

ISSN 1518-6512 Dezembro, 2007

81

#### Nanismo amarelo em cereais de inverno



Douglas Lau<sup>1</sup>
José Roberto Salvadori<sup>1</sup>
Paulo Roberto Valle da Silva Pereira<sup>1</sup>



#### Introdução

A virose conhecida como nanismo amarelo da cevada é uma das principais doenças da cevada e também dos outros cereais de inverno, limitando a produção de grãos no Brasil e no mundo (Lister & Ranieri, 1995; Casa et al., 2000). Trata-se de um sistema complexo, com várias estirpes virais transmitidas por distintas espécies de afídeos para uma ampla gama de gramíneas hospedeiras (D'Arcy & Burnett, 1995). O comprometimento fisiológico da planta devido à infecção viral resulta em redução da produtividade, que em parcelas experimentais sob condição de infestação controlada podem variar entre 30 e 60%, dependendo da cultivar.

#### **Sintomas**

Entre os sintomas que podem ser considerados marcadores desta virose, destaca-se a alteração da coloração do limbo foliar que ocorre no sentido do ápice para a base da folha. Em geral, em trigo e em cevada ocorre amarelecimento enquanto que, em aveia, ocorre forte avermelhamento (Fig. 1). Além da alteração da cor, ocorrem alterações morfológicas, com o limbo enrigecendo e adquirindo aspecto lanceolado. Em trigo,

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Pesquisador Embrapa Trigo. Caixa postal 451, 99001-970 Passo Fundo, RS.

esses sintomas nem sempre são evidentes, podendo ser limitados ao nanismo, redução da massa foliar e diminuição do peso e número de grãos os quais, podem ser percebidos apenas de maneira comparativa entre plantas infectadas e não infectadas. Nas lavouras, os sintomas podem ser observados em grupos de plantas (reboleiras) (Fig. 2) localizados no interior ou nas bordas. Em caso de infestação mais intensa, podem ser observados caminhos de plantas com sintomas os quais correspondem ao padrão de disseminação de pulgões no interior da lavoura. Assim como para outras viroses, os sintomas causados pelo vírus podem ser difíceis de distinguir dos sintomas causados por deficiências nutricionais e outros estresses abióticos.



**Fig. 1**. Sintomas típicos causados pelo vírus do nanismo amarelo em trigo (esquerda) e aveia (direita).

Fotos: Douglas Lau

**Fig. 2**. Reboleiras típicas de infecção pelo vírus do nanismo amarelo (setas) em aveia (acima) e trigo (abaixo).

# Agente etiológico

A virose é causada por espécies distintas de vírus pertencentes à família *Luteoviridae*. Os membros desta família apresentam partículas virais compostas por capsídeos isométricos de 25 a 30 nm não envelopados. O genoma viral é não segmentado e composto por um RNA que apresenta aproximadamente 5600 nucleotídeos, sendo de fita simples e de sentido positivo (ssRNA+). No interior da partícula viral também podem ser encontrados RNAs satélites. Os vírus desta família são transmitidos por insetos da ordem Hemiptera, família Aphididae (Fig. 3).

Originalmente os vírus associados ao nanismo e amarelecimento dos cereais foram classificados em função da especificidade de transmissão pela espécie de vetor, sendo designados cinco tipos: RPV - transmitido por Rhopalosiphum padi, RMV - por Rhopalosiphum maidis, MAV - por Sitobion avenae (antigo Macrosiphum avenae), SGV por Schizaphis graminum e PAV- por R. padi, S. avenae e outros (Rochow et al., 1969). Embora o sistema de identificação original tenha sido estabelecido com base em uma característica biológica, ou seja, transmissão por espécies de afídeos, pode haver variação na eficiência com que isolados virais são transmitidos pelas distintas espécies vetoras. Determinados isolados são também transmitidos por espécies não consideradas na classificação original (por exemplo, Metopolophium dirhodum, que ocorre no Brasil). Atualmente, testes sorológicos (baseados no reconhecimento de proteínas virais por anticorpos específicos) e moleculares (baseados em següências de material genético viral) são aplicados para a correta identificação. Com base na organização genômica (Fig. 4) e na similaridade da següência dos genes foram criados, dentro da família Luteoviridae, dois gêneros: Luteovirus e Polerovirus. Os membros de ambos os gêneros apresentam similaridade em parte de seus genomas, especificamente no segmento 3' que contém as ORFs (do inglês Open Reading Frame) 3 a 5 que codificam para a proteína da capa protéica, proteína de movimento e uma proteína que auxilia na transmissão pelo afídeo vetor. Contrariamente, na região 5' onde está codificada a RNA polimerase RNA dependente, existe grande divergência entre os gêneros. Este tipo de organização genômica sugere que houve um evento de recombinação na evolução da família, sendo o local de recombinação localizado na extremidade 5' dos RNAs subgenômicos 1 e 2 (Miller & Rasochová, 1997). Em função da organização genômica, os serotipos PAV, MAV e isolados que a eles se assemelham foram mantidos dentro da espécie BYDV (Barley yellow dwarf virus gênero Luteovirus), enquanto que o serotipo RPV foi transferido para a espécie CYDV (Cereal yellow dwarf virus – gênero Polerovirus). Os demais tipos (BYDV-RMV, BYDV-SGV e outros como BYDV-GPV) fazem parte da família Luteoviridae, mas ainda não foram classificados quanto ao gênero. No Brasil, a análise da variabilidade e predominância dos tipos virais associados ao nanismo efetuada por meio de testes sorológicos (ELISA), evidenciou a predominância dos serotipos PAV e MAV (Schons & Dalbosco, 1999).

