



**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO**  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FLUTUAÇÃO SAZONAL DE B/CYDV E  
CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE ISOLADOS DE  
BYDV-PAV

**GABRIELA PARIZOTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de concentração em Fitopatologia.

Passo Fundo, março de 2011



UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOPATOLOGIA



A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

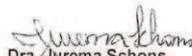
"Flutuação sazonal de B/CYDV e características biológicas de isolados de BYDV-PAV"

Elaborada por

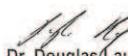
GABRIELA PARIZOTO

Como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em  
Agronomia – Área de Fitopatologia

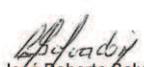
Aprovada em: 30/03/2011  
Pela Comissão Examinadora

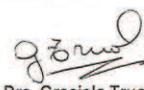
  
Dra. Jurema Schons  
Presidente da Comissão Examinadora  
Orientadora

  
Dr. Wilson Antonio Klein  
Coord. Prog. Pós-Graduação em Agronomia

  
Dr. Douglas Lau  
Embrapa Trigo  
Co-orientador

  
Dr. Hélio Carlos Rocha  
Diretor FAMV

  
Dr. José Roberto Salvadori  
FAMV/UPF

  
Dra. Graciela Truol  
IFFIVE/INTA, Argentina

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FLUTUAÇÃO SAZONAL DE B/CYDV E  
CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE ISOLADOS DE  
BYDV-PAV

**GABRIELA PARIZOTO**

**Orientador: Prof. Dra. Jurema Schons**

**Co-orientador: Dr. Douglas Lau**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de concentração em Fitopatologia.

Passo Fundo, março de 2011

“Mesmo que o trabalho iniciado não de resultados imediato  
..... O processo lento é mais seguro”

Aos meus pais, Voloi e  
Carmem e aos meus  
irmãos Daniela e Mateus  
pelo amor e permanente  
incentivo.

DEDICO E OFEREÇO

## AGRADECIMENTOS

### A Deus...

“Desde o início de minha caminhada - Tu estavas comigo.  
Dias e noites se passaram; vitórias foram conquistadas; derrotas  
foram superadas; amizades foram criadas; conhecimentos  
foram adquiridos...  
E agora que alcancei meu objetivo,  
Louvo-te, Agradeço-te e  
ofereço humildemente a vida, o amor, a  
felicidade, enfim, a vitória deste momento  
Obrigado Senhor.”

### Aos Pais...

“A vocês, que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la  
com dignidade, não bastaria um obrigada.  
A vocês, que me iluminaram os caminhos escuros com  
afeto e dedicação, para que os trilhássemos sem medo e cheios  
de esperança, não bastaria um muito obrigado.  
A vocês, que se doaram inteiros e renunciaram seus  
sonhos, para que, muitas vezes, pudesse realizar os meus não  
bastaria um muitíssimo obrigado.

A vocês pais por natureza, por opção e amor, não bastaria dizer que não tenho palavras para agradecer tudo isso... se pudesse fazê-los eternos... Eternos os faríamos.

A vocês, não mais que com justiça,  
Dedico esta vitória”.

### **Aos Mestres e Orientadores...**

A minha orientadora Dra. Jurema Schons, pela orientação, incentivo, compreensão e confiança depositada.

Ao co-orientador Dr. Douglas Lau, pela sua disponibilidade e acompanhamento exercido durante a execução do trabalho, permanente incentivo e paciência nas horas de incerteza.

Aos orientadores os maiores e mais sinceros agradecimentos pela orientação, colaboração e seus conhecimentos repassados durante todo o desenvolvimento do trabalho.

### **Aos amigos...**

Às pessoas que sempre estiveram ao meu lado, torcendo por mim, me ajudando, colegas e a equipe do laboratório de Fitovirologia da UPF e Laboratório de Entomologia da Embrapa Trigo Aos funcionários da Embrapa

Trigo (Egídio, Eduardo, Alcibaldo, Elias, Geraldo e Volmar)  
pela amizade e por toda a ajuda e disponibilidade de tempo e  
auxílio na execução dos trabalhos.

Agradeço aos amigos e colegas (Aveline Avozani,  
Adriane Rebonatto, Marcoandre Savaris, Silvana Lampert,  
Talita Mar, Gabriela Bessegato Arsego e Vânia Bianchin)  
agradeço pelo apoio, pelas conversas e convívio.

### **Outros agradecimentos**

À Universidade de Passo Fundo, aos seus professores e  
funcionários pela oportunidade de realizar o curso.

À CAPES pela concessão da bolsa viabilizando os  
estudos.

À Embrapa Trigo de Passo Fundo/RS pela oportunidade  
de realizar os experimentos em suas dependências.

Aos funcionários da Entomologia e da casa de apoio da  
Embrapa Trigo que contribuíram para a realização deste  
trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em  
Agronomia, pelos ensinamentos e disponibilidade.

Ao CNPq e CAPES/Fapergs pelo auxílio financeiro.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	17
1 INTRODUÇÃO.....	20
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1 Importância econômica de trigo e aveia.....	23
2.2 <i>Barley/Cereal yellow dwarf virus</i> .....	26
2.2.1 Taxonomia.....	27
2.2.2 Ocorrência de B/CYDV.....	29
2.3 Interação vírus – hospedeiro.....	31
2.3.1 Gama de hospedeiros.....	33
2.3.2 Sintomatologia.....	36
2.4 Transmissão e disseminação.....	41
2.4.1 Relação B/CYDV – Afídeos.....	44
CAPITULO I	
FLUTUAÇÃO SAZONAL DE BARLEY/CEREAL YELLOW DWARF VIRUS	
RESUMO.....	47
ABSTRACT.....	49
1 INTRODUÇÃO.....	51
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	53
2.1 Local de execução.....	53
2.2 Coletas de afídeos.....	54
2.3 Coletas de plantas.....	55
2.4 DAS-Elisa.....	55
2.5 Variáveis analisadas.....	57
2.6 Análise estatística.....	57
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
3.1 Amostragem de vetores.....	57
3.2 Amostragem de plantas.....	68
4 CONCLUSÕES.....	73
CAPITULO II	
CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA DE ISOLADOS DE BYDV-PAV DE REGIÕES PRODUTORAS DE CEREAIS DO BRASIL	

RESUMO.....	74
ABSTRACT.....	76
1 INTRODUÇÃO.....	78
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	80
2.1 Local de execução.....	80
2.2 Afídeos.....	81
2.3 Material vegetal.....	82
2.4 Isolados virais.....	82
2.5 Produção de inóculo.....	87
2.6 Determinações da eficiência de transmissão e patogenicidade.....	88
2.7 Delineamento experimental.....	89
2.8 Variáveis analisadas.....	90
2.9 Análise Estatística.....	90
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
3.1 Transmissão.....	91
3.2 Patogenicidade.....	100
4 CONCLUSÕES.....	106
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	107
REFERÊNCIAS.....	108
ANEXOS.....	123
ANEXOS 1.....	124
ANEXOS 2.....	124
ANEXOS 3.....	125
ANEXOS 4.....	125
ANEXOS 5.....	125

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>		
<b>1</b>	Espécies de B/CYDV transmitidas pelos afídeos mais importantes dos cereais.....	<b>43</b>
<b>CAPÍTULO 1</b>		
<b>1</b>	Afídeos coletados (percentual por espécie), agrupados por trimestre, independente do hospedeiro, Coxilha – RS, 2009/2010.....	<b>61</b>
<b>2</b>	Frequência relativa das espécies de afídeos e percentual de indivíduos virulíferos.....	<b>67</b>
<b>CAPÍTULO 2</b>		
<b>1</b>	Procedência e hospedeiro de origem dos isolados virais caracterizados.....	<b>85</b>
<b>2</b>	Comparativo entre percentuais de transmissão pelas principais espécies vetoras em 1972 (CAETANO, 1972) e 2010 em plantas de trigo.....	<b>95</b>
<b>3</b>	Percentagem média de plantas com sintomas de BYDV-PAV nas três avaliações realizadas em trigo e aveia.....	<b>101</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
 <b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	
1	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 (GILDOW & GRAY, 1993).....
	<b>45</b>
 <b>CAPÍTULO 1</b>	
1	Ocorrência de espécies de afídeos no período de janeiro de 2009 a julho de 2010, Coxilha – RS.....
	<b>58</b>
2	Percentual de afídeos por espécie coletada durante todo o período amostrado (janeiro de 2009 a julho de 2010) em Coxilha, RS.....
	<b>59</b>
3	Percentual de afídeos virulíferos coletados entre janeiro/2009 e julho/2010.....
	<b>63</b>
4	Relações entre o percentual total de ocorrência de espécies e percentual de afídeos infectados para cada espécie. A) <i>R. padi</i> virulíferos; B) <i>S. avenae</i> virulíferos.....
	<b>65</b>
5	Percentual de espécies de BYDV coletadas na área experimental da Embrapa - Trigo, Coxilha-RS no período de julho de 2009 a agosto de 2010.....
	<b>68</b>
6	Percentual de plantas soropositivas coletadas na área experimental da Embrapa-Trigo, Coxilha - RS no período de julho de 2009 a agosto de 2010.....
	<b>69</b>

7	Percentual de plantas e afídeos virulíferos coletados de julho de 2009 a julho de 2010 em Coxilha-RS.....	71
---	---	----

## CAPÍTULO 2

1	Mapa dos pontos de coleta de plantas com sintomas de B/CYDV em diferentes localidades de regiões produtoras de cereais de inverno do Brasil.....	83
2	Etapas dos testes de transmissão e patogenicidade.....	89
3	Estimativa da eficiência de transmissão de isolados de BYDV-PAV por espécies de afídeos vetores. Média dos 35 isolados analisados em trigo e aveia.....	93
4	Eficiência de transmissão, por isolado, em trigo por cinco espécies de afídeos vetores.....	98
5	Eficiência de transmissão por isolado, em aveia, por cinco espécies de afídeos vetores.....	99
6	Sintomas causados por <i>Barley yellow dwarf virus</i> – PAV em plantas de aveia e trigo. A) Planta de aveia exibindo sintomas típicos de avermelhamento e enrijecimento do limbo foliar, com folha lanceolada. B) Sintomas em plantas de trigo, a frente plantas infectadas exibindo redução da massa foliar e de estatura, atrás, plantas controle, sem infecção viral.....	101
7	Relação entre percentual de plantas de trigo e aveia com sintomas.....	102
8	Valores referentes a diferença entre trigo e aveia quanto ao percentual de plantas com sintomas 30 dias após a inoculação, a partir de dados referentes ao vetor mais eficiente.....	103

9	Valores referentes a diferença entre trigo e aveia quanto ao percentual de plantas com sintomas 45 dias após a inoculação, a partir de dados referentes ao vetor mais eficiente.....	<b>104</b>
10	Diferenças entre as médias do DAS-Elisa dos 35 isolados analisados pelo Teste T.....	<b>105</b>
11	Correlação entre valores obtidos por DAS-Elisa para trigo e aveia, considerando o vetor mais eficiente.....	<b>106</b>

FLUTUAÇÃO SAZONAL DE B/CYDV E  
CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE ISOLADOS DE  
BYDV-PAV

GABRIELA PARIZOTO<sup>1</sup>

**RESUMO** - A virose, conhecida como nanismo amarelo da cevada, causada por espécies de *Barley yellow dwarf virus* - BYDV e *Cereal yellow dwarf virus* - CYDV é considerada a mais frequente e economicamente impactante virose dos cereais de inverno, reduzindo a produção em cultivos no mundo todo. Espécies de BYDV e CYDV são transmitidas por diversas espécies de afídeos (Hemiptera, Aphididae) e são capazes de infectar mais de 150 espécies de plantas dentro da família Poaceae. Entre as espécies de BYDV e CYDV, BYDV-PAV predomina na maioria das regiões produtoras do mundo, inclusive nas regiões tricultoras brasileiras. Sendo assim, esse trabalho teve como objetivo obter dados de frequência das populações virais e vetoras em campo e analisar atributos biológicos que possam influenciar na dinâmica populacional. O monitoramento da flutuação temporal da população de espécies virais de B/CYDV foi realizado através de coletas semanais de afídeos vetores no período de 01/2009 a 07/2010 e coletas quinzenais de plantas com sintomas no período de 07/2009 a 08/2010 em parcelas de milho (verão), trigo e aveia (inverno) em Coxilha-RS. Os afídeos foram coletados ao acaso e transferidos individualmente para plantas de aveia ou trigo (conforme hospedeiro de origem) onde permaneceram por 10 dias para a transmissão. Após 30 dias, as plantas

---

<sup>1</sup> Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia - gabrielaparizoto@bol.com.br

foram avaliadas quanto a presença de sintomas e identificação viral, por DAS-Elisa. O mesmo teste sorológico foi aplicado às plantas coletadas no campo. A fim de determinar características biológicas que podem ter efeito direto sobre a flutuação viral, avaliou-se a capacidade de 35 isolados de BYDV-PAV, obtidos em regiões produtoras brasileiras (população 2007/2009) quanto a patogenicidade a dois hospedeiros (*Triticum aestivum* L. e *Avena strigosa* Schreb) e eficiência de transmissão por afídeos vetores (*Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae*, *Schizaphis graminum*, *Metopolophium dirhodum* e *Sipha maydis*). Inocularam-se 20 plantas para cada combinação isolado x planta hospedeira x vetor, utilizando três afídeos por planta (aquisição de 48h; transmissão de 72h). O diagnóstico de transmissão e infecção positivos foram realizados por avaliação de sintomas 15, 30 e 45 dias após a transmissão e por DAS-Elisa (30 dias). Dos 739 afídeos coletados, 12,7% transmitiram B/CYDV, sendo que deste total *R. padi* constituiu 92,5% e *S. avenae* 7,5%. Das espécies virais transmitidas por *R. padi*, 97,7% foram BYDV-PAV, 2,3% CYDV-RPV e 2,3% BYDV-MAV em infecção mista com BYDV-PAV. Indivíduos da espécie *S. avenae* coletados transmitiram apenas BYDV-PAV. Das 625 amostras de plantas coletadas, 65,8% apresentaram-se infectadas com BYDV-PAV (aveia e trigo) e 0,48% com BYDV-MAV (aveia) em infecção mista com BYDV-PAV. Tanto nas amostragens de plantas quanto de afídeos, BYDV-PAV foi a espécie predominante, sendo detectada em aveia e trigo e nos vetores *R. padi* e *S. avenae*. Todos os isolados foram transmitidos por *R. padi* (94,3%), seguido de *S. avenae* (76,1%) e *M. dirhodum* (63,4%). Nenhum dos isolados foi transmitido por *S. graminum* e *S. maydis*.

