

MICROSCOPIA ELECTRÔNICA DE TECIDOS FOLIARES DE MANDIOCA INFETADOS PELO VÍRUS DO MOSAICO COMUM DA MANDIOCA (1). E. W. KITAJIMA e A. S. COSTA. Plantas de mandioca (*Manihot utilissima* Pohl.) infetadas pelo vírus do mosaico comum (VMCM) são encontradas ocasionalmente entre as variedades cultivadas no Estado de São Paulo (2). A partícula do VMCM é alongada, tendo um comprimento normal de 500 m μ e 15 m μ de diâmetro (3). Ele é diferente do vírus causador de mosaico na África, que deve ser esférico (4). A morfologia do VMCM se assemelha ao do vírus X da batatinha (*Solanum tuberosum* L.), embora serolôgicamente não se tenha detectado grupos antigênicos comuns, e biologicamente sejam completamente distintos (3).

Prosseguindo nas investigações sobre o VMCM, estudaram-se ao microscópio eletrônico secções ultra-finas de tecidos de mandioca infetada pelo VMCM.

Pedaços de folha de mandioca, var. Guaxupé, sadias ou infetadas pelo VMCM, foram fixadas em solução de tetróxido de ósmio a 2%, em tampão fosfato, durante 12-18 horas a 4°C (5); desidratadas em acetona e incluídas em Epon 812 (6). As secções foram efetuadas em um ultramicrotomo Porter-Blum, utilizando-se navilhas de vidro, tendo sido coradas com citrato de chumbo (7) antes de serem examinadas ao microscópio eletrônico (8). Algumas secções mais espessas (2-5 μ) foram montadas em lâminas de vidro para microscopia óptica e coradas com uma mistura de soluções a 1% de Azur II e Azul de metileno-bórax (9).

Massas de partículas filamentosas, dispostas paralelamente, embora de maneira não muito organizada, foram encontradas no citoplasma de praticamente todos os tipos de células, exceto nos vasos condutores, de plantas infetadas pelo VMCM (estampa 1). Tais inclusões fibrosas não foram encontradas em tecidos de plantas sadias ou infetadas com outro vírus de mandioca, de forma esférica (10).

(1) Trabalho realizado com auxílio financeiro da FAPESP (C. Agron. 64/454) e do CNPq (TC. 4026). Recebido para publicação em 29 de novembro de 1965.

(2) 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.

(3) 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.

(4) KITAJIMA, E. W. & COSTA, A. S. Elongated particles found associated with cassava brown streak. East African Agric. Forest. J. 30:28-30. 1964.

(5) MILLONIG, G. Studio sui fattori che determinano la preservazione della ultrastruttura. In "From molecule to cell; Symposia on Electron Microscopy", p. 347-362. (P. Buffa, Ed.), Roma, 1964.

(6) LUFT, J. Improvements in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9:409-414. 1961.

(7) REYNOLDS, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17:208-211. 1963.

(8) Doação conjunta da Fundação Rockefeller e do Conselho Nacional de Pesquisas.

(9) RICHARDSON, N. K., JARRET, L. & FINKE, E. G. Embedding in epoxy resins for ultrathin sectioning in electron microscopy. Stain Technology 35:313-323. 1960.

(10) KITAJIMA, E. W. & COSTA, A. S. Partículas esferoidais associadas ao vírus do mosaico das nervuras da mandioca. Em preparo.

A ocorrência destas inclusões foi muito maior em áreas amareladas das fôlhas do que nas zonas verdes. O diâmetro das partículas que constituíam as inclusões foi de cêrca de 10-15 $m\mu$, sendo no entanto seu comprimento indeterminável. As massas fibrosas quase sempre tinham uma forma alongada, fusiforme, dispondo-se seu eixo maior paralelamente à parede celular. As dimensões das inclusões nas secções eram bastante variadas, algumas podendo atingir até 15-20 μ de comprimento, por 3-5 μ de largura. Não se constatou nenhuma relação específica entre as inclusões e as demais estruturas celulares. Também alterações notáveis nas células que continham as inclusões não foram observadas, excetuando-se um acúmulo sensível do amido nos plastídios. Além dessas massas fibrosas, nenhum outro tipo de agrupamento de partículas ou inclusões foi visto, associado à infecção com VMCM.