Fotos: Douglas Lau Schizaphis graminum Metopolophium dirhodum Sitobion avenae

**Fig. 3**. Espécies de afídeos importantes vetoras do vírus do nanismo amarelo no Brasil.

Rhopalosiphum padi

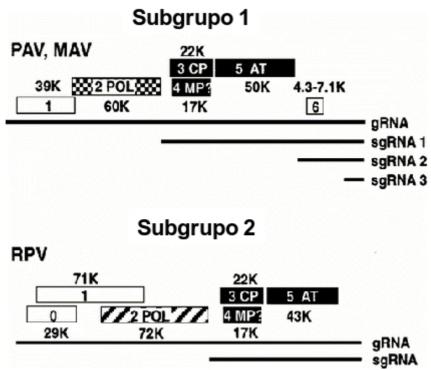
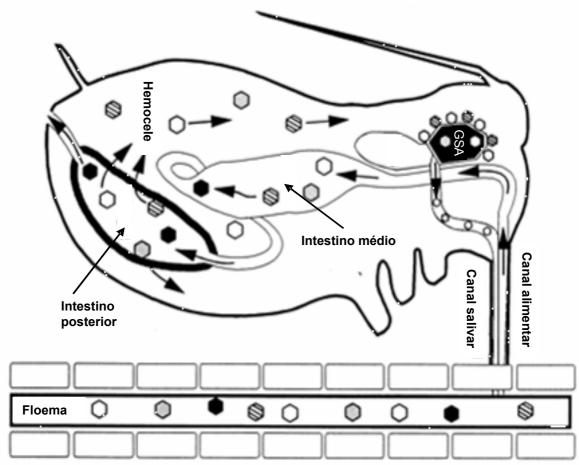


Fig. 4. Representação diagramática da organização genômica dos dois subgrupos de vírus associados ao nanismo amarelo de cereais de inverno. Áreas preenchidas em preto apresentam conservação entre os grupos. Área quadriculada apresenta similaridade com a polimerase de *Tombusviridae*. Área hachurada apresenta similaridde com a polimerase de sobemovirus. Área em branco, a exceção de um possível motivo tipo protease (ORF1 subgrupoII) não apresenta similaridade com ORF de nenhum vírus. CP – capa protéica, POL – polimerase, AT – domínio provavelmente requerido na transmissão por afídeo, MP – provável proteína envolvida no movimento viral. Linhas abaixo das barras correspondem aos RNAs subgenômicos (sg) conhecidos (extraído e modificado de Miller & Rasochová, 1997).

## Ciclo da doença

Para que o vírus possa ser disseminado, é necessário a presença de plantas hospedeiras e do afídeo vetor. Ao se alimentar da seiva de plantas infectadas, o afídeo adquire partículas virais, as quais migram pelo seu trato digestivo, hemocele e se acumulam na glândula salivar (Fig. 5). O afídeo se mantém portador do vírus mesmo durante as mudanças de fase, porém o vírus não é transmitido à progênie do inseto. A transmissão ocorre quando o afídeo vírulífero se alimenta de uma planta sadia. Para adquirir o vírus, os afídeos necessitam de se alimentar de uma planta infectada, havendo um período de latência quando se tornam transmissores. Mais de 150 espécies de plantas, todas dentro da família Poaceae, são hospedeiras do vírus. Como o vírus não é transmitido por outro inseto, sementes, solo ou mecanicamente, a capacidade de infectar várias espécies de gramíneas perenes e anuais, hospedeiras alternativas, permitindo a sua sobrevivência durante o verão, e a capacidade de transmissão pelas diversas espécies de afídeo são componentes importantes na epidemiologia do vírus e no êxito de determinada estirpe-espécie. Durante o outono e primavera os afídeos migram das gramíneas infectadas para gramíneas sadias transmitindo o vírus. Particularmente para as condições da região sul do Brasil, ocorre a migração dos afídeos de plantações de aveia para os cultivos recém implantados de trigo.



