

DETECÇÃO DE PARTICULAS DO VÍRUS DE VIRA-CABEÇA AO MICROSCÓPIO ELECTRÔNICO, EM PREPARAÇÕES FEITAS PELO MÉTODO DO "DIPPING" (1). E. W. KITAJIMA, A. S. COSTA & ANA MARIA B. CARVALHO. O vírus de vira-cabeça (VVC) causa moléstias de importância económica em diversas culturas no Estado de São Paulo, estando sua inclusão no grupo do vírus do "tomato spotted wilt" (2) estabelecida (3).

Preparações do vírus do "tomato spotted wilt", purificadas por ultracentrifugação em gradiente de densidade, foram observadas ao microscópio electrónico, nos Estados Unidos, mostrando a presença de partículas de contorno circular, com diâmetro variando de 90 a 120 m $\mu$  (4, 5).

A técnica do exsudato (6) ou do "dipping" (7) usualmente é inadequada para detecção de vírus de forma esférica, pois estes, tendo um diâmetro em geral ao redor de 20 a 50 m $\mu$ , confundem-se facilmente com outras partículas normalmente presentes em tais preparações. Entretanto, pertencendo o VVC ao grupo do vírus do "tomato spotted wilt", cujas partículas têm dimensões relativamente grandes, da ordem de 100 m $\mu$ , foi tentada sua identificação em preparações feitas pelo método do "dipping".

Com folhas de plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.), *Nicotiana glutinosa* L., *Nicandra physaloides* Gaertn., *Physalis* sp., tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), maria pretinha (*Solanum nigrum* L.), batatinha (*Solanum tuberosum* L.), manjerição (*Ocimum basilicum* L.), beldroega (*Portulaca cleracea* L.), alface (*Lactuca sativa* L.), e feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) sadias ou infetadas com o VVC foram feitas preparações pelo método do "dipping" e metalizadas com paládio, para microscopia electrónica. Como controle adicional foram feitas, de maneira similar, preparações das mesmas plantas, mas infetadas com o vírus da necrose branca do fumo. Este causa em algumas das hospedeiras utilizadas reações similares às do VVC (8), servindo seu exame para reduzir a possibilidade de as partículas observadas serem produtos secundários ou de degradação celular devido à infecção com o vírus.

(1) Recebida para publicação em 20 de junho de 1963.

(2) SAMUEL, G., BALD, J. G. & PITTMAN, H. A. Investigations on spotted wilt of tomatoes. Aust. Coun. Ind. Res. Bull., 44. 1930.

(3) COSTA, A. S. & FORSTER, R. Identidade do vírus de vira-cabeça e sua inclusão no grupo do vírus do 'spotted wilt'. Bragantia 1:491-516. 1941.

(4) BLACK, L. M., BRAKKE, M. K. & VATTER, A. E. Partial purification and electron microscopy of tomato spotted wilt. (Abs.) Phytopathology 42:3. 1952.

(5) BLACK, L. M. Concepts and problems concerning purification of labile insect transmitted plant viruses. Phytopathology 45:208-216. 1955.

(6) JOHNSON, J. Virus particles in various plant species and tissues. Phytopathology 41: 78-93. 1951.

(7) BRANDES, J. Eine elektronenmikroskopische Schnellmethode zum Nachweis faden- und stäbchenförmiger Viren, insbesondere in Kartoffeldunkelkeimen. NachrBl. dtach. PflanzSchutzdienst (Braunschweig) 9:161-162. 1957.

(8) COSTA, A. S. & CARVALHO, ANA MARIA B. Studies on Brazilian tobacco streak. Phytopath. Z. 42: 113-138. 1961.

Em tôdas as preparações de plantas infetadas com VVC observaram-se partículas de contôrno circular, relativamente achatadas, com diâmetro médio de  $120\text{ m}\mu$  (figura 1), cuja concentração foi aparentemente maior nas de fumo, beldroega e tomateiro. Nas preparações de plantas sadias ou

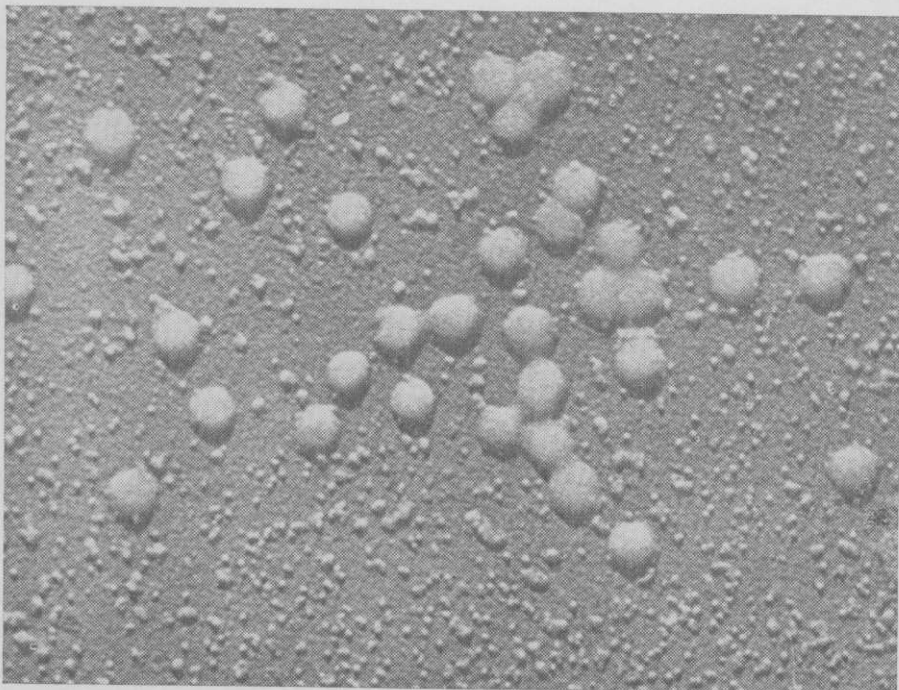


FIGURA 1. — Fotomicrografia eletrônica de partículas do vírus de vira-cabeça em preparação feita pelo método do "dipping" de fôlhas de fumo, metalizadas com paládio. (50.000 x).