Todos os isolados foram capazes de infectar aveia e trigo. A alta eficiência de transmissão por três espécies de afídeos (de início e final de ciclo da cultura do trigo) e a patogenicidade ao trigo e a aveia são atributos que podem contribuir para a prevalência de BYDV-PAV.

**Palavras-chave:** B/CYDV, vetor, *Luteoviridae*, *Rhopalosiphum padi*.

SEASONAL FLUCTUATION OF THE B/CYDV AND  
BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ISOLATES OF  
BYDV-PAV

GABRIELA PARIZOTO

**ABSTRACT** – The viral disease known as yellow dwarf disease, caused by species of *Barley yellow dwarf virus* - BYDV and *Cereal yellow dwarf virus* - CYDV is considered the most frequent and economically significant virus of winter cereal crops, reducing production throughout the world. Species of BYDV and of CYDV are transmitted by diverse species of aphids (Hemiptera, Aphididae) and they are capable of infecting more than 150 species of plants within the Poaceae family. Among the species of BYDV and CYDV, BYDV-PAV predominates in most of the producing regions of the world, including the Brazilian wheat growing regions. Therefore, the objective of this study was to obtain frequency data of the viral and vector populations in the field and to analyze biological attributes that may influence the population dynamic. Monitoring of the temporal fluctuation of the population of B/CYDV species was performed through weekly collections of vector aphids in the period from 01/2009 to 07/2010 and collections every two weeks of plants with symptoms in the period from 07/2009 to 08/2010 in corn (summer), and wheat and oats (winter) plots in Coxilha-RS. The aphids were collected at random and individually transferred to oat or wheat plants (in accordance with the host of origin) where they remained for 10 days for transmission. After 30 days, the plants were evaluated in regard to the presence of symptoms and viral identification through

DAS-ELISA. The same serological test was applied to plants collected in the field. So as to determine biological characteristics that may have a direct effect on viral fluctuation, the capacity of 35 BYDV-PAV isolates, obtained in the Brazilian producing regions (population 2007/2009), for infecting two hosts (*Triticum aestivum* L. and *Avena strigosa* Schreb) and the efficiency of transmission by aphid vectors (*Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae*, *Schizaphis graminum*, *Metopolophium dirhodum* and *Sipha maydis*) were evaluated. Twenty plants for each combination isolate x host plant x vector were inoculated, using three aphids per plant (acquisition of 48h; transmission of 72h). The positive diagnosis of transmission and infection were performed by evaluation of symptoms 15, 30 and 45 days after transmission and by DAS-ELISA (30 days). Of the 739 aphids collected, 12,7% transmitted B/CYDV, such that of this total *R. padi* constituted 92,5% and *S. avenae* 7,5 %. Of the viral species transmitted by *R. padi*, 97,7% were BYDV-PAV, 2.3% CYDV-RPV and 2.3% BYDV-MAV in mixed infection with BYDV-PAV. Individuals of the species *S. avenae* collected transmitted only BYDV-PAV. Of the 625 plant samples collected, 65,8% were infected with BYDV-PAV (oats and wheat) and 0,48% with BYDV-MAV (oats) in mixed infection with BYDV-PAV. Both in sampling of plants and aphids, BYDV-PAV was the predominant species, being detected in oats and wheat and in the vectors *R. padi* and *S. avenae*. All the isolates were transmitted by *R. padi* (94,3%), followed by *S. avenae* (76,1%) and *M. dirhodum* (63,4%). None of the isolates were transmitted by *S. graminum* and *S. maydis*. All the isolates were capable of infecting oats and wheat. The high transmission efficiency

by three species of aphids (from beginning and end of the wheat crop cycle) and the pathogenicity to wheat and oats are attributes that may contribute to the prevalence of BYDV-PAV.

**Key words:** B/CYDV, vector, *Luteoviridae*, *Rhopalosiphum padi*.

## 1. INTRODUÇÃO

O nanismo amarelo da cevada é considerada a mais frequente e economicamente impactante virose dos cereais de inverno (PLUMB, 1983), sendo um fator limitador da produção de grãos no Brasil e no mundo (LISTER & RANIERI, 1995; CASA et al., 2000).

Este patossistema é composto de três elementos bióticos: o vírus, o vetor e o hospedeiro, os quais se influenciam mutuamente e sofrem efeitos de fatores do meio ambiente (IRWIN & THRESH, 1990). Os vírus constituem um complexo composto por espécies de *Barley yellow dwarf virus* – BYDV e *Cereal yellow dwarf virus* - CYDV pertencentes à família *Luteoviridae* (LISTER & RANIERI, 1995), cuja classificação considera especificidade de transmissão pela espécie vetora (ROCHOW et al., 1969), citopatologia em plantas hospedeiras (GILL & CHONG, 1979), organização do genoma e comparação de sequências gênicas (MARTIN & D'ARCY, 1995).

As espécies vetoras pertencem a ordem Hemiptera, família Aphididae, e comumente são denominadas de afídeos ou pulgões. Estes são tidos como os mais importantes insetos sugadores de cereais e responsáveis pela disseminação do B/CYDVs em várias partes do mundo (POWER & GRAY, 1995).

Mais de 150 espécies de plantas da família Poaceae, incluindo gramíneas cultivadas e plantas daninhas são hospedeiras de B/CYDVs. Cereais voluntários desempenham papel importante na epidemiologia dessa virose, por servirem de hospedeiros alternativos, permitindo a sobrevivência do vírus e do vetor durante o período de entre safra (IRWIN & TRHESH, 1990).

Este complexo patossistema é influenciado por vários fatores que afetam os componentes da epidemia, tais como condições do ambiente (precipitação, temperatura, umidade relativa, fotoperíodo), bem como pelos atributos da população componente (características da população viral, vetora e hospedeira). Como características da população viral podem ser citados: patogenicidade das espécies virais as espécies de plantas hospedeiras (gama de hospedeiros) e agressividade (severidade dos sintomas causados) e capacidade de transmissão por distintas espécies de afídeos.

Dada a importância da patologia são vastos e históricos os estudos executados e publicados sobre o tema. Nos principais países produtores de cereais, principalmente naqueles de economia desenvolvida, o conhecimento sobre a diversidade do patógeno, das suas interações com espécies vetoras e hospedeiras é crescente. Nas condições brasileiras os primeiros estudos foram realizados nos anos 1970. Naquela época foram levantadas informações sobre as principais espécies vetoras, gama de hospedeiros, eficiência de transmissão, reação de genótipos de trigo e estimativas de impacto na produção (CAETANO, 1972).

O cenário de produção de cereais e a epidemiologia da virose alteraram-se significativamente, no Brasil, desde os primeiros estudos efetuados a partir de 1970, principalmente com a introdução do controle biológico que foi um dos fatores a promover a alteração nos perfis da população do vetor. A dinâmica da população do vetor e do vírus torna imprescindível a contínua determinação das características biológicas da população viral predominante.

Sendo assim, esse trabalho objetivou obter dados de frequência das populações virais e vetorais em campo e analisar atributos biológicos que possam influir na dinâmica populacional do vírus. Assim, foi estudada a flutuação temporal da população de espécies virais de B/CYDV e esta correlacionada com o predomínio de vetores ao longo do ano. Duas características biológicas que podem ter efeito direto sobre a flutuação viral foram determinadas para de 35 isolados virais obtidos nas regiões produtoras brasileiras, a eficiência de transmissão por cinco espécies de afídeos vetores (*Schizaphis graminum*, *Rhopalosiphum padi*, *Sipha maydis*; *Sitobion avenae*; *Metopolophium dirhodum*) e a patogenicidade a duas espécies de plantas hospedeiras, trigo (*Triticum aestivum* L.) e aveia (*Avena sativa* L.).

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Importância econômica de trigo e aveia**

O trigo é um dos mais nobres alimentos e responde atualmente por cerca de 30% da produção mundial de grãos (CONAB, 2010). Além de ser um dos cereais de maior potencial produtivo (MUNDSTOCK, 1983) é a principal fonte energética na alimentação da população de muitos países e a segunda cultura em volume de produção de grãos, ficando atrás apenas do milho (ZYLBERSZTAJN et al., 2004).

Nas últimas cinco décadas, a produção mundial de trigo cresceu de 200 para mais de 650 milhões de toneladas/ano. A maior produtividade média entre os principais produtores de trigo no mundo é da União Européia (27 países), China, Índia e Estados Unidos, que representam 67% do total mundial (CANZIANI & GUIMARÃES, 2009).

Os países do MERCOSUL (Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai) segundo dados da safra 2003, são responsáveis por 3,7% da produção mundial de trigo (BISOTTO, 2005). Na América do Sul, a Argentina é o maior produtor desse cereal, estando em quinto lugar na lista dos maiores exportadores mundiais, com produção média de 12 milhões de toneladas anuais (CONAB, 2010). O Brasil não figura entre os principais países produtores de trigo. A participação da produção no total mundial costuma oscilar entre 0,5% e 1% (CANZIANI & GUIMARÃES, 2009).

No período 1973 – 78, a área média (2.710.613 ha) cultivada com trigo no Brasil representou somente 1,18% do total mundial, que foi de 228.353.000 ha. Devido à pequena área de cultivo e à baixa produtividade média no período, a produção brasileira foi de somente 0,63% do total (TOMASINI, 1982).

A região Sul sempre foi a maior produtora de trigo do país, respondendo por mais de 90% do total nacional. No Brasil a área cultivada com trigo na safra 2009/2010 foi de 2.428 mil ha, sendo o Estado do Paraná o maior produtor com 1.299,6 mil ha, (53,52% da área total), seguido do Rio Grande do Sul com 859,8 mil ha (35,41%) e Santa Catarina com 117 mil ha (4,82%) (CONAB, 2010). Segundo essa mesma fonte, a média nacional foi de 2.070 kg/ha, 15,7% inferior a da safra anterior.

Outro cereal que vem se destacando e ocupando espaço como cultura comercial é a aveia, essa que sempre foi uma das principais culturas utilizadas no Sul do Brasil. As aveias branca (*Avena sativa* L.) e preta (*Avena strigosa* Schreb) são cultivadas para produção de grãos, forragem verde, cobertura verde/morta de solo no inverno. O plantio da aveia preta antecedendo implantação de culturas de verão, no sistema de semeadura direta, atualmente vem despontando com finalidade de produção de grãos.

A aveia branca é um cereal adaptado às mais diferentes regiões edafoclimáticas, cultivada em todos os continentes do mundo devido ao intenso melhoramento genético e à variabilidade existente, que confere a esta cultura múltiplas formas de utilização (COMISSÃO..., 2006).

O cultivo deste cereal no Brasil vem crescendo continuamente em área e rendimento nos últimos anos, classificando-se, em 2004, como a sétima cultura em área cultivada (356.000 ha) e a oitava em produção de grãos (516.000 toneladas), o que corresponde a um rendimento médio de 1.374 kg.ha<sup>-1</sup>.

Visando à produção de grãos o cultivo desse cereal está concentrado no sul do Brasil, especialmente nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina (COMISSÃO..., 2006), sendo o Rio Grande do sul o maior produtor, superando Paraná, que até 2004 liderava em produtividade (CONAB, 2010).

Através da integração lavoura-pecuária, muitos agricultores do Sul, cultivam aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb) e aveia-branca (*Avena sativa* L.) forrageira imediatamente após a colheita das culturas de verão (soja e milho), nos meses de março a maio, realizam pastoreio no inverno e colhem forragem verde para conservação na forma de feno ou silagem. Estima-se que, atualmente, mais de dois milhões de ha estão sendo utilizados com o cultivo de aveia preta e outras forrageiras, no período de inverno, na integração da lavoura com a pecuária de leite, no Planalto Sul-riograndense (FLOSS et al., 2007).

O aumento da área de plantio e rendimento no sul do Brasil, que teve como consequência a auto-suficiência, é resultado de um manejo intensivo de solo e estratégias de cultivo, incluindo a aplicação de insumos e uso efetivo de medidas para aumentar a produtividade e garantir a qualidade dos grãos (COMISSÃO..., 2006).

A aplicação desse manejo intensivo se deve a reduções significativas que vinham sendo observadas na produtividade de cereais de inverno como um todo, causada na maioria das vezes por diversas

doenças, entre estas as viroses, das quais, o nanismo amarelo é uma das principais. Devido a sua ampla distribuição geográfica e gama de hospedeiros, o nanismo amarelo é reconhecido mundialmente como uma das principais doenças dos cereais de inverno (D'ARCY & BURNETT, 1995).

A redução na produtividade devido a essa virose pode ser severa, sendo seus efeitos mais estudados em aveia, trigo e cevada. No geral, aveia e cevada são mais afetadas do que o trigo. A severidade da doença é determinada por vários fatores como a suscetibilidade da cultivar, a agressividade da espécie viral envolvida, época de inoculação, o número de vetores envolvidos e as condições ambientais (IRWIN & THRESH, 1990). Embora difíceis de estimar, perdas globais na produtividade devido à infecção natural por este complexo viral, estas variam entre 11 e 33%, sendo citadas perdas de até 86%. A relação entre incidência da doença e perdas de produtividade é linear em trigo e aveia. Um incremento de 1% dessa virose causa redução de produtividade de 20 para 50 kg/ha em trigo e, de 30 a 60 kg/ha em aveia (MILLER & RASOCHOVÁ, 1997).

## **2.2 *Barley/Cereal yellow dwarf virus***

Os agentes causais do nanismo amarelo em cereais são espécies de vírus. Esses são patógenos estruturalmente simples, cujo ácido nucléico é RNA envolto por proteínas virais. O ácido nucléico contém a codificação para as proteínas virais, as quais são produzidas quando o vírus inicia seu ciclo no interior de uma célula hospedeira.

Os vírus são capazes de induzir a célula vegetal a produzir inúmeras cópias de partículas virais capazes de infectar novas células. Este ciclo ocorre inúmeras vezes passando de célula para célula do organismo hospedeiro, até que, em um evento conhecido como transmissão, o vírus atinge um novo organismo hospedeiro reiniciando o ciclo de infecção (AGRIOS, 1997).

### 2.2.1 Taxonomia

O vírus agente causal do nanismo amarelo foi originalmente nomeado de *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) e mais recentemente, dependendo da espécie viral, também *Cereal yellow dwarf virus* (CYDV) (van REGENMORTEL et al., 2000). Tais espécies apresentam como características determinantes partículas icosaédricas, medindo entre 25-30 nm de diâmetro (MILLER & RASOCHOVÁ, 1997); são vírus de RNA senso positivo com uma única fita de 5,5 a 6 kb (PEDERSEN et al., 2001). A infecção viral é restrita ao floema da planta e a transmissão se dá apenas por afídeos e não mecanicamente nem por semente, sendo a relação vírus vetor do tipo persistente circulativo (MILLER & RASOCHOVA, 1997; HULL, 2002).