**Fig. 5**. Representação diagramática das etapas do processo de aquisição e transmissão de partículas virais do vírus causador do nanismo amarelo em cereais. Partículas virais adquiridas junto com a seiva elaborada migram pelo aparelho digestivo, hemocele e se acumulam na glândula salivar acessória (GSA) de onde podem ser injetadas em uma nova planta (extraído e modificado de Miller & Rasochová, 1997).

## Diagnose

A presença de espécies de pulgões vetoras do vírus, de sintomas marcadores (alteração da cor do limbo foliar) e da distribuição dos sintomas no campo (em reboleiras) são indicativos da presença do BYDV. A diagnose, bem como a identificação da estirpe viral, pode ser realizada por teste sorológico (ELISA) havendo antissoros comerciais disponíveis para alguns serotipos: PAV, MAV e RPV. O diagnóstico mais preciso pode ser realizado por RT-PCR utilizando oligonucleotídeos específicos para as següências virais (Malmstrom & Shu, 2004).

#### Controle

Entre as estratégias de controle desta virose estão as práticas culturais, o controle químico e o controle biológico do vetor e a resistência genética da planta hospedeira ao vírus e/ou ao vetor (Fig. 6). As práticas culturais visam eliminar as "pontes verdes" que atuam como reservatórios do vírus e seu vetor fornecendo inóculo para culturas sadias em desenvolvimento. O controle do vetor apresenta dupla função, pois além de evitar a disseminação do vírus, elimina os danos diretos provocados na planta pelos

afídeos. Existem três estratégias que podem ser utilizadas para este fim: o controle biológico, o controle químico e a resistência genética. O controle biológico, realizado por espécies de microimenópteros, teve grande êxito no Brasil reduzindo de forma considerável a população de afídeos (Salvadori & Tonet, 2001). O controle químico pode ser realizado no tratamento de sementes e em aplicações após o estabelecimento da cultura, que são determinadas em função da população do afídeo (Salvadori & Tonet, 2001). A resistência genética da planta ao vetor, que inclui mecanismos como a não preferência, antibiose e tolerância (Painter, 1968), é considerada o método ideal para o controle de pragas, uma vez que não necessita da operação de aplicação, não apresenta custos diretos para o agricultor, não contamina o ambiente, sendo compatível com os demais métodos de controle. No Brasil, estudos de resistência de genótipos de trigo a afídeos foram realizados, sobretudo para o pulgão verde (*S. graminum*) (Rosa & Tonet, 1986) resultando em cultivares como Trigo BR 36 – lanomâmi, resistente a alguns biótipos desta espécie.

Foto: Douglas Lau



**Fig. 6**. Reação de duas cultivares de trigo à infestação com pulgões vírulíferos. Setas indicam o local da parcela no qual foi realizada a infestação.

A resistência genética ao vírus é caracterizada pela redução total ou parcial do título viral na planta, enquanto que a tolerância é caracterizada pela manutenção da produtividade e ausência de sintomas, mesmo a planta hospedeira suportando títulos virais similares a genótipos suscetíveis.

Entre os cereais cultivados existem poucas fontes de resistência disponíveis, sendo que, em sua maioria, tais fontes são apenas tolerantes ao vírus. Em geral, a tolerância ou a resistência é específica para certos isolados de um serotipo (Gray et al., 1993). Em cevada, o gene semidominante *Yd2*, que confere resistência a PAV e MAV (Baltenberger et al., 1987), tem sido empregado na produção de genótipos resistentes.

