

ULTRAESTRUTURA DE TECIDO FOLIAR INFETADO PELO VÍRUS DO MOSAICO DA BATATA-DOCE (¹). E. W. KITAJIMA e A. S. COSTA (²). Uma forma de mosaico e malformação das folhas de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) ocorre ocasionalmente no Estado de São Paulo e é causada por um vírus alongado, medindo 15 nm x 850 nm (estampa 1-A). As propriedades biológicas e a morfologia desse vírus sugerem sua inclusão no grupo do vírus Y da batata (VYB) (³). Esta nota relata os resultados de estudos histológicos, ao nível do microscópio eletrônico, de tecido foliar de batata-doce infetado pelo vírus do mosaico da batata-doce (VMBD) e que vêm reforçar sua posição taxonômica entre os vírus alongados de plantas.

Material e métodos — Pequenos fragmentos de folha de batata-doce, mostrando sintomas típicos da infecção, após inoculação mecânica em condições experimentais com o VMBD, foram fixados com aldeído glutárico a 3% e pós-fixados com tetróxido de ósmio a 1%, ambos em tampão fosfato, desidratados em acetona e incluídos em Epon. Os blocos foram seccionados em um ultramicrotomo Porter-Blum, MT-1, equipado com navalha de diamante da IVIC. As seções foram contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo, e examinadas em microscópio eletrônico Elmiskop I, da Siemens. Amostras de plantas sadias, não inoculadas, foram processadas de maneira similar e examinadas como controles.

Resultados — Ao exame electrónico-microscópico, as seções ultrafinas do tecido foliar de batata-doce, infetado pelo VMBD, não revelaram alterações estruturais marcantes, não diferindo, de uma maneira geral, em organização e aparência, do tecido normal de plantas não infectadas. Contudo, notou-se consistentemente em quase todas as células foliares de plantas afetadas pelo VMBD, excetuando-se as dos vasos crivados ou lenhosos, a presença de formações lamelares, as quais exibiam diferentes configurações — linhas paralelas, anéis, catavento — conforme o ângulo de seccionamento (estampas 1-B, 2-A). Em geral, essas inclusões lamelares apareciam dispersas no citoplasma, sem um padrão definido, mas ocasionalmente foram notadas associadas aos elementos do retículo endoplasmático (estampa 2-A).

(¹) Trabalho apresentado na VI Reunião Anual da Soc. bras. Fitopatologia (Pelotas, RS), tendo recebido auxílio financeiro da FAPESP (C. Agron. 72/376) e do CNPq (TC 12275). Recebido para publicação em 15 de fevereiro de 1974.

(²) Com bolsas de suplementação do CNPq.

(³) COSTA, A. S.; KITAJIMA, E. W. & NORMANHA, E. S. Mosaico da batata-doce causado por vírus do grupo Y. In: Reunião Anual Soc. bras. Fitopatologia, 6.ª, Pelotas (RS), 1973.

Agregados frouxos de partículas filamentosas, ca. 12 nm em diâmetro e 500-1000 nm em comprimento, puderam ser ocasionalmente vistas, em geral nas proximidades das inclusões lamelares (estampa 2-A). Em algumas ocasiões, partículas similares foram encontradas dispostas paralelamente ao tonoplasto e também contidas em delgadas projeções do citoplasma, no vacúolo (estampa 2-C).

Um outro tipo de inclusão, notada às vezes, foi uma formação densa, de aspecto variado, no citoplasma. Quando examinada em aumentos maiores, essa inclusão revelava-se constituída de um agregado de material fibrilar, 7-10 nm em diâmetro, relativamente curtos e rígidos (estampas 1-B, 2-A e 2-B). Uma substância densa e amorfa podia ser notada em certos casos ao redor desse agregado (estampas 2-A e 2-B).

Inclusões cristalinas intranucleares foram observadas em certas células do tricoma glandular (estampa 1-B), devendo contudo, representar componentes normais, pois foram elas também notadas em células comparáveis de folhas de plantas sadias.

Discussão — Inclusões lamelares, no citoplasma, produzindo variadas configurações, têm sido descritas em todos os estudos histológicos envolvendo material infetado pelos vírus integrantes do chamado grupo do VYB, e sua ocorrência tem sido considerada como característica desse grupo (⁴). Estudos sobre sua natureza química demonstraram ser essas lamelas de constituição protéica, diferente da do vírus que induziu seu aparecimento, e também que lamelas produzidas por diferentes vírus teriam composição diferente (⁵). Quando do estabeleci-

(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.

(⁵) HIEBERT, E.; PURCIFULL, D. E.; CHRISTIE, R. G. & CHRISTIE, S. R. Partial purification of inclusions induced by tobacco etch virus and potato virus Y. *Virology* 43:638-646, 1971.