O genoma dos membros da família *Luteoviridae* contém cinco (BYDV) ou seis (CYDV) regiões abertas de leitura (ORFs – do inglês *Open Reading Frame*). Os diferentes gêneros dessa família diferem ainda nas propriedades biológicas, organização genômica e seqüências gênicas (MILLER & RASOCHOVÁ, 1997).

Atualmente, a organização do genoma e diferenças nas sequências gênicas são critérios para a taxonomia de vírus (MILLER et al., 1995; van REGENMORTEL et al., 2000).

Originalmente, baseando-se na especificidade de transmissão por afídeos vetores foram discriminadas estirpes virais (ROCHOW, 1969). O critério utilizado foi a designação da estirpe pela letra inicial do nome científico da principal espécie do afídeo vetor: RPV transmitida preferencialmente por *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus); RMV por *R. maidis* (Fitch); MAV por *Macrosiphum avenae* (Fabricius) (reclassificado como *Sitobion avenae*); SGV por *Schizaphis graminum* (Rondani) e PAV tanto por *R. padi* como por *S. avenae* (PEDERSEN et al., 2001). Tais espécies podem ser identificadas por provas sorológicas (WATERHOUSE et al., 1988).

Segundo van Regenmortel (2002), o Comitê Internacional de Taxonomia de vírus, no ano de 2000 apresentou uma nova classificação para o BYDV, permanecendo na família *Luteoviridae* e reclassificado em gêneros distintos e em espécies (não mais estirpes). O BYDV-PAV, BYDV-MAV e BYDV-RGV são espécies do gênero *Luteovirus*. O BYDV-RPV, antigo subgrupo dois, foi posicionado na espécie *Cereal yellow dwarf virus - RPV* (CYDV-RPV) e classificado em um novo gênero denominado de *Polerovirus*. As espécies BYDV-RMV, BYDV-GPV, BYDV-SGV também pertencem à família *Luteoviridae*, entretanto, não estavam, até então, classificadas quanto ao gênero (van REGENMORTEL et al., 2000).

Entretanto em 2005, conforme Fauquet (2005) o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus, apresentou uma nova classificação para o BYDV, onde apenas, as espécies BYDV-PAV e

BYDV-MAV no gênero *Luteovirus*, continuam válidas, com a inclusão da espécie BYDV-PAS. O CYDV-RPV juntamente com uma nova espécie CYDV-RPS pertencem ao gênero *Polerovirus*. O BYDV-RMV, BYDV-SGV e BYDV-GPV continuam sem classificação quanto ao gênero (FAUQUET, 2005).

### 2.2.2 Ocorrência de B/CYDV

As espécies virais que causam o nanismo amarelo dos cereais e seus afídeos vetores estão distribuídas no mundo todo. Como existem diferenças na eficiência de transmissão das espécies virais e de afídeos vetores, a presença e o predomínio de uma dada espécie do afídeo vetor numa determinada região, pode determinar qual espécie viral será predominante (ROCHOW, 1959; D'ARCY & BURNETT, 1995).

Relatada pela primeira vez no início da década de 50, na Califórnia (OSWALD & HOUSTON, 1951), está atualmente presente em toda a América do Norte, Ásia, Europa, América do Sul, Austrália e Nova Zelândia (LISTER & RANIERI, 1995).

Desde então, muitos são os estudos a respeito do patógeno nos países europeus, produtores de cereais. A ocorrência de B/CYDV tem sido detectada em diferentes culturas no sudoeste da Grã-Bretanha, França, República Checa, Itália, Espanha. Espécies como BYDV-PAV, BYDV-MAV e CYDV-RPV são relatadas infectando gramíneas cultivadas (trigo, milho, aveia, cevada, centeio), voluntárias e pastagens. Entretanto, BYDV-PAV tem sido a espécie mais frequente

(LISTER et al., 1990; SIGNORET, 1990; HENRY & DEDRYVER, 1991; LECLERCQ-LE QUILLEC et al., 1995; POKORNÝ, 2006).

Espécies de B/CYDV ocorrem em gramíneas nativas e plantas cultivadas em toda a América do Norte. Surtos epidêmicos foram observados em várias regiões da América do Norte entre 1984 e 1985 e acarretaram perdas significativas devido à ampla abrangência. Em 1990 e década seguinte, no sudeste dos Estados Unidos da América, onde há extensas áreas cultivadas com trigo, com a expansão do cultivo de aveia houve aumento no número de relatos da virose, sendo BYDV-PAV a espécie predominante, embora relatos de CYDV-RPV também tenham sido comuns (BRIGGLE, 1984; CUNFER et al., 1994).

Entre 1980 e 1990, B/CYDV foi considerada a doença mais prejudicial aos cereais na Austrália e Nova Zelândia. Nesses países a incidência dessa virose varia de acordo com fatores climáticos, havendo maior ocorrência em regiões mais frias de clima temperado e precipitação pluviométrica elevada (JOHNSTONE, 1995). Na Nova Zelândia, espécies como BYDV-MAV, BYDV-RMV, CYDV-RPV, e BYDV-PAV foram identificadas (FARRELL & SWARD, 1989), destas, BYDV-PAV tem sido observada com maior incidência em lavouras de trigo e gramíneas perenes (HENRY et al., 1992).

Na China, BYDV atingiu proporções epidêmicas entre 1960 até final da década de 70 em uma vasta área de seu território, com redução na produtividade de trigo estimada em 20-30%. Na China, o trigo é a principal cultura infectada pelo BYDV-GPV, BYDV-PAV e BYDV-GAV e, menor frequência por BYDV-RMV (ZHOU et al., 1984, 1986, 1987). Espécies como BYDV-DAV, CYDV-RPV e

BYDV-GPDAV, também são observadas, sendo a espécie BYDV-GPV predominante (ZHANG et al., 1983).

Na América do Sul, a doença está descrita nos principais países produtores. A ocorrência de BYDV na Argentina foi confirmada em 1978 (ARAYA, 1990). Segundo Truol (2002), sintomas associados ao nanismo amarelo da cevada foram observados nas regiões produtoras de grãos no nordeste do país, sendo BYDV-PAV a espécie mais freqüente.

No Brasil, sintomas típicos da virose foram observados desde 1929 em lavouras de cereais de inverno, tendo sua etiologia estabelecida em 1967 (CAETANO, 1968). A partir de então foram detectados BYDV-PAV, BYDV-MAV e CYDV-RPV (SCHONS & DALBOSCO, 1999).

### **2.3 Interação vírus – hospedeiro**

Os fitovírus são patógenos de plantas muito estudados devido ao impacto econômico que causam em diferentes culturas e também como modelos e ferramentas de estudo da interação planta-patógeno, devido a sua simplicidade estrutural e facilidade de manipulação. No entanto, a despeito dessa simplicidade (genoma composto por poucos genes) e dos inúmeros estudos realizados, muito dos mecanismos pelos quais os sintomas das doenças virais são gerados são desconhecidos. Muitos avanços foram obtidos com relação aos mecanismos pelos quais as plantas resistem a infecção viral (KANG et al., 2005).

O processo pelo qual um patógeno causa doença em um dado organismo, dito hospedeiro, é conhecido como patogênese. No caso dos vírus, que não apresentam metabolismo próprio e que fazem uso da maquinaria celular, ao menos três genes são necessários para cumprir o ciclo infeccioso. O gene da capa protéica que codifica para uma proteína estrutural, ou seja, que compõem a partícula viral. A proteína da capa protéica além do papel estrutural de envolver o material genético pode ter importância nas etapas de transporte e transmissão do vírus. Um segundo gene essencial é aquele que codifica para a proteína que irá multiplicar o material genético do vírus, a polimerase viral. O terceiro gene essencial é o gene que codifica para a proteína de movimento do vírus na planta (HULL, 1989).

Além desses genes essenciais, os vírus podem ter genes que apresentam o papel de neutralizar respostas de defesa de seus hospedeiros, genes que auxiliam na transmissão pelo vetor e outros genes que codificam proteínas específicas para as estratégias de replicação e tradução das proteínas virais (HULL, 1989).

Os órgãos e tecidos das plantas hospedeiras colonizados pelos fitovírus podem variar. Muitos vírus colonizam as células do parênquima, enquanto outros ficam restritos a determinados tecidos. Esse é o caso dos vírus do nanismo amarelo que ficam restritos ao floema de seus hospedeiros (HULL, 1989).

Uma característica biológica muito importante dos vírus é a sua gama de hospedeiros. A amplitude da gama de hospedeiros é definida em função da amplitude de conservação das vias de infecção adotadas pelo vírus em diferentes hospedeiros. Como para cumprir o ciclo infeccioso, as proteínas virais precisam interagir com as proteínas

das células hospedeiras, se tais proteínas hospedeiras forem conservadas em um grande número de hospedeiros, existe a chance de todos estes serem suscetíveis ao vírus. A gama de hospedeiros dos vírus é variada, e normalmente restrita a determinado nível taxonômico. No caso dos vírus do nanismo várias espécies de gramíneas (família *Poaceae*) são suscetíveis ao vírus, não havendo relatos de indivíduos suscetíveis fora dessa família (IRWIN & THRESH, 1990).

### 2.3.1 Gama de hospedeiros

A importância do B/CYDV resulta da sua ocorrência em diversos continentes, volume de perdas que causa, bem como pelo largo círculo de hospedeiras entre cereais e gramíneas forrageiras (BRUEHL, 1961; CAETANO, 1972).

Isolados de B/CYDV podem infectar plantas monocotiledôneas, possuindo um número alto de hospedeiros, constituído por mais de 150 espécies, pertencentes à família *Poaceae* (MILLER & RASOCHOVÁ, 1997).

Dentre os hospedeiros cultivados estão inclusos arroz (*Oryza sativa* L.), aveia (*Avena sativa* L.), cevada (*Hordeum vulgare* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), centeio (*Secale cereale* L.), milho (*Zea mays* L.) e sorgo (*Sorghum bicolor* L.) (D'ARCY, 1995), bem como outras gramíneas e espécies forrageiras (CAETANO, 1972), que servem como hospedeiros e podem ter função importante como reservatórios para o vírus (CASA et al., 2000) nos períodos de entre safra.

O grande número de espécies hospedeiras se deve, principalmente, a grande diversidade de espécies vetoras, com hábitos alimentares diferentes e os mecanismos variados de adaptação desenvolvidos pelos vírus para garantir a sobrevivência (D'ARCY, 1995).

Na França, a epidemiologia do BYDV é caracterizada principalmente pela alternância de vetores e vírus entre os hospedeiros de verão (principalmente milho) e hospedeiros de inverno (principalmente de cevada e trigo). No início do outono, pulgões alados, potencialmente vetores, saem do milho e infestam cereais de inverno na fase de plântula. Durante a primavera, esses afídeos, potencialmente vetores, deixam a cevada e o trigo, em estágio mais avançado e migram para a cultura de milho. No final do verão, a multiplicação desses afídeos no milho conduz a grandes populações de vetores, especialmente *Rhopalosiphum padi* (HAACK et al., 2002). Ainda, gramíneas forrageiras como capim bromo, panasco, festuca, capim italiano e azevém perene, preponderantes na agricultura do país, têm sido relatadas como hospedeiras importantes em função do seu papel como reservatórios desse vírus (BYDV) e seus afídeos vetores. A incidência de BYDV nesses hospedeiros varia de 6 a 80% dependendo da espécie hospedeira (HENRY & DEDRYVER, 1991).

No estado de Indiana (Estados Unidos da América), Fargette et al. (1982) realizaram um estudo com espécies de forrageiras perenes e algumas anuais a fim de observar a possibilidade das mesmas estarem servindo como reservatório do BYDV que passaria a causar doença mais tarde na cultura do trigo. Confirmando a hipótese, 50% das plantas analisadas estavam infectadas pelo vírus.

Comas et al. (1993) detectaram em plantas de milho coletadas no Nordeste da Espanha a presença de espécies de *Barley yellow dwarf virus*, evidenciando a importância dessa cultura como reservatório de BYDV.

A ocorrência de vírus da família *Luteoviridae* em gramíneas anuais e milho foi relatada na região sul da República Checa. Tanto plantas de milho como espécies de ervas daninhas coletadas (*Echinochloa crusgalii*, *Setaria pumila* e *Phalaris canariensis*) apresentaram-se infectadas com a espécie BYDV-PAV. A ocorrência deste patógeno nessas plantas variou de acordo com a localidade e o ano da amostragem, sugerindo que o milho e espécies de ervas daninhas anuais no sul da Morávia podem servir como uma importante fonte de virose para cereais de inverno, pois estas espécies atuam com "ponte verde" para esta espécie de vírus (POKORNÝ, 2006).

No Reino Unido, em geral, algumas evidências empíricas sugerem que os problemas causados por BYDV são maiores após dois anos consecutivos de invernos suaves com verão úmido intercalando-os. O primeiro inverno ameno propicia elevada proporção de clones de *R. padi* no ano seguinte. O inverno ameno favorece maior colonização e multiplicação dos afídeos. Com a ocorrência de verão úmido, há abundante fornecimento de gramíneas de boa qualidade suprimindo a falta de hospedeiros para os afídeos, entre a secagem de uma cultura e emergência da próxima, servindo de reservatório do vírus e dos vetores nesse período crítico. Um segundo inverno ameno permite uma grande dispersão dos afídeos, potencialmente vetores para as lavouras

cultivadas, tornando-se assim um grande problema (HARRINGTON, 2002).

Nas condições Sul - brasileiras, durante o outono e primavera os afídeos migram de gramíneas infectadas, transmitindo o vírus. Como diversas gramíneas são hospedeiras do vírus, estas podem atuar como reservatórios da população viral ao longo do ano. Pela extensão de cultivo, nas condições brasileiras, a aveia e o trigo são importantes hospedeiros. O plantio antecipado da aveia, especialmente aveia preta em relação ao trigo pode determinar uma expansão da população de vetores virulíferos aptos a transmitir o vírus para o trigo, sobretudo porque a aveia preta é uma boa multiplicadora do vírus (LAU et al., 2008).

### **2.3.2 Sintomatologia**

Os sintomas do BYDV variam de acordo com a cultivar, a idade da planta, a espécie do vírus, o tempo de infecção, o número de afídeos presentes e as condições ambientais (BURNETT & MEZZALAMA, 1983).

Os sintomas são resultantes da alteração da translocação normal ocorrida nos tecidos, devido ao comprometimento dos vasos condutores em função da infecção viral (CAETANO, 1972). Por ser um vírus restrito ao floema da planta hospedeira, o dano mais evidente ocorre nos vasos desse sistema condutor (CASA et al., 2000). As alterações fisiológicas ocorrem no início da infecção antes que os sintomas sejam visíveis, primeiramente nas células dos tubos crivados

onde ocorreu a inoculação do vírus, estendendo-se depois às células adjacentes (ESAU, 1967; FIGUEIRA, 1997).