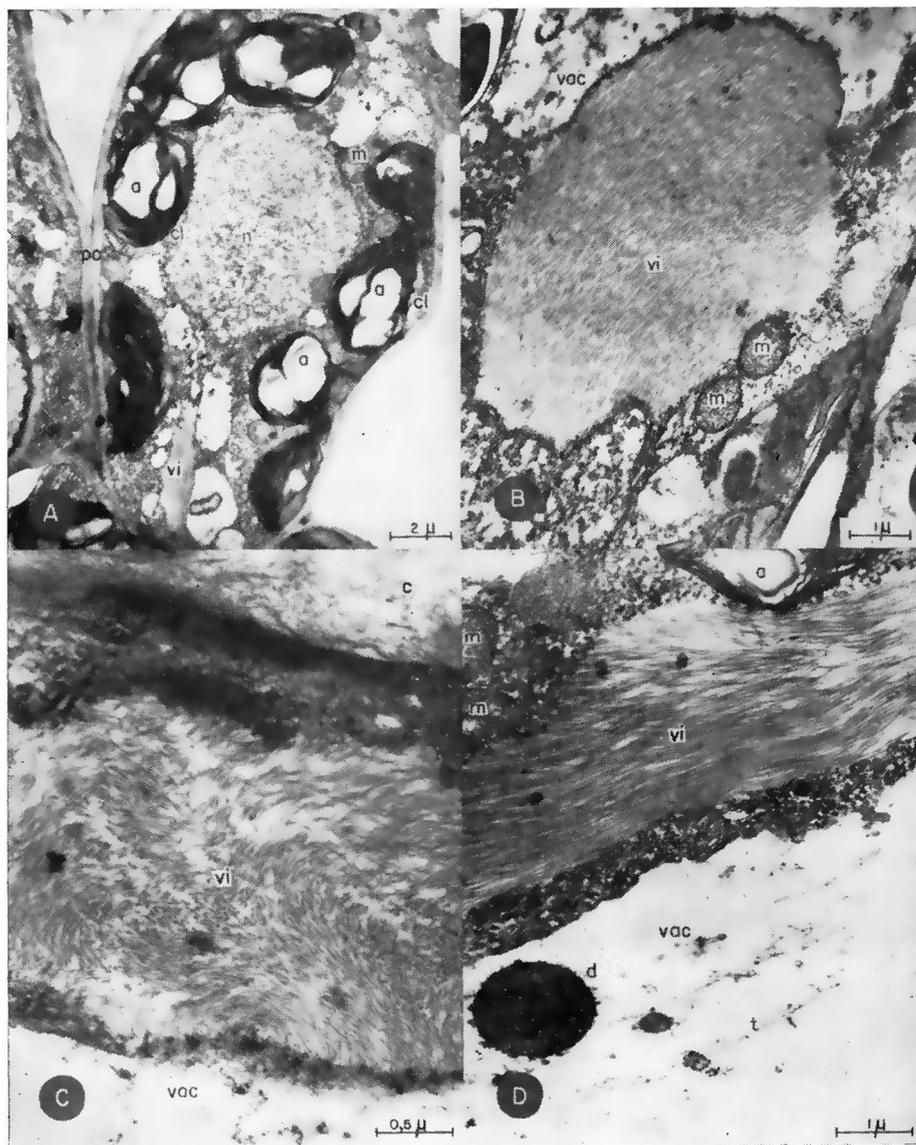
Embora, ao microscópio electrónico, fôsem as inclusões facilmente identificadas, a sua detecção foi mais problemática ao microscópio óptico, pelo menos com a técnica de coloração empregada no presente trabalho. As inclusões não se impregnavam bem dos corantes utilizados, e apenas aquelas maiores foram ocasionalmente identificadas.

As partículas filamentosas que formam as massas fibrosas no citoplasma devem representar o VMCM *in situ*. Sua aparência fibrilar, bem como seu diâmetro, coincide com o das partículas observadas *in vitro* ⁽³⁾. Também sua presença unicamente em plantas infetadas com o VMCM ⁽¹¹⁾, e o fato de as inclusões serem do tipo daquelas observadas em tecido infetado com um vírus morfológicamente similar ao VMCM ^(12, 13), podem ser apontados como argumentos favoráveis a esta asserção. SEÇÃO DE VIROLOGIA, INSTITUTO AGRONÔMICO DO ESTADO DE SÃO PAULO.

⁽¹¹⁾ Partículas tubulares de ca. 40-50 $m\mu$ de diâmetro, e também filamentosas, de 10-15 $m\mu$ de diâmetro, ambas de comprimento variável, foram encontradas no vacúolo de muitas células foliares de mandioca, tanto em plantas infetadas como sadias, e portanto não devem estar relacionadas com VMCM. Estas partículas e alguns outros detalhes do tecido foliar da mandioca serão descritos em um trabalho em preparo.

⁽¹²⁾ BORGES, M. L. V. & FERREIRA, J. F. P. Vírus na célula vegetal. Observações ao microscópio electrónico. II. Vírus X da batatinha. Portugaliae Acta. Biol. Ser. A6:18-22. 1959.

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



Fotomicrografias electrónicas de secções ultra-finas de tecido foliar de mandioca infetado pelo vírus do mosaico comum da mandioca. Abreviações: *a* — grão de amido; *cl* — cloroplasto; *d* — grânulos densos; *m* — mitocôndrion; *n* — núcleo; *pc* — parede celular; *t* — partículas tubulares; *vi* — inclusão de vírus; *vac* — vacúolo. *A* — Uma célula do parênquima lacunoso, com uma pequena inclusão de vírus; *B* a *D* — Detalhes das inclusões de vírus.

ELECTRON MICROSCOPY OF CASSAVA LEAF TISSUES INFECTED
WITH COMMON MOSAIC VIRUS

SUMMARY

Ultrathin sections of leaf tissues of cassava plants, infected with cassava common mosaic virus (CCMV) were examined in the electron microscope. Fibrous masses, variable in shape and dimensions were found in the cytoplasm of practically all cell types, except tracheids and sieve tubes, of leaves infected with CCMV. These inclusions were not seen in control preparations made from healthy plant leaves, nor in those infected with the cassava vein mosaic virus, that is spherical. The inclusions associated with CCMV are composed of particles, the length of which could not be determined, with 10-15 m_μ in diameter, disposed in a loose parallel array, and were found mostly in the chlorotic area of infected leaves. No association of fibrous masses with cell structures was observed.

The particles component of these fibrous masses are considered as CCMV *in situ*, due to their similarities with those found *in vitro* (15 m_μ \times 500 m_μ) and to the constant association with the diseased material.