(⁶) BRANDES, J. Identifizierung von gestreckten Pflanzenpathogenen Viren auf morphologischer Grundlage. Berlin-Dahlem, Biol. Bundesanst. Land- u. Forstw., 1964. 130 p. (Heft 110)

(⁷) KITAJIMA, E. W.; COSTA, A. S. & CARVALHO, A. M. B. Morfologia do vírus da palidez das nervuras da malva. *Bragantia* 21:CIII-CVI, 1962. Nota 18.

(⁸) SCHMIDT, H. B. & SCHMELZER, K. Elektronenmikroskopische Darstellung und Vermessung des Malvaenmosaik-Virus. *Phytopath. Z.* 51:516-520, 1964.

(⁹) HARRISON, B. D. & ROBERTS, I. M. Pinwheels and crystalline structures induced by *Atrapa mild* mosaic virus, a plant virus with particles 925 nm long. *J. gen. Virol.* 10:71-78, 1971.

(¹⁰) LOVISOLO, O. & BARTELS, R. On a new strain of henbane mosaic virus from *Physalis alkekengi*. *Phytopath. Z.* 69:189-201, 1970.

mento dos limites dos comprimentos das partículas dos diferentes grupos taxonômicos dos vírus alongados determinou-se, baseado nos vírus conhecidos até então, que o limite superior do grupo do VYB estaria em torno de 800 nm⁽⁶⁾. Contudo, posteriormente verificou-se a existência de diversos vírus de comprimento superior a 800 nm, como o clareamento das nervuras da malva^(7, 8), mosaico fraco de *Atropa*⁽⁹⁾, mosaico de meimendo⁽¹¹⁾, os quais devem pertencer ao grupo do VYB, dadas as suas características patológicas e a presença de inclusões lamelares nos tecidos das plantas afetadas^(9, 11-13). O caso do VMDB pode ser considerado análogo a estes exemplos, e vem assim confirmar a hipótese de ele pertencer ao grupo do VYB, hipótese essa formulada com base em sua morfologia e em suas propriedades biológicas⁽³⁾.

As partículas alongadas encontradas formando agregados frouxos no citoplasma, ou apostas ao tonoplasto, devem representar o VMDB *in situ*, devido à sua semelhança morfológica com aquelas detectadas em preparações "leaf dip". Por outro lado, a natureza do material fibrilar, formando as massas densas, é desconhecida. Inclusões, com alguma semelhança a esse material denso, foram observadas em tecidos infectados por algumas estirpes brasileiras do VYB⁽¹⁴⁾, e nos corpos-X, induzidos pelo vírus do mosaico comum do fumo⁽¹⁵⁾. Neste último caso, tem sido sugerido que essa substância representaria a proteína X *in situ*⁽¹⁶⁾, ou formas altamente hidratadas do virion⁽¹⁵⁾.

As anomalias observadas nos tecidos de plantas de batata-doce infectadas pelo VMDB assemelham-se em muitos aspectos àquelas descritas para o vírus do "russet crack", nos EUA⁽¹⁷⁾, um vírus tam-

(11) MARTELLI, G. P.; RUSSO, M. & CASTELLANO, M. A. Ultrastructural features of *Malva parviflora* L. with vein clearing and of plants infected with beet mosaic virus. *Phytopath. Med.* 8:175-186, 1969.

(12) PLUMB, R. P. & VINCE, D. A. Fixation and electron microscopy of the Rothamsted culture of henbane mosaic virus. *J. gen. Virol.* 13:357-359, 1971.

(13) KITAJIMA, E. W. & LOVISOLO, O. Mitochondrial aggregates in *Datura stramonium* leaf infected with henbane mosaic virus. *J. gen. Virol.* 16:265-271, 1972.

(14) MONTENEGRO, M. J.; KITAJIMA, E. W.; CAMARGO, I. J. B. & COSTA, A. S. Comparação electrono-microscópica dos tecidos de plantas infectadas por diferentes estirpes do vírus Y da batata que ocorrem no Estado de São Paulo. *Bragantia* 27: 17-23, 1968.

(15) SHALLA, T. A. Assembly and aggregation of tobacco mosaic virus in tomato leaflets. *J. Cell Biol.* 21:253-264, 1964.

(16) ESAU, K. & CRONSHAW, J. Tubular components in cells of healthy and tobacco mosaic virus-infected *Nicotiana*. *Virology* 33:26-35, 1967.

(17) LAWSON, R. H.; HEARSON, S. S. & SMITH, F. F. Development of pinwheel inclusions associated with sweet potato russet crack virus. *Virology* 46:453-463, 1971.