O floema apresenta vários graus de degenerescência variando conforme a espécie hospedeira, o estágio em que a planta é infectada e ainda entre folhas novas e velhas dentro de uma mesma planta (ESAU, 1967; FIGUEIRA, 1997). Não há evidências que o vírus altere o desenvolvimento dos tecidos do floema, mas ele causa morte ou colapso da célula depois do desenvolvimento. Conforme Caetano (1972) é bastante provável que sintomas resultem do impedimento da translocação da seiva elaborada.

Plantas infectadas apresentam maior número de células na folha ao invés de aumento no tamanho das mesmas, o que explica provavelmente o espessamento das folhas, necroses localizadas que interrompem a continuidade do mesofilo que dão origem a bordas serrilhadas e; células com desenvolvimento desigual ocasionando ondeamento no limbo foliar (CAETANO, 1972).

Os maiores danos são identificados quando o vírus é inoculado na fase de plântula, ou seja, nos estádios iniciais de desenvolvimento das plantas (CASA et al., 2000), mas é possível também identificar sintomas fortes em plantas infectadas em um estágio mais avançado quando inoculadas com alta carga viral (CAETANO, 1972).

Os sintomas causados pelo BYDV são característicos por causar redução drástica na estatura das plantas infectadas, devido ao encurtamento dos entrenós (D'ARCY, 1995) e redução no teor de clorofila das folhas, passando essas, a apresentar cores amareladas ou avermelhadas quebradiças e mais eretas (FIGUEIRA, 1997).

Os efeitos mais drásticos do BYDV nas plantas são observados nas raízes, no periciclo e nas células parenquimatosas do floema perto dos tubos crivados, onde são observadas mudanças degenerativas consideráveis (ESAU, 1967; FIGUEIRA, 1997). Portanto, plantas infectadas podem apresentar ainda um sistema radicular menos desenvolvido em relação às plantas sadias (FIGUEIRA, 1997). Com isso as raízes exploram um volume menor de solo, tornando-as suscetíveis a variação de umidade e a estresses hídricos (CAETANO, 1972). Nas espigas, pode causar a esterilidade basal, apical ou em alguns casos total, reduzindo o número e o peso das espigas (FIGUEIRA, 1997).

Os sintomas induzidos por BYDV são muitas vezes difíceis de distinguir dos sintomas causados por outros agentes fisiológicos (MILLER & RASOCHOVÁ, 1997), podendo esse ser confundido com deficiência nutricional, como de nitrogênio e de fósforo, ou com distúrbios fisiológicos como, estresse hídrico devido à encharcamento do solo (WATKINS & LANE, 2003). Esse fenômeno é observado na cevada aonde ocorre amarelecimento que começa nas extremidades e nas margens das folhas e se estende rapidamente a folha toda. Sintoma esse que pode algumas vezes ser confundido com deficiência de nitrogênio (CAETANO, 1972).

Dependendo da época da infecção, a maioria das variedades sofre redução no número de perfilhos que pode ocorrer por falta de desenvolvimento dos mesmos, quando a infecção ocorre muito cedo, em plântulas no estágio de uma a duas folhas, ou por morte de perfilhos já desenvolvidos, quando estes estão ainda novos e ocorra infecção sistêmica da planta pelo vírus. Entretanto, algumas variedades têm um

aumento no número de perfilhos quando infectadas pelo BYDV, mas esses apresentam pouco vigor e são improdutivos. As plantas ainda podem apresentar perfilhos em diversos níveis de desenvolvimento, ausentes ou sem menor interferência, variando conforme a fase de infecção (CAETANO, 1972).

Os efeitos da temperatura são extremamente importantes na manifestação dos sintomas, apresentando-se dentro de duas semanas se a temperatura estiver em torno de 20 °C e, dentro de quatro semanas se estiver em 25 °C (WIESE, 1991), podendo, acima desta, ser mascarado. Outro fator importante é a luminosidade, sendo que a baixa luminosidade aumenta o período de incubação do BYDV e reduz a severidade dos sintomas (CAETANO, 1972).

Os sintomas são percebidos pelo aparecimento de áreas cloróticas no limbo foliar, evoluindo da ponta para a base das folhas, podendo essa perder toda a coloração nos estádios mais avançados da infecção (FIGUEIRA, 1997). Um fator importante que determina a severidade dos sintomas é a espécie de B/CYDV que é inoculada. Uma variedade pode ser tolerante para uma espécie e suscetível a outra. A apresentação do sintoma da doença se expressa de acordo com o nível de tolerância da planta, sendo mais ou menos intenso. A disponibilidade de água influencia de maneira marcante na intensidade de reação da planta. Outro fator é a fertilidade do solo onde a planta infectada está se desenvolvendo, sendo que em alguns casos como na cevada, o desenvolvimento da coloração foliar anormal é mais evidente em solos férteis (CAETANO, 1972).

Em trigo, centeio, triticale e cevada os efeitos do BYDV são semelhantes. Quando a inoculação acontece na fase de plântula, os

sintomas apresentados são clorose e nanismo. Em um estágio posterior, as folhas se tornam amareladas, podendo mostrar um leve avermelhamento, sendo que algumas vezes as margens das folhas de trigo podem ser serrilhadas. Em lavouras de trigo infectadas, as espigas permanecem eretas e podem se tornar escurecidas durante o amadurecimento, devido à presença de fungos patogênicos (BURNETT & MEZZALAMA, 1983).

Os sintomas em trigo nem sempre são evidentes. Às vezes ficam restritos ao nanismo que pode resultar em perda de rendimento substancial embora permaneça indetectado (D'ARCY, 1995).

Dos cereais de inverno, a aveia é o que apresenta sintomas de mais fácil reconhecimento, contribuindo portanto, para a diagnose no campo (CASA et al., 2000). Em plantas de aveia infectadas ocorre nanismo e desenvolvimento nas folhas de diversas tonalidades de vermelho, variando do vermelho-vinho ao alaranjado, e em poucos casos o amarelo (BURNETT & MEZZALAMA, 1983), com aspecto de queimadura, dependendo das condições climáticas. Em locais com temperaturas baixas a tendência é de apresentar cor vermelha ou púrpura (FIGUEIRA, 1997).

Há ainda abortamento ou esterilidade das espiguetas na fase de formação, deixando-as esbranquiçadas (CAETANO, 1972; MILLER & RASOCHOVÁ, 1997), ou pode ainda reduzir o peso e o número de grãos (CASA et al., 2000).

As alterações observadas na estrutura e na função das células infectadas podem se refletir de diversas maneiras na fisiologia da planta infectada (FIGUEIRA, 1997), como redução na eficiência de translocação, resultando em acúmulo de carboidratos causando

enrijecimento das folhas; aumento do peso seco pelo acúmulo de amidos e açúcares como frutose e sacarose; inibição da fotossíntese pela diminuição na concentração e da eficiência da clorofila e também pela diminuição da área foliar; aumento na respiração logo após a infecção. Devido a isso, nessas plantas as folhas bandeiras apresentam-se rígidas, eretas e lanceoladas (CASA et al., 2000).

#### **2.4 Transmissão e disseminação**

A transmissão de hospedeiro para hospedeiro é a chave principal do ciclo biológico de uma virose (NAULT, 1997).

Diversos organismos podem atuar como vetores de fitovírus como fungos, insetos, ácaros, plantas parasitas entre outros. Os insetos, pela diversidade e número de espécies que se alimentam de plantas, são importantes transmissores de fitovírus. Entre estes se destacam os afídeos (Hemiptera, Aphididae), capazes de transmitir várias espécies de vírus, entres estes, os membros da família *Luteoviridae* (MILLER & RASOCHOVÁ, 1997).

Afídeos são insetos de corpo mole, piriforme e pequeno, com antenas filiformes relativamente longas. Possuem uma pequena cauda (codícola) que fica entre dois processos abdominais alongados, denominados sifúnculos (SALVADORI, 2000b; GALLO et al., 2002; GASSEN, 2003). Possuem aparelho bucal sugador labial tetraqueta, (GALLO et al., 2002), alimentam-se da seiva das plantas, causando danos pela extração desta, efeito tóxico da saliva e transmissão de fitopatógenos (SALVADORI, 2000b; GALLO et al., 2002; GASSEN, 2003).

Dependendo das condições climáticas, os afídeos apresentam reprodução sexual com produção de ovos que permitem a sobrevivência no inverno (HALBERT & VOEGTLIN, 1995). Em regiões de climas mais amenos (sem invernos muito rigorosos), como no Brasil, são vivíparos e reproduzem-se por partenogênese telitóca (SALVADORI & TONET, 2001). Desenvolvem-se por paurometabolia, com quatro estádios ninfais, multiplicam-se rapidamente (aproximadamente uma geração por semana), originando colônias numerosas, constituídas de ninfas e fêmeas ápteras e aladas (formas de disseminação) (SALVADORI, 2000b; GALLO et al., 2002; GASSEN, 2003).

O clima frio aumenta a duração do ciclo de vida e diminui a multiplicação (SALVADORI, 2000a). Desenvolvem-se e se multiplicam melhor em temperaturas amenas (18 a 25 °C) e em períodos de pouca chuva, podem viver até três meses sob temperatura inferior a 5 °C, e morrer a temperaturas constantes superiores a 28 °C (GASSEN, 2003).

Espécies de B/CYDV são transmitidas por mais de 25 espécies de afídeos (D'ARCY, 1995).

No Sul do Brasil, dez espécies foram citadas em trigo por Caetano (1973). Conforme Salvadori & Tonet (2001) *Schizaphis graminum* (Rondani, 1952), *Metopolophium dirhodum* (Walker, 1849) *Sitobion avenae* (Fabricius, 1794), *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus, 1758), *Rhopalosiphum rufiabdominalis* (Sasaki, 1899) e *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856), são consideradas as espécies de maior importância. Recentemente foi constatada em lavouras de trigo no Brasil a espécie de pulgão *Sipha (Rungsia) maidis* (Passerini, 1860),

que ocorre mais frequentemente nos meses de verão e primavera (PEREIRA et al., 2008)

Pesquisas realizadas com diversos isolados de vírus do nanismo amarelo demonstram que estes possuem espécies que se distinguem por sua virulência na planta hospedeira, na capacidade de infectar diferentes gêneros e espécies de gramíneas e na eficiência de transmissão pelos vetores, podendo a relação ser específica, preferencial ou indiferente por mais de uma espécie de afídeo (BURNETT & MEZZALAMA, 1983; van REGENMORTEL et al., 2000). A eficiência de transmissão pelas distintas espécies de afídeos vetores é um dos primeiros critérios biológicos para separar as espécies deste grupo de vírus (Tabela 1) (GILDOW, 1987). A especificidade de transmissão não é estática e estudos realizados com populações virais de diferentes países mostram variações no quadro previamente estabelecido por Rochow (1970), conforme Gildow (1987)

**Tabela 1.** Espécies de B/CYDV transmitidas pelos afídeos mais importantes dos cereais

Espécie de afídeo	Espécie de B/CYDV				
	MAV	PAV	RPV	RMV	SGV
<i>Metopolophium dirhodum</i>	+	+	-	-	-
<i>Rhopalosiphum maidis</i>	-	-	-	+	-
<i>Rhopalosiphum padi</i>	-	+	+	-	-
<i>Rhopalosiphum rufabdominalis</i>	-	+	+	+	-
<i>Schizaphis graminum</i>	-	+	+	-	+
<i>Sitobion avenae</i>	+	+	-	-	-

Fonte: Gildow (1987).

(+) Indica as espécies de afídeos descritas como transmissoras dos isolados de B/CYDV em experimentos com apenas um afídeo. A eficiência de transmissão varia de acordo com a combinação vírus – vetor.

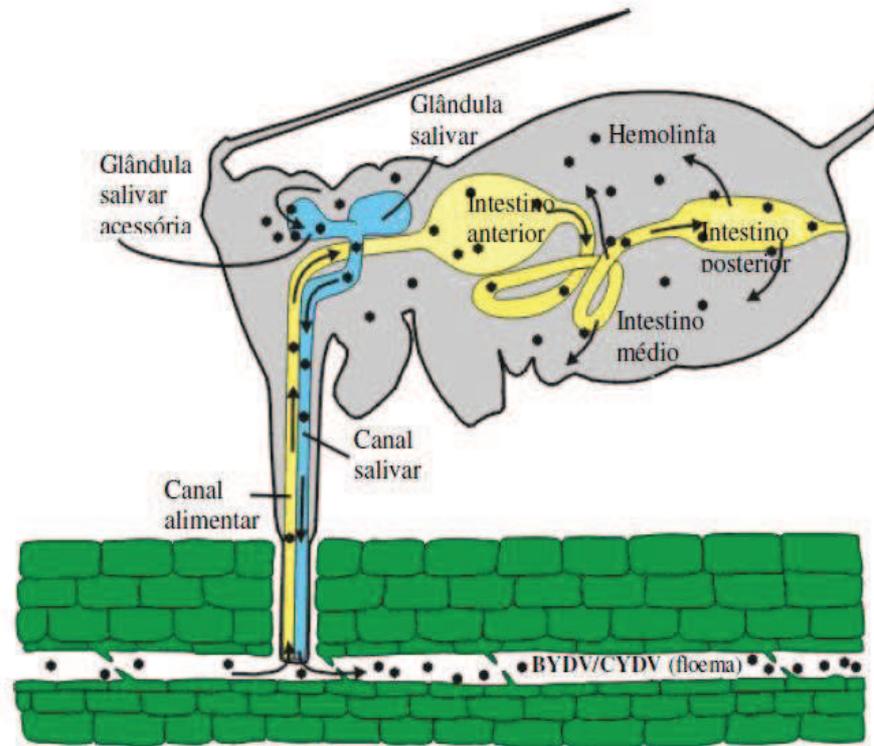
#### 2.4.1 Relação B/CYDV – afídeos

A relação B/CYDV-afídeos é do tipo persistente circulativa não propagativa. O vírus adquirido de uma planta infectada circula pelo corpo do inseto, mas não se multiplica em seus tecidos (FIGUEIRA, 1997). Como o vírus persiste no inseto mesmo após as ecdises, o vetor é portador (virulífero) e um potencial transmissor por toda a sua vida (IRWIN & THRESH, 1990; FIGUEIRA, 1997; COSTA, 1998). Contudo, não ocorre transmissão transovariana, ou seja, os vírus não são transmitidos para a progênie do inseto (MILLER & RASOCHOVÁ, 1997).

