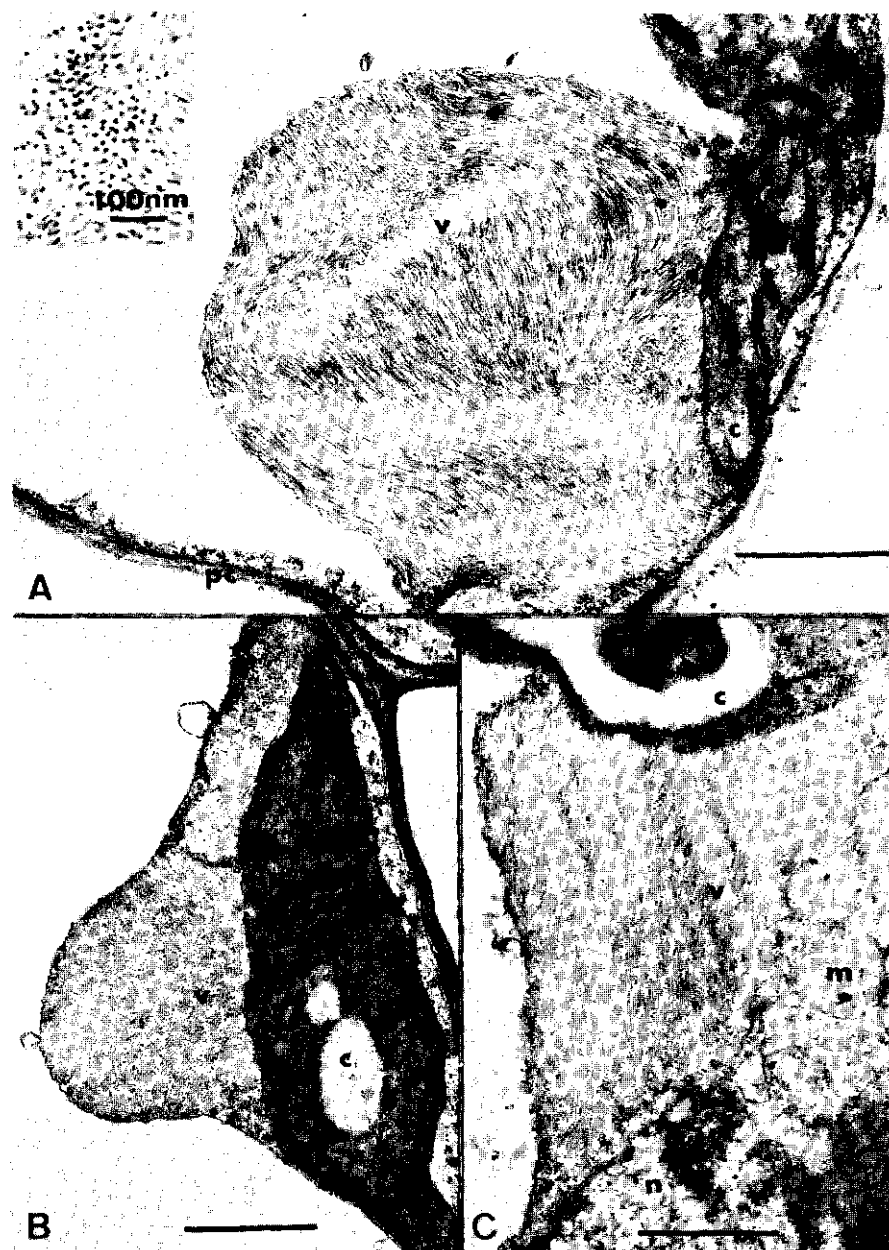
ambos em tampão fosfato, pH 7,2, numa concentração molar final aproximadamente igual a 350 mOsm. Os tecidos fixados foram desidratados em acetona, incluídos em Epon, seccionados em fatias ultrafinas, contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo, e examinados ao microscópio eletrônico (Elmiskop I, da Siemens, ou EM 9, da Zeiss).

Amostras de plantas sadias, não inoculadas, ou de áreas foliares de aparência normal, adjacentes às lesões locais, foram também processadas como acima descrito e examinadas como controle.

Resultados — O fato mais marcante nos tecidos das cinco hospedeiras infectadas pelo VMCM foi a presença consistente de inclusões fibrosas, compostas de agregados de partículas filamentosas, dispostas lado a lado, no citoplasma (estampas 1 e 2). As partículas componentes dos agregados mediam 10-12 nm em diâmetro, quando observadas em seções transversais, e comprimento indeterminável. Nas seções transversais, as partículas apareciam uniformemente densas, sem exibir um possível canal axial (estampa 1A, inserção). A forma desses agregados era variável, assim como suas dimensões, de acordo com o plano de seccionamento. Alguns, bastante grandes, geralmente fusiformes, podiam atingir 15-20 μm em extensão. Embora não demonstrando manter relações específicas com determinadas estruturas celulares, os agregados de partículas alongadas tendiam a aparecer nas proximidades de cloroplastos e, menos freqüentemente, de núcleos. Em nenhum caso, partículas similares às componentes das inclusões puderam ser notadas dispersas no citoplasma, no vacúolo ou no nucleoplasma. Notou-se também que a ocorrência das inclusões fibrosas se dava predominantemente no mosofilo e na epiderme, raramente ocorrendo nas células da região vascular, e em nenhum caso na luz dos vasos condutores.