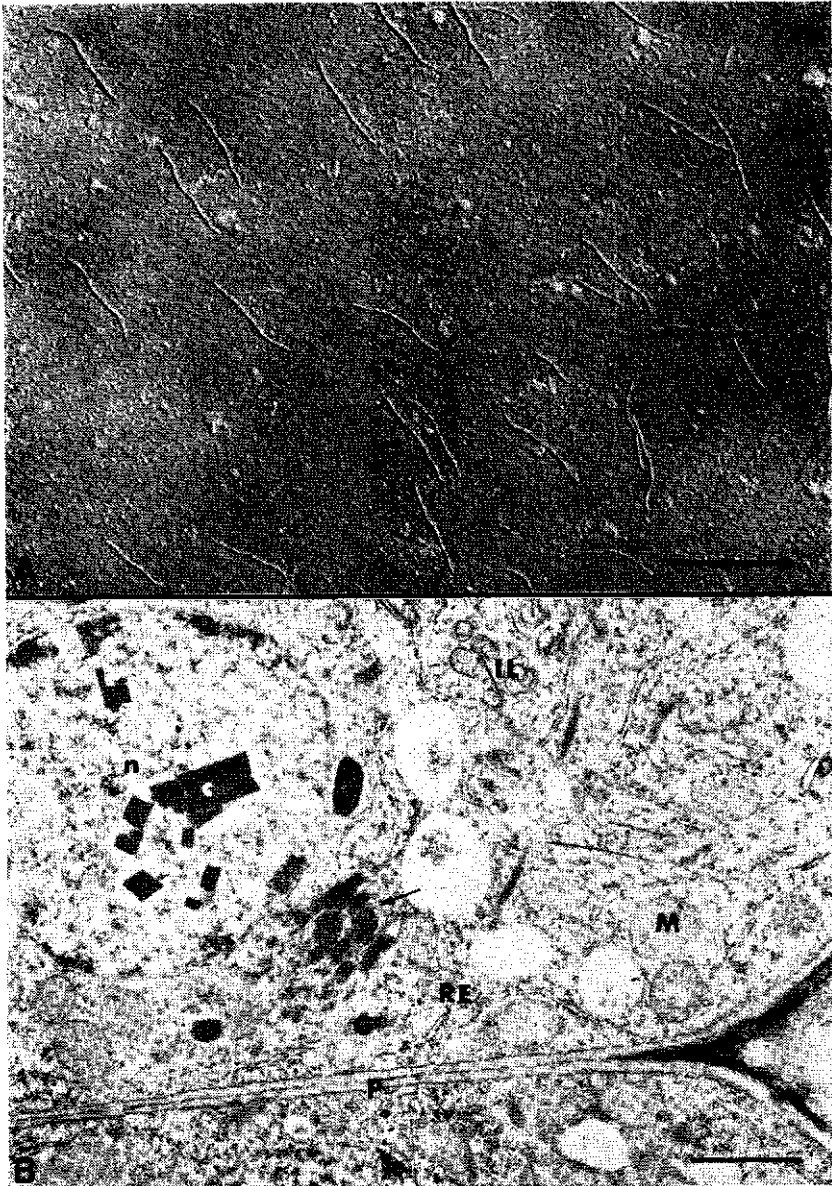
bém alongado e considerado membro do grupo do VYB. Embora sugestiva, a possível identidade ou relações de parentesco entre o VMBD e o "russet crack" não pode ser estabelecida meramente baseada em similaridade na morfologia e no aspecto intracelular. Assim, estudos mais detalhados, envolvendo patologia e serologia, serão necessários para elucidar essa questão. SEÇÃO DE VIROLOGIA FITOTÉCNICA, INSTITUTO AGRONÔMICO DO ESTADO DE SÃO PAULO.