B/CYDV são espécies virais restritas ao floema da planta hospedeira e, portanto, para que o vetor adquira as partículas virais existe a necessidade de se alimentar diretamente de tecidos infectados. A aquisição refere-se ao processo pelo qual a partícula do vírus passa dos tecidos da planta infectada para o interior do afídeo, através do canal alimentar, juntamente com a seiva do floema durante o processo de alimentação. Uma vez no trato digestivo do inseto, as partículas virais passam pelo intestino anterior, médio e chegam ao intestino posterior, onde se ligam ao plasmalema apical, iniciando a endocitose nas células epiteliais que formam a parede do intestino (GILDOW & GRAY, 1993).

As partículas virais que não entram em contato com essas células e não são reconhecidas por receptores virais específicos nas membranas continuam se movendo através do canal alimentar e são excretadas. As partículas virais que sofrem endocitose são então transportadas, cobertas e agrupadas em vesículas tubulares que se

movem para o plasmalema basal, sendo liberadas então na hemolinfa por exocitose (Figura 1).



**Figura 1** - 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 (GILDOW & GRAY, 1993).

O tempo necessário para a aquisição é variável (FIGUEIRA, 1997), pois as partículas virais são retidas por horas ou dias de acordo com as relações estabelecidas entre a planta hospedeira, o vírus e o vetor. Essas relações são descritas desde a alimentação do

vetor, realizado no floema, até as interações biológicas e moleculares, envolvendo respectivamente endosimbiontes e proteínas que conferem elevada especificidade entre o vetor e o vírus (GRAY & BANERJEE, 1999). Em geral, após o início da ingestão, cerca de 12 a 16 horas, são necessárias para o vírus ser afetivamente transportado através do tubo digestivo, células epiteliais e libertado na hemocele do afídeo (GARRET, 1996).

Uma vez na hemolinfa, a próxima etapa no caminho das partículas virais é atingir a glândula salivar acessória. Para isto, têm que passar por pelo menos três barreiras. Logo que as partículas entram na hemocele, elas precisam passar através da lâmina basal e da membrana celular, que circundam a glândula salivar acessória (GILDOW & GRAY, 1993). Após a penetração na glândula salivar, as partículas são transportadas, revestidas em vesículas, através do citoplasma até o ducto salivar, sendo aí liberadas (GILDOW & GRAY, 1993). As partículas são então injetadas no floema das plantas através da saliva dos afídeos durante a alimentação.

Devido a íntima relação entre o vírus e o vetor, vários são os determinantes genéticos da transmissão e, portanto, várias são as proteínas do vírus e do vetor que interagem durante as fases de aquisição, retenção e passagem do vírus através das células da parede do ducto alimentar para a hemocele e de entrada e liberação na glândula salivar (COSTA, 1998).

## CAPÍTULO I

### FLUTUAÇÃO SAZONAL DE BARLEY E CEREAL YELLOW DWARF VIRUS

GABRIELA PARIZOTO<sup>1</sup>

**RESUMO** – O nanismo amarelo de cereais de inverno é uma doença causada várias espécies de vírus (família *Luteoviridae*) transmitidas de forma distinta pelas principais espécies de afídeos que acometem estas culturas. As condições climáticas do sul do Brasil determinam oscilações nas populações hospedeiras e também das espécies vetoradas. O objetivo deste trabalho foi verificar a oscilações na população viral e associá-las as plantas hospedeiras e vetores ao longo do período amostrado. Através de coletas semanais de afídeos vetores no período de 01/2009 a 07/2010 e coletas quinzenais de plantas com sintomas no período de 07/2009 a 08/2010 monitorou-se a flutuação temporal da população viral em parcelas de milho (verão), trigo e aveia (inverno) em Coxilha-RS. Os afídeos foram coletados ao acaso e transferidos individualmente para plantas de aveia ou trigo (conforme hospedeiro de origem) onde permaneceram por 10 dias para a transmissão. Após 30 dias, as plantas foram avaliadas quanto a presença de sintomas e identificação viral, por DAS-Elisa. O mesmo teste sorológico foi aplicado às plantas coletadas no campo. Dos 739 afídeos coletados, 12,7% transmitiram B/CYDV, sendo que deste total *R. padi* constituiu 92,5% e *S. avenae* 7,5 %. Das espécies virais transmitidas por *R.*

---

<sup>1</sup> Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia - gabrielaparizoto@bol.com.br

*padi*, 97,7% foram BYDV-PAV, 2,3% CYDV-RPV e 2,3% BYDV-MAV em infecção mista com BYDV-PAV. Indivíduos da espécie *S. avenae* coletados transmitiram apenas BYDV-PAV. Das 625 amostras de plantas coletadas, 65,8% apresentaram-se infectadas com BYDV-PAV (aveia e trigo) e 0,48% com BYDV-MAV (aveia) em infecção mista com BYDV-PAV. Tanto nas amostragens de plantas quanto de afídeos, BYDV-PAV foi a espécie predominante, sendo detectada em aveia e trigo e nos vetores *R. padi* e *S. avenae*. Considerando que BYDV-PAV é transmitida com eficiência por *R. padi*, tal predomínio pode estar relacionado à ocorrência desse vetor desde a implantação da cultura de aveia e de trigo e a sua permanência ao longo do ano nas plantas voluntárias de trigo e aveia.

**Palavras-chave:** B/CYDV, afídeos, *Rhopalosiphum padi*.

## SEASONAL FLUCTUATION OF BARLEY THE CEREAL YELLOW DWARF VIRUS

GABRIELA PARIZOTO

**ABSTRACT** – Yellow dwarf disease of winter cereals is a disease caused by various species of virus (*Luteoviridae* family) transmitted in a distinct way by the main species of aphids that attack these crops. The climatic conditions of the south of Brazil determine oscillations in host populations and also of vector species. The objective of this study was to verify the oscillations in the viral population and associate them with hosts and vectors throughout the sampling period. Through weekly collections of vector aphids in the period from 01/2009 to 07/2010 and collections every two weeks of plants with symptoms in the period from 07/2009 to 08/2010, the temporal fluctuation of the viral population in corn (summer), wheat and oats (winter) plots in Coxilha-RS was monitored. The aphids were collected at random and individually transferred to oat or wheat plants (in accordance with the host of origin) where they remained for 10 days for transmission. After 30 days, the plants were evaluated in regard to the presence of symptoms and viral identification through DAS-Elisa. The same serological test was applied to plants collected in the field. Of the 739 aphids collected, 12.7% transmitted B/CYDV, such that of this total *R. padi* constituted 92.5% and *S. avenae* 7.5 %. Of the viral species transmitted by *R. padi*, 97.7% were BYDV-PAV, 2.3% CYDV-RPV and 2.3% BYDV-MAV mixed infection with BYDV- PAV. Individuals of the species *S. avenae* collected transmitted only BYDV-PAV. Of the 625 plant samples collected, 65.8% were infected with

BYDV-PAV (oats and wheat) and 0.48% with BYDV-MAV (oats) in mixed infection with BYDV-PAV. Both in sampling of plants and aphids, BYDV-PAV was the predominant species, being detected in oats and wheat and in the vectors *R. padi* and *S. avenae*. Considering that BYDV-PAV is transmitted efficiently by *R. padi*, such predominance may be related to the occurrence of this vector from implantation of the oat and wheat crop and to its permanence throughout the year in the volunteer plants of wheat and oats.

**Key words:** B/CYDV, aphids, *Rhopalosiphum padi*.

## 1. INTRODUÇÃO

O nanismo amarelo em cereais de inverno é causado por várias espécies de *Barley yellow dwarf virus* – BYDV e *Cereal yellow dwarf virus* - CYDV pertencentes a família *Luteoviridae*, ocasionando grande impacto econômico em cereais (LISTER & RANIERI, 1995). No Brasil, sintomas típicos dessa virose foram observados em 1929 em lavouras de cereais de inverno, tendo sua etiologia estabelecida somente em 1967 (CAETANO, 1968).

Estes vírus são transmitidos por afídeos (Hemiptera: Aphididae), que são considerados os mais importantes insetos sugadores de trigo e responsáveis pela disseminação de B/CYDVs em várias partes do mundo. No Brasil, a ocorrência de afídeos vetores, tanto em termos de espécies como de níveis populacionais, varia com a região e com a época do ano, sendo observados atacando não apenas trigo, mas também cevada, triticale, aveia e outras gramíneas não cultivadas (RUBIN-DE-CELIS et al., 1996; SALVADORI & TONET, 2001; LOPES-DA-SILVA et al., 2004).

Desde o primeiro relato da ocorrência da virose, mudanças ocorridas nos sistema de produção e a introdução do controle biológico por meio de microimenópteros, levaram a redução da população de afídeos e podem ter promovido alterações na importância relativa das espécies de afídeos vetores enquanto transmissoras de vírus. Na década de 1970, a espécie mais estudada enquanto vetor foi *Metopolophium dirhodum* (CAETANO, 1972). Atualmente, segundo Salvadori & Tonet (2001) a espécie que vem se destacando pela incidência, dentre as que ocorrem na cultura do trigo é *Rhopalosiphum*

*padi*, a qual prefere instalar-se no colmo, às vezes próximo ao solo, além de folhas e espigas. Esta espécie é bem adaptada as condições sul – brasileiras. Em acordo com a ampla distribuição espaço-temporal *R. padi* está a distribuição de BYDV-PAV, espécie que é eficientemente transmitida por este vetor (LAU et al., 2009).

Pesquisas realizadas com diversos isolados de vírus do nanismo amarelo demonstram que estes vírus possuem espécies que se distinguem por sua virulência na planta hospedeira, na capacidade de infectar diferentes gêneros e espécies de gramíneas e na eficiência como são transmitidos pelos vetores podendo a relação ser específica, preferencial ou indiferente para mais de uma espécie de afídeo (BURNETT & MEZZALAMA, 1983; van REGENMORTEL et al., 2000). Embora a eficiência de transmissão pelas distintas espécies de afídeos vetores seja um dos primeiros critérios biológicos para separar as espécies deste grupo de vírus (ROCHOW, 1969), a especificidade de transmissão não é um caráter estático e estudos realizados com populações virais de diferentes países mostram variações no quadro previamente estabelecido por Rochow (1970).

Como existem diferenças na eficiência de transmissão das espécies virais pelas espécies de afídeos vetores, a presença e o predomínio de uma dada espécie do afídeo vetor numa determinada região, pode determinar qual espécie viral será predominante (ROCHOW, 1959; D'ARCY & BURNETT, 1995). Epidemias do B/CYDV são irregulares no tempo e no espaço, ou seja, a virose pode ocorrer em um determinado ano em uma área e não ocorrer nesta mesma área no ano seguinte, assim como pode não ocorrer por vários anos seguidos (BURNETT & PLUMB, 1998).

Devido ao fato de alterações na população do vetor implicarem em mudanças na população do vírus, conduziu-se este estudo com o objetivo de verificar as oscilações na população viral e associá-las as plantas hospedeiras e vetores.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local de execução**

O monitoramento foi conduzido em parcelas experimentais estabelecidas na área 2 da Embrapa Trigo, em Coxilha – RS. As parcelas continham aveia preta (*Avena strigosa Schreb*) cultivar Agro Zebu e trigo (*Triticum aestivum*), cultivares Embrapa 16, BRS Guabijú e BRS Timbaúva nos meses de inverno e milho (*Zea mays*) nos meses de verão. Plantas livres de vírus para serem utilizadas nos testes de transmissão foram produzidas em casa-de-vegetação.

Os testes de transmissão foram realizados em câmaras do insetário sendo que após a transmissão as plantas foram mantidas em telado compartimento anti-afídeo.

As análises sorológicas (DAS-Elisa) foram realizadas no laboratório de virologia vegetal da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo - FAMV/UPF.

## 2.2 Coletas de Afídeos

Para monitoramento da flutuação temporal da população viral no vetor, coletas de afídeos foram realizadas no período de janeiro de 2009 a julho de 2010.

A cada sete dias foram coletados afídeos ao acaso, sobre as plantas, com meta de coleta de 100 afídeos por mês. Os afídeos coletados foram armazenados com fragmentos dessas plantas em caixas de isopor, levadas para o insetário (câmara de transmissão) onde foram identificados quanto à espécie. Em seguida, foram transferidos para vasos com cinco plântulas de aveia, na proporção de um afídeo por planta. As plantas foram individualizadas com gaiolas de plástico transparente. Em cada vaso, uma planta foi mantida sem afídeo, como testemunha.

Os vasos foram mantidos a temperatura média de 19,3 °C com mínima de 12,5 °C e máxima de 24,0 °C e fotoperíodo de 12 horas, por 10 dias (período para a transmissão). Após esse período, fez-se a aplicação de inseticida Nuvan (Diclorvós) na dose 6 ml.L<sup>-1</sup> de água e os vasos foram transferidos para telado (compartimento anti-afídeo). Aos 30 dias após a transmissão, as plantas foram avaliadas quanto a presença ou ausência de sintomas e realizou-se a coleta de fragmentos dessas plantas para a realização dos testes sorológicos (DAS – Elisa) para identificação das espécies virais.

### **2.3 Coletas de Plantas**

No período de julho de 2009 a agosto de 2010, foram realizadas coletas de plantas em campo, com a finalidade de monitorar a flutuação temporal da população viral em plantas hospedeiras. A cada 15 dias foram coletadas 25 plantas de aveia, trigo ou milho com sintomas da virose. Essas plantas foram transplantadas para vasos de 1,5 L de substrato, e mantidas em telado. 15 dias após, foram efetuadas coletas de parte das plantas para a identificação da espécie viral por DAS-Elisa.

### **2.4 DAS-Elisa**

O DAS-Elisa (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) foi realizado através do método descrito por Clark & Adams, (1977). Para a realização do teste de Elisa indireto foram utilizados reagentes adquiridos da firma AGDIA Inc., e microplacas de poliestireno fundo chato com 96 cavidades. As amostras foram maceradas em tampão de extração (Anexo 1), na proporção de 100 mg de tecido vegetal para 1 mL de tampão.

As placas foram cobertas com anti-soro policlonal para BYDV-PAV, BYDV-MAV e CYDV-RPV, diluído na proporção de 1:200 (de acordo com a recomendação do fabricante) em tampão de cobertura (Anexo 2), sendo depositados 100  $\mu$ L do preparado em cada cavidade da placa. Para incubação as placas foram protegidas com papel toalha úmidos e mantidas em caixa de isopor, por 16 horas no refrigerador a 4 °C. Após este período realizou-se a lavagem da placa

por três vezes com PBST (Anexo 3) e adicionou-se aos orifícios das microplacas 100 µL da amostra macerada e diluída em tampão de extração (Anexo 1), acompanhado de um controle positivo e outro negativo. Em seguida foi acondicionado novamente em caixa de isopor para incubação por 16 horas em refrigerador a 4 °C.