Em trigo, o gene *Bdv1*, parcialmente dominante, confere tolerância ao BYDV (Singh et al., 1993). A escassa disponibilidade de fontes de resistência vem tornando necessária a busca e incorporação de resistência a partir de outras espécies e gêneros da família Triticeae. O gênero *Thynopyrum* tem se mostrado uma fonte de resistência a diversas doenças dos cereais (Jones et al., 1995). Recentemente um segmento cromossômico de *Thynopyrum intermedium* contendo o gene de resistência *Bdv2* foi introduzido no genoma do trigo e linhagens de trigo resistentes ao BYDV foram obtidas. Marcadores moleculares baseados em PCR para o gene *Bdv2* estão disponíveis auxiliando na transferência deste gene para cultivares comerciais (Zhang et al., 2004). Este gene confere resistência completa para o subgrupo II de BYDV em todos os tecidos da planta, e resistência parcial para o subgrupo I (PAV) em tecidos da folha e da haste e nenhuma resistência na raiz. Apesar do uso destes genes em programas de desenvolvimento de cultivares resistentes, e da disponibilidade de marcadores moleculares localizados próximos, estes genes ainda não foram isolados e caracterizados.

No Brasil, em uma avaliação de genótipos de trigo, em que a ampla maioria foi considerada suscetível ou intolerante à virose, os genótipos IAS-28, Londrina (Pel 14410-64) e Norin, pelo nível de resistência e tolerância que apresentaram, foram consideradas fontes promissoras de resistência para os programas de melhoramento (Caetano, 1972). Mais recentemente, cultivares como BR 34 e BR 35 (descendente de IAC-5 Maringá, também considerada uma fonte de resistência ao nanismo amarelo, e de Londrina) foram consideradas fontes de resistência capazes de produzir descendentes tolerantes à virose (Barbieri et al., 2001).

As poucas fontes de resistência disponíveis e a baixa herdabilidade, devido ao caráter complexo de controle genético de características como a tolerância, têm obrigado a busca por novas alternativas para o desenvolvimento de plantas resistentes. Tais alternativas se tornaram possíveis com o advento da biologia molecular. No campo da resistência natural, a biologia molecular tem auxiliado no estudo dos mecanismos envolvidos na resistência. Neste sentido, não apenas as informações geradas dentro da própria cultura, mas também de outros hospedeiros e plantas modelo, podem fornecer alvos para a manipulação genética. Em trigo, um conjunto de genes potencialmente envolvidos na resistência foi detectado por meio da análise de expressão diferencial e poderão constituir alvos importantes para a manipulação gênica visando à resistência (Jiang et al., 2004). Outra alternativa de obtenção de plantas resistentes, particularmente empregada para viroses, é denominada de resistência derivada do patógeno. Esta consiste na manipulação e inserção de genes do próprio vírus na planta hospedeira. Existem duas estratégias que podem ser utilizadas: resistência mediada por RNA ou resistência mediada por proteínas (Baulcombe, 1996). Ambas as estratégias dependem de trabalhos prévios de clonagem e següenciamento de genes do patógeno. A resistência mediada ao nível de proteína baseia-se na interferência em etapas do ciclo viral, enquanto a resistência ao nível RNA baseia-se na ativação do silenciamento gênico pós transcricional que, em plantas, é considerado um mecanismo de defesa a vírus (Vance & Vaucheret, 2001). Sobretudo para esse último, é importante conhecer a variabilidade da população viral uma vez que o mecanismo é ativado de forma seqüência específica. Assim, em havendo grande variabilidade na população viral quanto à seqüência utilizada no desenvolvimento da planta transgênica, as plantas poderão ser resistentes para apenas alguns isolados do vírus.