THE ULTRASTRUCTURE OF LEAF TISSUES INFECTED BY SWEET
POTATO MOSAIC VIRUS

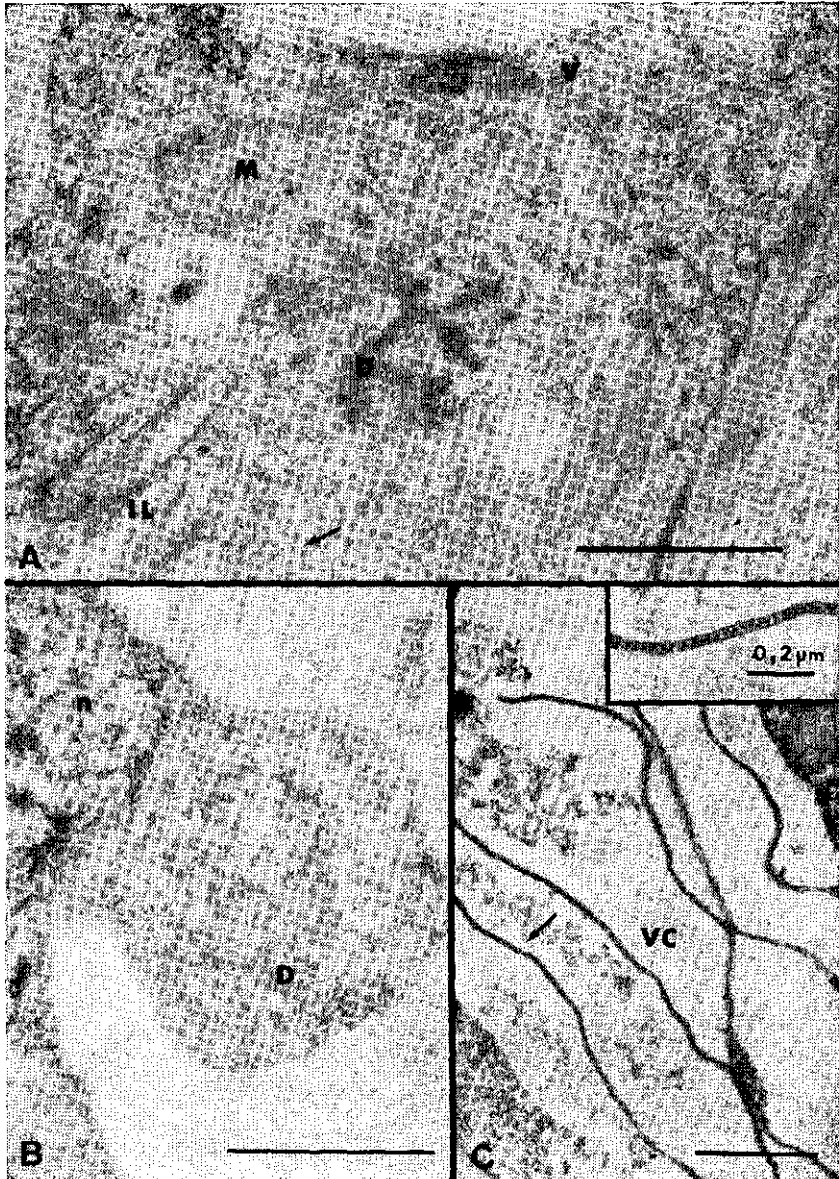
SUMMARY

An electron microscopic study was made on sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaf tissues infected by sweet potato mosaic virus (SPMV), an elongated (15nm x 850nm) virus, considered as a member of the potato virus Y (PVY) group. This last assumption was further stressed by the consistent presence of lamellar inclusions, with varied configuration depending on the plane of the section, in the infected cells. Such inclusions have been considered as typical for infection by viruses of the PVY group.

Besides these lamellae, elongated particles, probably representing SPMV *in situ* were occasionally found, forming loose aggregates, or closely apposed to the tonoplast. In a few instances, masses of a dense material, resolved as a bundle of fine fibrils, interspersed with an amorphous substance, were seen in the cytoplasm.



A — Microfotografia electrónica de uma preparação “leaf dip” obtida a partir de folhas de batata-doce infectadas pelo vírus do mosaico da batata-doce (VMBD), exibindo um grupo de particulas alongadas (15nm x 850nm); B — Seção ultrafina de um tricoma foliar de batata-doce infetado pelo VMBD. Nota-se a presença de inclusões lamelares (IL) de variado perfil, e também um material denso, formado de finas fibrilas (seta). Cristais intranucleares (c) representam componente normal neste tipo de célula. G — complexo de Golgi; M — mitocôndrio; n — núcleo; P — parede celular; RE — retículo endoplasmático. As barras, nas fotos, equivalem a 1 μ m.



A — Parte da célula do parênquima lacunoso de folha de batata-doce, infetada pelo VMBD. Um agregado frouxo de partículas alongadas (*V*), provavelmente virósicas, aparece junto ao vacúolo. Um material denso formado de finas fibrilas e um substrato amorfo (*D*) podem ser vistos no centro da fotografia. Inclusões lamelares (*IL*), algumas das quais associadas ao retículo endoplasmático (seta), podem também ser observadas. *M* — mitocôndrio; B — Outro detalhe do material denso (*D*), em forma de fita, junto ao núcleo (*n*); C — projeções filamentosas do citoplasma, no vacúolo, contendo partículas alongadas, provavelmente virósicas (setas). Na