Após a incubação, as placas foram lavadas por três vezes com tampão de lavagem PBST. Em seguida, secaram-se as placas antes de adicionar o conjugado. Foi usado tampão para o conjugado (Anexo 4) (1:200) e enzima do conjugado (fosfatase alcalina) na diluição indicada pelo fabricante. Em seguida, foram depositados nos orifícios, 100 µL do preparado da enzima conjugada e a seguir incubou-se novamente em câmara úmida por 2 horas a 37 °C. Após completar a incubação, procedeu-se nova lavagem por três vezes com PBST.

O substrato PNP (p-nitrofenil fosfato – SIGMA 104/105) foi diluído 1mg/mL em tampão do substrato (Anexo 5) e aplicado diretamente na placa (100 µL/célula). Após a aplicação do substrato as placas foram mantidas em temperatura ambiente até obtenção da coloração (30 a 60 minutos). A placa foi submetida à leitura verificando-se a reação colorimétrica das amostras em espectrofotômetro de placas, (leitora de Elisa) modelo Rosys Anthos 2010, com absorvância de 405nm.

Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram valor maior ou igual a duas vezes (2x) o valor do controle negativo e o resultado expresso em absorvância a 405 nm (indicando o valor de absorvância de acordo com a intensidade da cor desenvolvida para a reação do anti-soro contra o antígeno viral).

## **2.5 Variáveis analisadas**

A população viral na área foi estimada a partir dos afídeos vetores e de plantas coletadas. As informações relativas a predominância de espécies virais foram correlacionadas com a dinâmica da população de afídeos, sendo o percentual de afídeos virulíferos estimado por meio de testes de transmissão e a partir de plantas coletadas.

O percentual total de afídeos e plantas foi calculado pela razão entre o número de indivíduos soropositivos e o total coletado no mês. O percentual de afídeos calculado por trimestre foi através da razão entre o total de afídeos da espécie pelo total de afídeos coletado no trimestre.

## **2.6 Análise estatística**

Análises de correlação e gráficos foram realizados utilizando o programa Microsoft Excel.

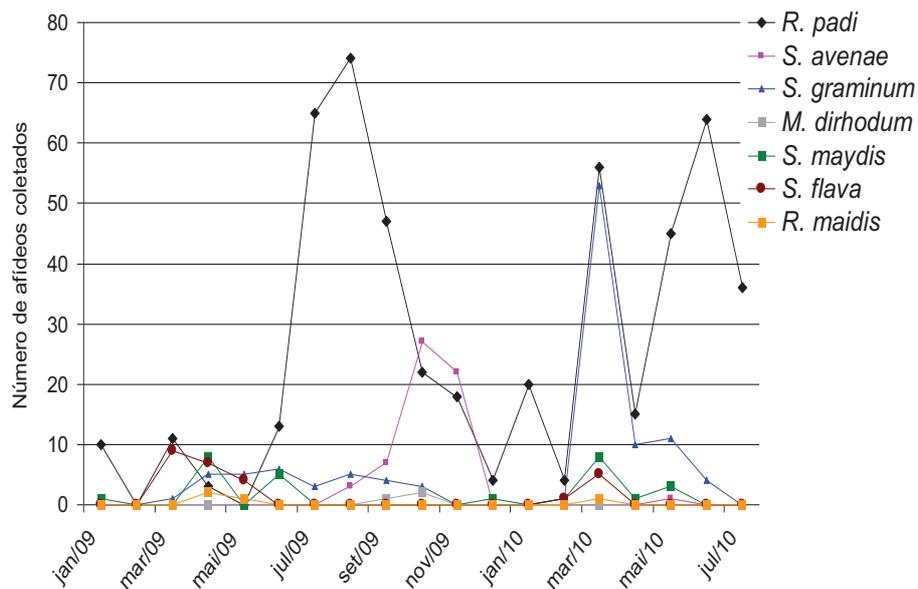
# **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## **3.1 Amostragem de vetores**

Durante o período amostrado (janeiro de 2009 a julho de 2010), foram coletados 739 afídeos em plantas hospedeiras e testados quanto a transmissão de B/CYDV, sendo os afídeos de sete espécies distintas: *Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae*, *Metopolophium*

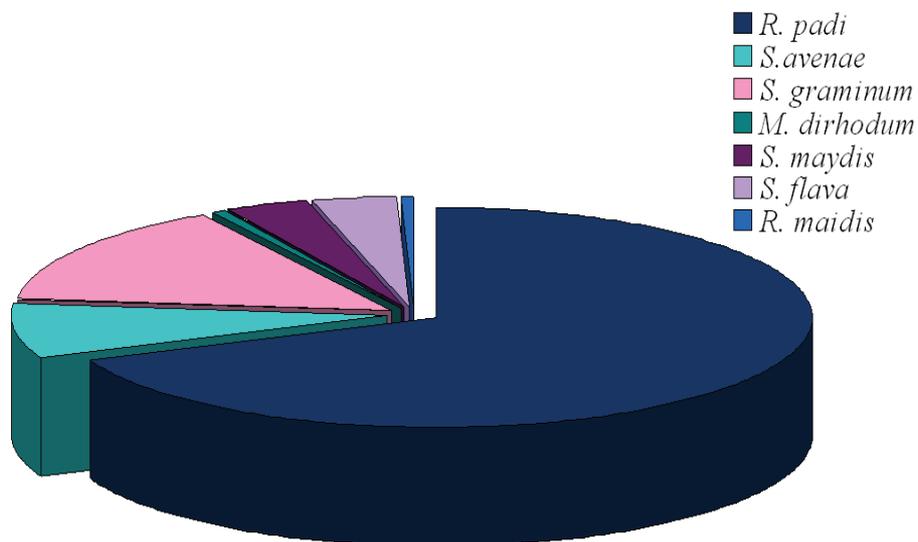
*dirhodum*, *Sipha maydis*, *Schizaphis graminum*, *Sipha flava*, *Rhopalosiphum maidis*.

A população de afídeos foi variável ao longo do período amostrado (Figura 1).



**Figura 1** – Ocorrência de espécies de afídeos no período de janeiro de 2009 a julho de 2010, Coxilha – RS.

Do total de afídeos coletados, a espécie predominante no campo durante o período amostrado foi *R. padi* (68,6%), seguido de *S. graminum* (15%), *S. avenae* (8,1%), *S. flava* (3,5%), *S. maydis* (3,8%), *R. maidis* (0,5%) e *M. dirhodum* (0,4%) (Figura 2).



**Figura 2** – Percentual de afídeos por espécie coletada durante todo o período amostrado (janeiro de 2009 a julho de 2010) em Coxilha, RS.

No primeiro ano amostrado, nos meses de verão e início de outono (janeiro, fevereiro e março) em coletas realizadas em plantas voluntárias de aveia e trigo as espécies observadas foram *R. padi* (65,6%), *S. flava* (28,1%), *S. maydis* (3,1%) e *S. graminum* (3,1%). Nos meses de outono e início do inverno (abril, maio e junho), quando a cultura presente no campo foi a aveia, as espécies *S. graminum* (27,1%) e *R. padi* (27,1%) foram observadas com mesma frequência, *S. flava* (18,6%), *S. maydis* (22,0%) e *R. maidis* (5,1%).

Nos meses de inverno e início da primavera (julho, agosto e setembro), época na cultura do trigo, houve aumento da ocorrência de *R. padi* (89,0%) e aparecimento de duas espécies que até então não haviam sido observadas na área *S. avenae* (4,8%) e *M. dirhodum* (0,5%). Neste período *S. graminum* apresentou redução de 21,4% na

ocorrência em relação ao período anterior. Espécies como *R. maidis*, *S. maydis* e *S. flava* não foram observados nesse período.

Nos meses de primavera e início de verão (outubro, novembro e dezembro), *R. padi* teve decréscimo de 44,6% na ocorrência e *S. avenae* apresentou aumento de 44,7 % em relação ao período anterior, sendo *S. avenae* a espécie predominante nesse período. *M. dirhodum* também teve aumento no percentual de ocorrência (1,5%). *S. graminum* (3,0%) e *S. maydis* (1,0%) embora em baixas percentagens também foram encontrados na área.

No segundo ano de coleta (2010), nos meses de janeiro, fevereiro e março, *R. padi* tornou a ser a espécie predominante na área, com percentual de 53,3%. *S. graminum*, que nos meses de outono e inverno havia sofrido redução na ocorrência, no primeiro trimestre de 2010 foi a segunda espécie mais encontrada (36,0%), assemelhando-se ao primeiro ano de coletas. Espécies como *S. maydis* (6,0%), *S. flava* (4,0%) e *R. maidis* (0,7%) tornaram a aparecer.

Nos meses de outono e início de inverno, abril/julho, nos quais a cultura da aveia completou seu ciclo na área, e implantou-se a cultura do trigo, o padrão observado para o mesmo período do ano anterior se manteve. *S. avenae* passou a ocorrer, embora em baixo percentual (0,5%). *S. graminum* (13,2%) se manteve como a segunda espécie mais encontrada, seguida de *S. maydis* (2,1%). *R. padi* com 84,2% se manteve como espécie predominante no período (Tabela 1).

**Tabela 1.** Afídeos coletados (percentual por espécie), agrupados por trimestre, independente do hospedeiro, Coxilha – RS, 2009/2010.

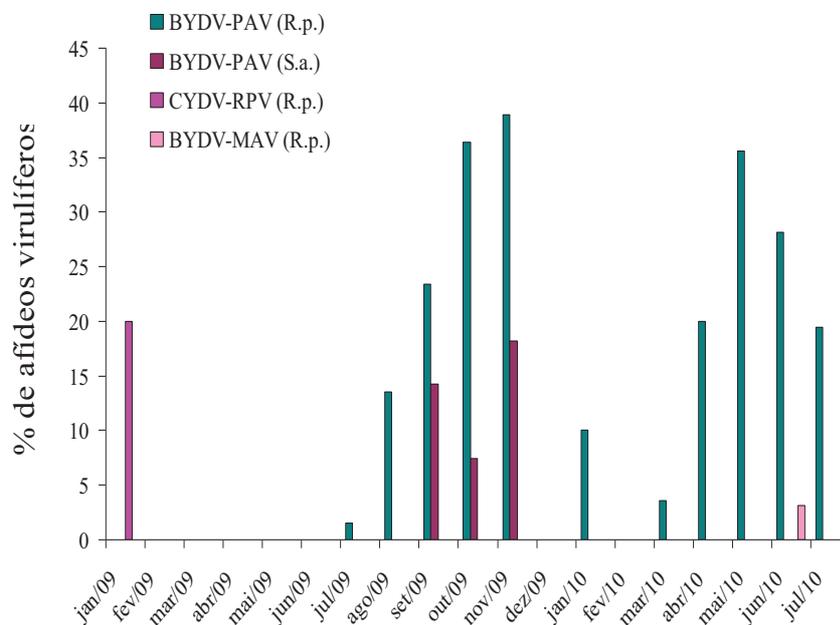
Vetores	Período amostrado											
	2009						2010					
	jan/fev/mar	abr/mai/jun	abr/mai/jun	jul/ago/set	out/nov/dez	jan/fev/mar	jan/fev/mar	abr/mai/jun	abr/mai/jun	abr/mai/jun	abr/mai/jun	abr/mai/jun
<i>R. padi</i>	65,6%	27,1%	27,1%	89,0%	44,4%	53,3%	53,3%	84,2%	84,2%	84,2%	84,2%	84,2%
<i>S. avenae</i>	0,0%	0,0%	0,0%	4,8%	49,5%	0,0%	0,0%	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%
<i>S. graminum</i>	3,1%	27,1%	27,1%	5,7%	3,0%	36,0%	36,0%	13,2%	13,2%	13,2%	13,2%	13,2%
<i>M. dirhodum</i>	0,0%	0,0%	0,0%	0,5%	2,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>S. maydis</i>	3,1%	22,0%	22,0%	0,0%	1,0%	6,0%	6,0%	2,1%	2,1%	2,1%	2,1%	2,1%
<i>S. flava</i>	28,1%	18,6%	18,6%	0,0%	0,0%	4,0%	4,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
<i>R. maidis</i>	0,0%	5,1%	5,1%	0,0%	0,0%	0,7%	0,7%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

Os resultados obtidos para 2009/2010 são similares aos observados por Caetano (1972) e Lau et al. (2008), destacando-se a presença de *R. padi* ao longo de todo ano, presença de *S. graminum*, com maior incidência nos meses de outono e início do inverno e redução nos demais períodos. *S. avenae*, observado nos meses de inverno e início de primavera, com aumento na frequência na fase de espigamento da cultura do trigo. Espécies de afídeos com *R. maidis*, *S. maydis* e *S. flava* apresentaram baixa ocorrência.

A baixa frequência na ocorrência de *M. dirhodum* observada nos meses de setembro e outubro, contrasta com as observações feitas por Caetano (1972) devido a importância que a espécie tinha como praga e vetora do BYDVs naquela época, quando a partir de agosto a espécie era observada nos campos em números elevados, representando mais de 90% da população de afídeos existentes em lavouras de trigo, evidenciando ser esta espécie a mais importante vetora na época.

Das espécies de afídeos coletadas, foram capazes de transmitir o vírus espécimes de *R. padi* (B/CYDV) e *S. avenae* (BYDV), sendo que, as proporções de afídeos virulíferos foram maiores no período do final de outono e inverno. Dos 739 afídeos coletados, 12,7% transmitiram B/CYDV, sendo que deste total *R. padi* constituiu 92,5% e *S. avenae* 7,5%.

Das espécies virais transmitidas por *R. padi*, 97,7% foram BYDV-PAV, 2,3% CYDV-RPV e 2,3% BYDV-MAV em infecção mista com BYDV-PAV. Indivíduos da espécie *S. avenae* coletados transmitiram apenas BYDV-PAV (Figura 3).