# Referências bibliográficas

- BALTENBERGER, D. E.; OHM, H. W.; FOSTER, J. E. Reactions of oat, barley, and wheat to infection with *Barley yellow dwarf* isolates. **Crop Science**, Madison, v. 27, p. 195-198, 1987.
- BARBIERI, R. L.; CARVALHO, F. I. F.; BARBOSA NETO, J. F.; CAETANO, V. R.; MARCHIORO, V. S.; AZEVEDO, R.; LONRECETTI, C. Análise dialélica para tolerância ao vírus-do-nanismo-amarelo-da-cevada em cultivares brasileiras de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 131-135, 2001.
- BAULCOMBE, D. C. Mechanisms of pathogen–derived resistance to viruses in transgenic plants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, p. 1833–1844, 1996.
- CAETANO, V. R. **Estudo sobre o vírus do nanismo amarelo da cevada, em trigo, no Rio Grande do Sul**. 1972. 75 p. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- CASA, R. T.; REIS, E. M.; SCHONS, J. **Vírus do nanismo amarelo da cevada VNAC**. São Paulo:UPF, 2000. 22 p.
- D'ARCY, C. J.; BURNETT, P. A. *Barley yellow dwarf*: a brief introduction. In: D'ARCY, C. J.; BURNETT, P. A. (Ed.). *Barley yellow dwarf*: 40 years of progress. St Paul: American Phytopathology Society, 1995. p. 1-5.
- GRAY, S. M.; SMITH, D.; ALTMAN, N. *Barley yellow dwarf* virus isolate-specific resistance in spring oats reduced virus accumulation and aphid transmission. **Phytopathology**, St. Paul, v. 83, p. 716-720, 1993.
- JIANG, S.-M.; ZHANG, L.; HU, J.; SHI, R.; ZHOU, G.-H.; CHEN, Y.-H.; YIN, W.-B.; WANG, R. R. C; HU, Z.-M. Screening and analysis of differentially expressed genes from an alien addition line of wheat *Thinopyrum intermedium* induced by *Barley yellow dwarf virus* infection. **Genome**, Ottawa, v. 47, p. 1114-1121, 2004.
- JONES, S. S.; MURRAY, T. D.; ALLAN, R. E. Use of alien genes for the development of disease resistance in wheat. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 33, p. 429-443, 1995.
- LISTER, R. M.; RANIERI, R. Distribution and economic importance of *Barley yellow dwarf*. In: D'ARCY, C. J.; BURNETT, P. A. (Ed.). *Barley yellow dwarf*. 40 years of progress. St Paul: American Phytopathology Society, 1995. p. 29-53.
- MALMSTROM, C. M.; SHU, R. Multiplexed RT-PCR for streamlined detection and separation of barley and cereal yellow dwarf viruses. **Journal of Virological Methods**, London, v. 120, p. 69-78, 2004.
- MILLER, W. A.; RASOCHOVÁ, L. Barley yellow dwarf viruses. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35, p. 167-190, 1997.
- PAINTER, R. H. **Insect resistance in crops**. Lawrence: The University Press of Kansas, 1968. 520 p.
- ROCHOW, W. F. Biological properties of four isolates of *Barley yellow dwarf virus*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 59, p. 1580-1589, 1969.
- ROSA, O. S.; TONET, G. E. L. Melhoramento genético de trigo para resistência ao pulgão *Schizaphis graminum*. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Trigo. **Resultados de pesquisa do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo apresentados na XIV Reunião Nacional de Pesquisa de Trigo**. Passo Fundo, 1986. p. 187-188. (EMBRAPA-CNPT. Documentos, 8).

SALVADORI, J. R.; TONET, G. E. L. **Manejo integrado dos pulgões do trigo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2001. 52 p. (EMBRAPA-CNPT. Documentos, 34).

SCHONS, J.; DALBOSCO, M. Identificação das estirpes do vírus do nanismo amarelo da cevada. **Revista Brasileira de Fitopatologia**, Brasília, DF, v. 24, p. 359, ago. 1999. Suplemento, ref. 680. Edição dos Resumos do XXXII Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Curitiba, ago. 1999.

SINGH, R. P.; BURNETT, P. A.; ALBARRÁN, M.; RAJARAM, S. *BDV 1*: a gene for tolerance to *Barley yellow dwarf virus* in bread wheats. **Crop Science**, Madison, v. 33, p. 231-234, 1993.

VANCE, V.; VAUCHERET, H. RNA silencing in plants-defense and counterdefense. **Science**, Washington, v. 292, p. 2277-2280, 2001.

ZHANG, Z.-Y.; XU, J.-S.; XU, Q.-J.; LARKIN, P.; XIN, Z.-Y. Development of novel PCR markers linked to the BYDV resistance gene *Bdv2* useful in wheat for marker-assisted selection. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 109, p. 433-439, 2004.



Comitê de Publicações da Unidade Presidente: Leandro Vargas

Ana Lídia V. Bonato, José A. Portella, Leila M. Costamilan, Márcia S. Chaves, Maria Imaculada P. M. Lima, Paulo Roberto V. da S. Pereira, Rita Maria A. de Moraes

Expediente Referências bibliográficas: Maria Regina Martins

Editoração eletrônica: Aldemir Pasinato, Márcia Barrocas Moreira

LAU, D.; SALVADORI, J. R.; PEREIRA, P. R. V. da S. **Nanismo amarelo em cereais de inverno**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 16 p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 81). Disponível em: <a href="http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\_do81.htm">http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\_do81.htm</a>