Não se notou nenhuma peculiaridade no aspecto das células infetadas, salvo a ocorrência de inclusões acima referidas, que pudesse ser atribuída a uma dada combinação VMCM-planta hospedeira. Apenas foi verificado, conforme esperado nas amostras de hospedeiras que respondem com lesões locais à infecção pelo VMCM, que algumas células apareciam necrosadas, adensadas. Também alguns cloroplastos exibiam um acúmulo de grãos de amido e substâncias osmiofílicas, além de alguns sinais de desorganização dos tilacóides, e que possivelmente devem ser responsáveis pelo aspecto clorótico do tecido.

As inclusões fibrosas não foram em nenhum caso detectadas em amostras de plantas sadias ou nas áreas verdes, adjacentes às lesões locais.



Fotomicrografia electrónica de tecido foliar de plantas infetadas pelo vírus do mosaico comum da mandioca (VM-CM), mostrando agregados de partículas alongadas (V), presumivelmente virósicas, no citoplasma. A - *Datura stramonium*. A inserção exibe um detalhe da seção transversal das partículas componentes da inclusão; B - *Chenopodium amaranticolor*; C - C. quinoa. c - cloroplasto; m - mitocôndrio; n - núcleo; pc - parede celular. As barras nas fotografias, quando não especificadas, equivalem a 1 μ m.



Agregado de partículas (v), provavelmente do VMCM, em células parenquimatosas de folha de *Malvaparviflora* (A) e *Euphorbia prunifolia* (B), esta última uma hospedeira na qual a infecção é latente. c-cloroplasto; pc-parede celular.

Discussão — Essencialmente, o aspecto intracelular de tecido foliar das cinco plantas hospedeiras infectadas pelo VMCM não diferiu daquele descrito para o da mandioca, afetado por esse vírus (9). Inclusões de aspecto fibroso, constituídas de partículas filamentosas, aparecem caracteristicamente no citoplasma de células do mesofilo e da epiderme foliar. O fato de as inclusões aparecerem com maior freqüência nas imediações de cloroplastos ou de núcleos deve decorrer dos movimentos citoplasmáticos. As massas de partículas alongadas tenderiam a acompanhar tal movimento, sendo contudo bloqueadas pelas organelas celulares de maiores dimensões, acumulando-se em sua vizinhança, de uma maneira similar ao descrito para o vírus do mosaico comum do fumo (10).

No estudo anterior com tecidos de mandioca infetada pelo VMCM (9) concluiu-se que as partículas alongadas, componentes das inclusões, deveriam representar esse vírus *in situ*, com base na sua similaridade com as do VMCM *in vitro* (7). Esta conclusão encontra agora apoio nas observações aqui feitas em cinco outras plantas hospedeiras de espécies diferentes.

O agregado intracelular do VMCM se assemelha ao de alguns outros vírus do grupo X da batata (11-14), não se notando, entretanto, a formação de inclusões amorfas, ricas em ribossomas, polisomas, virions e formações lamelares, como as relatadas para o vírus X da batata (14-16).

Finalmente, a ocorrência de grande número de agregados de partículas do VMCM nas células das lesões locais de *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor*, *Datura stramonium* e *Malva parviflora*, e também nas de *Euphorbia prunifolia* infetada de maneira latente, está de acordo com as observações patológicas, que indicam alta concentração do VMCM nesses tecidos. SEÇÃO DE VIROLOGIA FITOTÉCNICA, INSTITUTO AGRONÔMICO DO ESTADO DE SÃO PAULO.

(10) NAKATA, H. & HIDAKA, Z. A new inclusion body, "corner inclusion body", newly named in tobacco leaf infected with tobacco mosaic virus. J. Electron Microscopy, Tokyo 8:65-72, 1960.

(11) KIKUMOTO, T. & MATSUI, C. Electron microscopy of intracellular potato virus X. Virology 13:294-299, 1961.

(12) BORGES, M. L. & DAVID-FERREIRA, J. F. Comparative study of cell structures in *Datura metel* L. healthy and infected with potato virus X or potato virus Y. Rev. Biologia, Lisboa 6:421-437, 1968.

(13) DELAY, C. Étude infrastructurale des inclusions présumées de nature virale observées, dans le jeune feuilles d'un clone d'*Opuntia subulata* Much. Eng. (Cactaceae). C. R. Acad. Sci., Paris 269:1510, 1969.

(14) TURNER, R. H. Electron microscopy of cells infected with narcissus mosaic virus. J. gen. Virol. 13(177-179), 1971.

(15) KOZAR, F. E. & SHELUDKO, Y. M. Ultrastructure of potato and *Datura stramonium* plant cells infected with potato virus X. Virology 38:220-229, 1969.

(16) SHALLA, T. A. & SHEPARD, J. F. The structure and antigenic analysis of amorphous inclusion bodies induced by potato virus X. Virology 49:654-667, 1972.

ELECTRON MICROSCOPY OF THE CASSAVA COMMON MOSAIC VIRUS
IN THE TISSUES OF DIFFERENT HOST PLANT SPECIES

SUMMARY

Cassava common mosaic virus (CCMV), an elongated virus placed in the morphological group of the potato virus X, infects, under experimental conditions, several other host plant species, besides cassava.

Electron microscopic observations were made on thin sections of leaf tissues from both symptomless host *Euphorbia prunifolia*, and local lesion hosts *Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor*, *Malva parviflora* and *Datura stramonium*. Loose aggregates of filamentous particles, of varied size and shape, were consistently found in the cytoplasm of most paranchymatous and epidermal cells. These findings are consistent with those previously described in CCMV-infected cassava leaf tissues, and stress the view that the elongated particles components of the fibrous inclusion represent CCMV *in situ*.