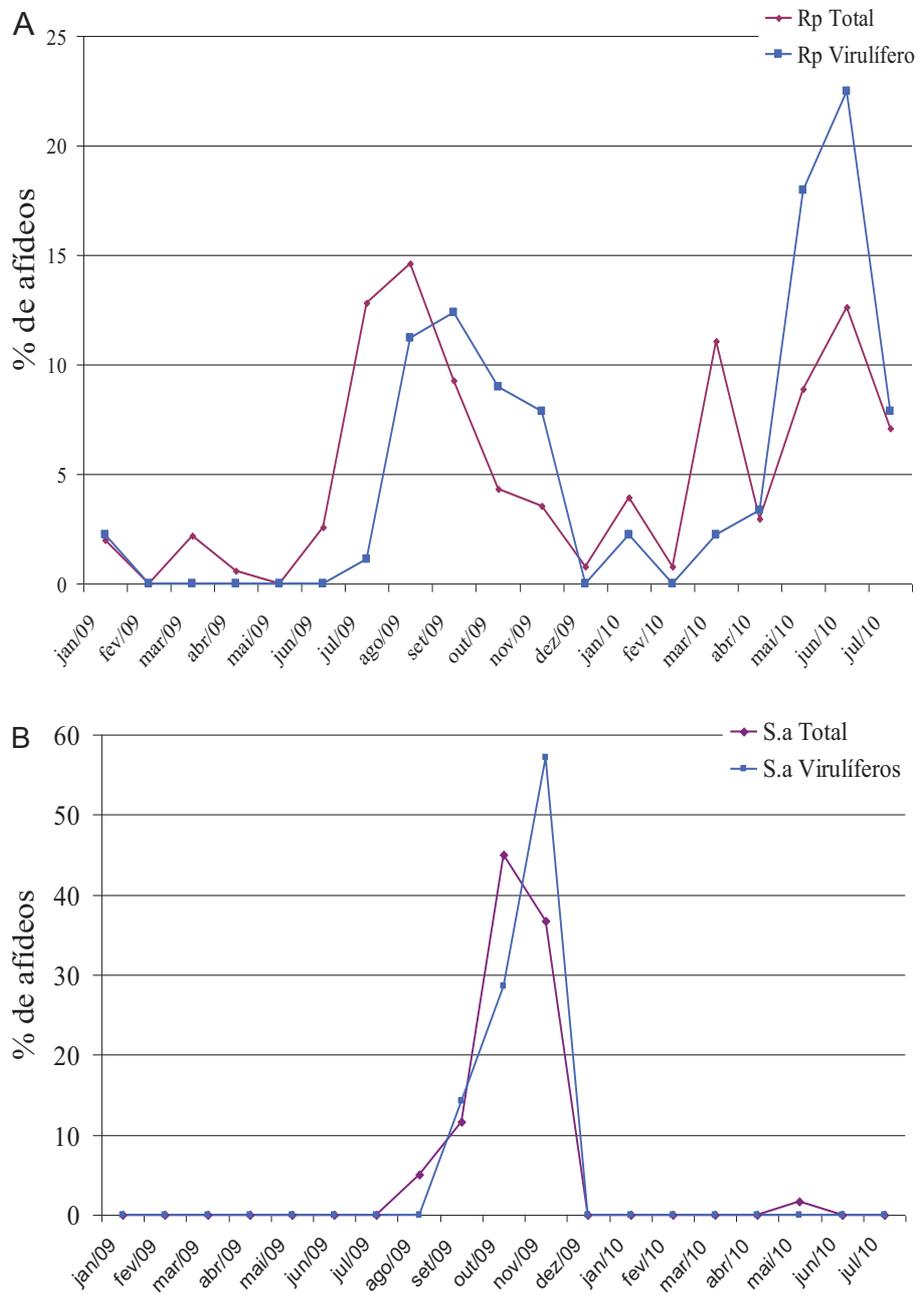
**Figura 3** - Percentual de afídeos virulíferos coletados entre janeiro/2009 e julho/2010.

Em janeiro de 2009, foram detectadas duas transmissões de CYDV-RPV por *R. padi*. Transmissões positivas só foram detectadas novamente para afídeos no mês de julho, período em que a cultura do trigo estava implantada, havendo aumento no número de indivíduos virulíferos mês a mês, até novembro, quando houve decréscimo no número de amostras positivas. De setembro a novembro de 2009 foram observados indivíduos de *S. avenae* capazes de transmitir BYDV-PAV.

No segundo ano de coletas, populações de *R. padi* virulíferos (BYDV-PAV) foram detectadas em março com aumento gradativo até julho.

Transmissões de BYDV-MAV por *R. padi* também foram detectadas no período amostrado. Para duas amostras de afídeos coletados em junho de 2010 foi possível detectar a presença de BYDV-MAV (11,1% das amostras do período), em infecção mista com BYDV-PAV.

Há correlação entre a população vetora total e a população vetora virulífera estimada pelos testes de transmissão. Com o aumento ou redução do número total de indivíduos coletados, também ocorre aumento ou redução no percentual de afídeos virulíferos daquela espécie, sendo mantido esse padrão para as duas espécies de afídeos *R. padi* ( $r = 0,651$ ) (Figura 4A) e *S. avenae* ( $r = 0,898$ ) (Figura 4B).



**Figura 4** – Relações entre o percentual total de ocorrência de espécies e percentual de afídeos infectados para cada espécie. A) *R. padi* virulíferos; B) *S. avenae* virulíferos.

No geral, no levantamento realizado foram baixos os percentuais de afídeos virulíferos, podendo esse fato, ser atribuído à baixa densidade das atuais populações. Caetano (1972) relatou que no ano de 1970, eram observados altos percentuais de afídeos virulíferos, fato que pode ter relação com a densidade da população de pulgões naquela época. É possível que na condição de alta densidade populacional, ocorria rápida disseminação do vírus não havendo praticamente áreas isentas da virose (LAU et al., 2008).

A análise de frequência das espécies vetoras do período amostrado (Tabela 2), permite estimar a importância relativa de cada espécie no período.

Em acordo com a ampla distribuição espaço-temporal de *R. padi* está a distribuição de BYDV-PAV, espécie que é mundialmente considerada como eficientemente transmitida por este vetor (CHAPIN et al., 2001). Em contrapartida a transmissão de CYDV-RPV foi baixa, apesar da abundância de seu vetor específico.

Durante o inverno e a primavera a espécie *S. avenae* mostrou-se importante como vetora de BYDV-PAV, pela sua alta percentagem de ocorrência (Tabela 2).

**Tabela 2.** Frequência relativa das espécies de afídeos e percentual de indivíduos virulíferos

Período \ Afídeos	<i>R. padi</i>		<i>S. avenae</i>	
	Total*	Virulíferos**	Total*	Virulíferos**
Jan/fev/mar/2009	21/65%	2/18%	0/0%	0/0%
Abr/mai/jun/2009	16/27%	0/0%	0/0%	0/0%
Jul/ago/set/2009	186/89%	22/12%	10/4,8%	1/10%
Out/nov/dez/2009	44/44%	15/34%	49/49,5%	6/12%
Jan/fev/mar/2010	80/53%	4/5%	0/0%	0/0%
Abr/mai/jun/jul2010	160/84%	44/29%	0/0%	0/0%

\*Número de indivíduos da espécie/percentual de ocorrência no período.

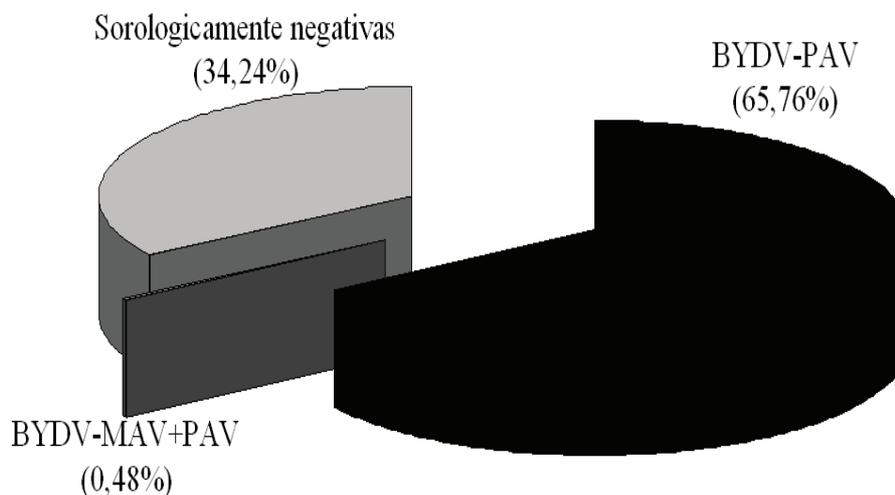
\*\*Número de indivíduos infectados/percentual de ocorrência no período.

BYDV-MAV, detectados em duas amostras em infecção mista com BYDV-PAV, transmitidos por *R. padi* coletados no campo, assemelha-se ao registrado em populações de afídeos coletados vivos no Oeste da França, onde infecções mistas representaram 7% do total de infecção. Das transmissões de BYDV-MAV, 95,5% ocorreram em infecções mistas. Também foram observadas transmissões de apenas BYDV-MAV por *R. padi* (LECLERCQ-LE QUILLEC et al., 1995).

Infecções mistas podem ocorrer com frequência e são importantes pelo fato de os isolados serem mais agressivos quando associados a outros do que isoladamente (ROCHOW, 1959; GILL & COMEAU, 1977; JOHNSTONE et al., 1990) e ainda por permitir que uma determinada espécie de afídeo que normalmente não é vetora, transmita o vírus devido a heteroencapsidação (ROCHOW & PANG, 1961; ROCHOW, 1970).

### 3.2 Amostras de plantas

Durante o período amostrado (julho de 2009 a agosto de 2010), a espécie viral predominante foi BYDV-PAV. Das 625 amostras coletadas, 65,76% apresentaram-se infectadas com BYDV-PAV e 0,48% com BYDV-MAV em infecção mista com BYDV-PAV, e 34,24% estavam sadias (Figura 5).



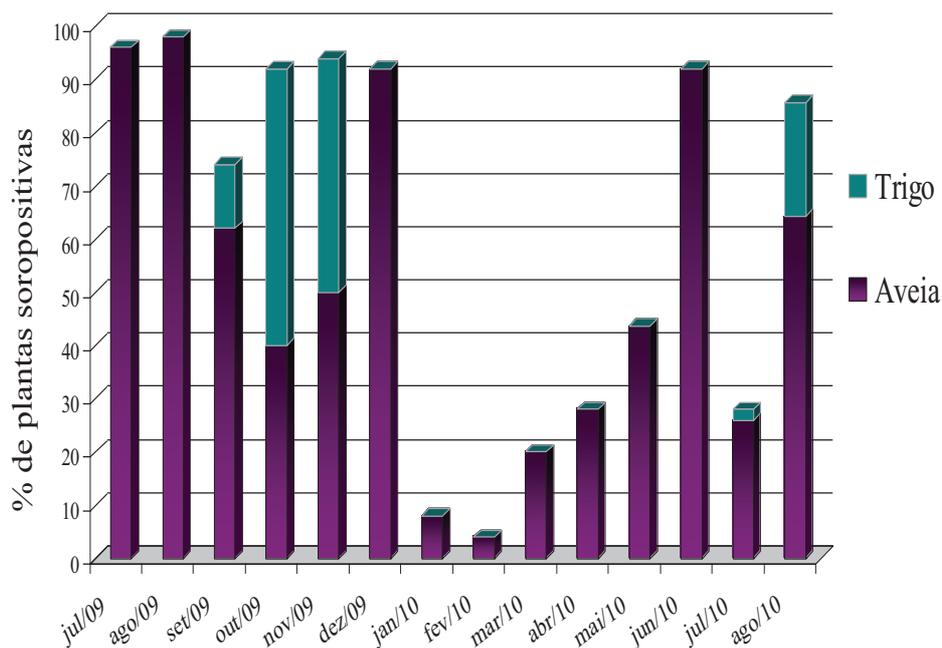
**Figura 5** - Percentual de espécies de BYDV coletadas na área experimental da Embrapa - Trigo, Coxilha-RS no período de julho de 2009 a agosto de 2010.

O percentual de plantas soropositivas para BYDV-PAV coletadas nos meses de julho a dezembro de 2009 oscilou entre 75% e 96%.

Nos meses de janeiro e fevereiro, onde os alvos de coletas eram plantas de milho e plantas de aveia e trigo voluntárias, observou-se uma redução drástica no percentual de plantas soropositivas, representando menos de 10% das plantas coletadas. Nos meses de

março e abril, para plantas de aveia voluntárias coletadas, o percentual de plantas soropositivas chegou a 30%, fato que se tornou mais frequente a partir de maio.

Com a implantação da cultura da aveia nas parcelas, passou-se a observar aumento no número de plantas positivas para a virose, aumento esse que se deu gradativamente, até agosto. De julho a agosto de 2010 (fim do período amostrado), além de plantas de aveia, plantas de trigo passaram a ser amostradas na área. Dos 28% de plantas soropositivas coletadas em julho, 26% foram plantas de aveia e apenas 2% de trigo. Em agosto, 80% de plantas soropositivas, 60% foram de aveia e de trigo 30% (Figura 6).



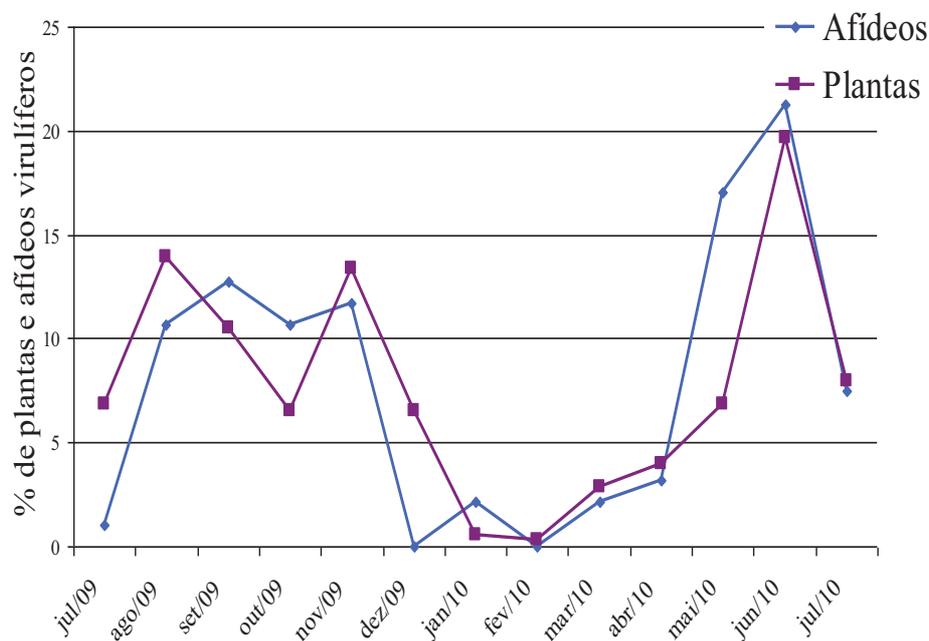
**Figura 6** - Percentual de plantas soropositivas coletadas na área experimental da Embrapa-Trigo, Coxilha - RS no período de julho de 2009 a agosto de 2010.