infetadas com o vírus da necrose branca do fumo, tais partículas não foram observadas.

Recentemente foi atribuído às partículas do vírus do "tomato spotted wilt" um diâmetro de  $85\text{ m}\mu$ . Tal valor representa o mínimo encontrado em preparações onde a estrutura tridimensional da partícula foi preservada<sup>(9)</sup>. Os mesmos autores relatam certa instabilidade na forma das partículas, podendo o diâmetro atingir dimensões de  $100\text{-}120\text{ m}\mu$  quando a

(9) BLACK, L. M. BRAKKE, M. K. & VATTER, A. E. Purification and electron microscopy of tomato spotted wilt virus. *Virology* 20:120-130. 1963.

estrutura não é preservada. O valor encontrado para as partículas do VVC foi de 120 m $\mu$  de diâmetro, mas se refere a partículas um tanto achatadas. Apoia esta afirmativa as determinações da altura da partícula feitas por comparação com a de partículas de látex. As partículas do VVC apresentaram altura correspondente a cerca de um quarto do diâmetro, mostrando pois que houve achatamento. O volume calculado para as partículas do VVC e do vírus do "tomato spotted wilt" são mais ou menos equivalentes. Estas evidências indicam que a morfologia dos dois vírus é bastantes semelhante, sendo o maior diâmetro do VVC visualizados pelo método "dipping", atribuído a um achatamento que ocorre durante a preparação.

Os resultados obtidos indicam que partículas do VVC podem ser detectadas em preparações feitas pelo método do "dipping", de fácil e rápida execução. Tais preparações permitem rápida diagnose das moléstias causadas pelo VVC, servindo também para elucidar casos duvidosos quando outros vírus causam sintomas semelhantes aos do VVC, nas mesmas hospedeiras. Além disso esta técnica, provavelmente, seria aplicável para detecção de outros vírus esféricos, cujas partículas possuem dimensões relativamente grandes, tais como "yellow dwarf" da batatinha (<sup>5, 10, 11</sup>), nanismo do arroz (*Oryza sativa* L.) (<sup>12</sup>) e o "wound tumor" do trevo (*Trifolium sp*) (<sup>13, 14</sup>).

A semelhança morfológica entre as partículas do VVC e do "tomato spotted wilt" constitui mais uma evidência favorável à inclusão destes, num mesmo grupo. SEÇÃO DE VIROLOGIA, INSTITUTO AGRONÔMICO DO ESTADO DE SÃO PAULO.

#### ELECTRON MICROSCOPICAL OBSERVATIONS OF THE VIRA-CABEÇA IN DIPPING PREPARATIONS

##### SUMMARY

The virus of vira-cabeça (tomato spotted wilt virus group) has been visualized in dipping preparations made from infected leaf tissues from various host plants. Spherical particles somewhat flattened, with an average diameter of 120 m $\mu$ , were present

(10) BLACK, L. M., MOSLEY, V. M. & WYCKOFF, R. W. G. Electron microscopy of potato yellow dwarf virus. *Biochim. Biophys. Acta* 2:121-123. 1948.

(11) BRAKKE, M. K., BLACK, L. M. & WYCKOFF, R. W. G. The sedimentation rate of potato yellow-dwarf virus. *Am. J. Bot.* 38: 332-342. 1951.

(12) FUKUSHI, T., SHIKATA, E. & KIMURA, Z. Some morphological characters of rice dwarf virus. *Virology* 18: 192-205. 1962.

(13) BRAKKE, M. K., VATTER, A. E. & BLACK, L. M. Size and shape of wound tumor virus. *Abn. Path. Plant. Growth.* 6: 137-156. 1954.

(14) BILS, R. F. & HALL, C. E. Electron microscopy of wound tumor virus. *Virology* 17: 123-130. 1962.

in all preparations from infected plants and in none from the same species infected with the Brazilian tobacco streak virus.

The vira-cabeça virus particles as seen in dipping preparations have a diameter ( $120\text{ m}\mu$ ) larger than that of the tomato spotted wilt virus particles from preparations in which the three-dimensional shape of this virus was preserved ( $85\text{ m}\mu$ ). This difference in diameter is attributed to a flattening that occurs in the process of making the dipping preparations with the vira-cabeça virus.

The fact that the vira-cabeça virus can be detected in dipping preparations permits a rapid diagnosis of the diseases induced by this virus on its various host plants. It is likely that dipping preparations might also permit the observation of other spherical viruses that have large particles, such as potato yellow dwarf, rice dwarf and clover wound tumor viruses.

The resemblance in the morphology of the vira-cabeça virus and that of the tomato spotted wilt virus adds evidence that they belong to the same virus group.