Das 30 plantas de milho amostradas, nenhuma foi soropositiva para as espécies testadas (BYDV-PAV, BYDV-MAV e CYDV-RPV) por DAS-Elisa. Entretanto, na República Checa, BYDV-PAV foi observado em plantas de milho, sugerindo que esse hospedeiro pode servir como importante fonte de BYDV-PAV para cereais de inverno, por ser "ponte verde" para esta espécie de vírus (POKORNÝ, 2006). No Oeste Frances essa cultura também foi registrada como hospedeira de BYDV. Segundo Henry & Dedryver (1989) é devido a migração de grande número de afídeos a partir do milho para os cereais que são observadas as infecções em cereais por BYDV no outono. Na França, a epidemiologia do BYDV é caracterizada principalmente pela alternância de vetores e vírus entre milho (hospedeiro de verão) e cevada e trigo (hospedeiros de inverno) (HAACK et al., 2002). No Brasil, não tem sido encontrado amostras positivas para B/CYDVs, possivelmente em função de não ser hospedeiro preferencial para as espécies de pulgões de cereais de inverno e/ou pelos genótipos de milho cultivados no país. Outra possibilidade é a própria arquitetura da planta, que comparada a dos cereais de inverno é maior, na qual, devido a quantidade de massa é possível que, embora presente, o vírus esteja em baixa concentração viral não sendo detectado pelo teste sorológico, ou mesmo pelo vetor.

Apenas uma amostra positiva para BYDV-MAV foi coletada no mês de agosto de 2009, e duas amostras em 2010, sendo que BYDV-MAV sempre foi detectado em infecção mista com BYDV-PAV e em plantas de aveia.

No período de julho de 2009 a julho de 2010, no qual a amostragem de plantas e afídeos se sobrepõem, houve correlação entre

o número de plantas positivas e afídeos infectados ( $r = 0,784$ ), onde nos meses de outono e inverno foram encontrados maior número de afídeos infectados concomitante com um aumento no número de plantas positivas e nos meses de verão para ambos, afídeos e plantas, observou-se redução no percentual de infectividade (Figura 7).



**Figura 7** - Percentual de plantas e afídeos virulíferos coletados de julho de 2009 a julho de 2010 em Coxilha-RS.

A predominância de BYDV-PAV na área foi semelhante a observada por Schons & Dalbosco (1999), que através de coletas realizadas no ano de 1998, nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Mato Grosso do Sul, encontraram 75% das plantas infectadas com BYDV-PAV, 20% com BYDV-MAV.

Resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo foram observados por Fereres et al. (1989) na Espanha, os

quais confirmaram a presença de BYDV em amostras de cereais cultivados, sendo o sorotipo PAV predominante, RPV menos frequente, e somente uma amostra positiva para MAV.

Por outro lado, na França, Leclercq-Le Quillec (1992) observou predominância de amostras contaminadas com BYDV-MAV e BYDV-MAV+PAV, em campos de cevada nos meses de outono, muito embora os vetores preferenciais deste vírus (*S. avenae* e *M. dirhodum*) estivessem ausentes ou muito escassos e *R. padi* presente durante todo os períodos, indicando que heteroencapsidações podem desempenhar função na transmissão de BYDV-MAV por *R. padi* conforme sugeriram Sadeghi et al. (1997).

Conforme Henry & Dedryver, (1991) BYDV- PAV parece ser claramente favorecida pela falta de especificidade do vetor e pela abundância de reservatórios, afirmação esta, que reforça os resultados encontrados nesse estudo, tendo em vista que BYDV-PAV tem sido predominante na região há varios anos e os vetores assim como os reservatórios serem abundantes durante o ano todo.

Os resultados obtidos nesse estudo corroboram com grande parte dos estudos epidemiológicos feitos em diferentes regiões produtoras de cereais de inverno do mundo (LECLERCQ-LE QUILLEC et al., 1995; CHAPIN et al., 2001; ABOULATA, 2002; HABEKUB & SCHLIEPHAKE, 2002; PARK et al., 2002; TRUOL, 2002), onde BYDV-PAV é a espécie identificada mais frequentemente em culturas de grãos (CLEMENT et al., 1986;. FABRE et al., 2005.)

Assemelhando-se aos resultados encontrados nas condições brasileiras, na planície costeira da Carolina do Sul, Chapin

et al. (2001), com base em ensaios de transmissão correlacionaram a incidência do nanismo amarelo da cevada e perdas de produtividade na cultura do trigo com a abundância de *R. padi*, e constataram ser esta espécie a principal responsável pela vetorização da espécie viral predominante (BYDV-PAV) nas lavouras.

#### 4 CONCLUSÕES

- 1) *Barley yellow dwarf virus*-PAV foi a espécie de vírus predominante na área amostrada.
- 2) Considerando todo o período amostrado *Rhopalosiphum padi* foi à espécie vetora predominante.
- 3) *Rhopalosiphum padi* e *Sitobion avenae* transmitiram, respectivamente, espécies de BYDV-PAV, BYDV-MAV, CYDV-RPV e BYDV-PAV.
- 4) Trigo e aveia foram hospedeiras de BYDV-PAV e MAV.

## CAPÍTULO II

### CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA DE ISOLADOS DE BYDV-PAV DE REGIÕES PRODUTORAS DE CEREAIS DO BRASIL

GABRIELA PARIZOTO<sup>1</sup>

**RESUMO** – O nanismo amarelo em cereais de inverno é uma doença causada por várias espécies de vírus pertencentes à família *Luteoviridae*. *Barley yellow dwarf virus*–PAV é do gênero *Luteovirus* e é a espécie viral predominante nessas culturas no mundo e também no Brasil. A fim de determinar características biológicas que influenciam na prevalência desta espécie viral na população sul brasileira, avaliou-se a capacidade de 35 isolados de BYDV-PAV (2007/2009) obtidos em regiões produtoras brasileiras de cereais, quanto a patogenicidade a dois hospedeiros (*Triticum aestivum* L. e *Avena strigosa* Schreb). Avaliou-se também a eficiência de transmissão por afídeos vetores (*Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae*, *Schizaphis graminum*, *Metopolophium dirhodum* e *Sipha maydis*). Inocularam-se 20 plantas para cada combinação isolado x planta hospedeira x vetor, utilizando três afídeos por planta (aquisição de 48h; transmissão de 72h). O diagnóstico de transmissão e infecção positivo foram realizados a partir da avaliação de sintomas 15, 30 e 45 dias após a transmissão e por DAS-ELISA (30 dias). Todos os

---

<sup>1</sup> Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia - gabrielaparizoto@bol.com.br

isolados foram transmitidos por *R. padi* (94,3%), seguido de *S. avenae* (76,1%) e *M. dirhodum* (63,4%). Nenhum dos isolados foi transmitido por *S. graminum* e *S. maydis*. Todos os isolados foram capazes de infectar a aveia e o trigo. A alta eficiência de transmissão por três espécies de afídeos e a capacidade de infectar trigo e a aveia são atributos que podem contribuir para a prevalência de BYDV-PAV.

**Palavras-chave:** *Luteoviridae*, BYDV-PAV, afídeos.

**BIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF ISOLATES OF  
BYDV-PAV IN PRODUCING REGIONS IN OF CEREAL  
BRAZIL**

**GABRIELA PARIZOTO**

**ABSTRACT** – Yellow dwarf disease in winter cereal crops is a disease caused by various species of viruses belonging to the *Luteoviridae* family. Barley yellow dwarf virus–PAV *Luteovirus* the genre and is a viral species predominant in these crops throughout the world and also in Brazil. So as to determine biological characteristics that influence the prevalence of this viral species in the population in the south of Brazil, the capacity of 35 BYDV-PAV isolates (2007/2009), obtained in the Brazilian producing regions cereal, for pathogenicity two hosts (*Triticum aestivum* L. and *Avena strigosa* Schreb). We also evaluate the efficiency of transmission by aphid vectors (*Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae*, *Schizaphis graminum*, *Metopolophium dirhodum* and *Sipha maydis*) were evaluated. Twenty plants for each combination isolate x host plant x vector were inoculated, using three aphids per plant (acquisition of 48h; transmission of 72h). The positive diagnosis of transmission and infection were performed by evaluation of symptoms 15, 30 and 45 days after transmission and by DAS-Elisa (30 days). All the isolates were transmitted by *R. padi* (94,3%), followed by *S. avenae* (76,1%) and *M. dirhodum* (63,4%). None of the isolates were transmitted by *S. graminum* and *S. maydis*. All the isolates were capable of infecting oats and wheat. The high transmission efficiency by three species of

aphids and the infect to wheat and oats are attributes that may contribute to the prevalence of BYDV-PAV.

**Key words:** *Luteoviridae*, BYDV-PAV, aphids.

## 1. INTRODUÇÃO

Uma das principais doenças dos cereais de inverno é a virose conhecida como nanismo amarelo da cevada. As espécies virais que causam esta doença são capazes de infectar várias espécies de plantas da família *Poaceae* cultivadas ou não (D'ARCY, 1995).

As espécies de vírus que causam o nanismo amarelo em cereais pertencem a família *Luteoviridae*, estando distribuídas em dois gêneros. No gênero *Luteovirus* estão distribuídas as espécies de *Barley yellow dwarf virus* (BYDV): BYDV-PAV, BYDV-MAV e BYDV-PAS. No gênero *Polerovirus* estão distribuídas as espécies de *Cereal yellow dwarf virus*: CYDV-RPV e CYDV-RPS. As espécies BYDV-SGV, BYDV-GPV e BYDV-RMV ainda não foram agrupadas em um gênero. Em comum essas espécies apresentam partículas virais compostas por capsídeos isométricos de 25-30 nm não envelopados, genoma viral composto por uma fita simples de RNA de sentido positivo e são transmitidas por insetos da ordem Hemiptera, família Aphididae de forma persistente (o vírus circula no corpo do inseto, mas não se propaga, não havendo transmissão transovariana) (MILLER & RASOCHOVÁ, 1997; MILLER et al., 2002).

A transmissão por afídeos é uma característica tão importante que foi originalmente critério para o reconhecimento e identificação das espécies virais. Com base na especificidade da relação entre as espécies do vírus e as espécies do vetor, Rochow (1969) definiu espécies, sendo designadas pela letra inicial do nome científico da espécie principal do afídeo vetor: BYDV-MAV- *Macrosiphum avenae virus* é transmitido por *S. avenae* (= *Macrosiphum avenae*); BYDV-SGV

– *Schizaphis graminum virus* é transmitido por *S. graminum*; BYDV-PAV – *Padi avenae virus* é transmitido por *R. padi* e *S. avenae*; BYDV-RPV – *Rhopalosiphum padi virus* é transmitido por *R. padi*; BYDV-RMV – *Rhopalosiphum maidis virus* é transmitido por *R. maidis*.

Estudos subsequentes demonstraram que os padrões de transmissão estabelecidos por Rochow podem sofrer variação. *R. padi*, na América do Norte, foi detectado como vetor de BYDV – RMV (LUCIO-ZAVALETA et al., 2001). Assim como na França, dois isolados de BYDV-MAV foram eficientemente transmitidos por clones de *R. padi*, normalmente ineficiente como vetor (SADEGHI et al., 1997).

Dentro de uma mesma espécie vetora há variação entre clones quanto a capacidade de transmitir isolados virais (GRAY et al., 1998). Clones de *S. avenae* coletados em duas regiões francesas apresentaram variação quanto a eficiência de transmissão de BYDV-PAV (GUO et al., 1997a, b).

Mundialmente distribuído, o nanismo amarelo ocorre na América do Sul, havendo relatos de perdas causadas por BYDV na Argentina, Brasil e Chile e também na Bolívia, Paraguai e Uruguai (ARAYA, 1990). O B/CYDV ocorre no Brasil nas regiões produtoras de trigo, como Rio Grande do Sul e Paraná e Mato Grosso do Sul (FIGUEIRA, 1998).

Estudos sobre eficiência de transmissão e análise de pulgões coletados a campo indicavam que as espécies de BYDV que ocorriam no Brasil nos anos 70 eram eficientemente transmitidas por *M. dirhodum* (espécie vetora mais abundante na época) e também por *S. avenae* e *R. padi* (CAETANO, 1972). Recentemente há indícios do

predomínio de *R. padi* (SILVA et al., 2004). Entre as espécies de vírus tem sido detectadas principalmente BYDV-PAV, BYDV-MAV e CYDV-RPV, com predominância de BYDV-PAV (SCHONS & DALBOSCO, 1999).

O conhecimento das características biológicas da população viral é importante para o entendimento da frequência das espécies, do seu impacto e da dinâmica das epidemias, assim o presente trabalho objetivou determinar características biológicas de 35 isolados de BYDV – PAV, coletados a campo entre 2007 e 2009. Foram determinadas a patogenicidade a dois hospedeiros, trigo e aveia e a eficiência de transmissão por cinco espécies de vetores (*R. padi*, *S. avenae*, *M. dirhodum*, *S. graminum* e *S. maydis*).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local de execução**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Trigo em Passo Fundo – RS, nos anos de 2009/2010. Plantas livres de vírus foram cultivadas em casa-de-vegetação. As criações de afídeos avirulíferos e os procedimentos de aquisição e transmissão e a manutenção de isolados virais *in vivo* foram realizados em câmaras climatizadas. O cultivo de plantas após a transmissão foi realizado em telado com compartimento anti-afídeo.

As análises sorológicas (DAS-Elisa) para identificação das espécies virais e estimativas do título viral foram realizadas no laboratório de virologia vegetal da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo - FAMV/UPF.

## 2.2 Afídeos

Colônias de afídeos avirulíferos, utilizadas para transmissão dos isolados, foram obtidas para cinco espécies de afídeos: *Schizaphis graminum*, *Rhopalosiphum padi* (clones coletados em Passo Fundo - RS, em trigo em 2006), *Sipha maydis* (clone coletado em Passo Fundo - RS, em aveia em 2008); *Sitobion avenae* (clone coletado em Santo Cristo - RS, em trigo em 2006); *Metopolophium dirhodum* (clone coletado em Marialva - PR, em aveia em 2008).

Para obtenção de colônias de afídeos avirulíferos de cada espécie, aproximadamente 100 fêmeas adultas foram colocadas em placas de Petri forradas com papel filtro previamente umedecido. As ninfas paridas foram coletadas com auxílio de um pincel e repassadas para plântulas de aveia sem vírus para formar colônias. As colônias foram mantidas em plantas de aveia em câmaras com fotoperíodo de 12 horas e temperatura média diária de 19,5°C com mínima de 13,5°C e máxima 22,5°C.

### **2.3 Material vegetal**

Plantas de aveia preta (*Avena strigosa* – cultivar Agro Zebu) e trigo (*Triticum aestivum* – cultivar Embrapa 16) utilizadas nos experimentos foram cultivadas em vasos de 1,5 L de substrato de solo peneirado e adubado de acordo com a recomendação da cultura. Após a emergência, foram feitos desbastes, deixado apenas cinco plantas por vaso.

### **2.4 Isolados virais**

Nos anos de 2007, 2008 e 2009 foram realizadas coletas de plantas com sintomas típicos de B/CYDV em diferentes localidades dos estados da Região Sul do Brasil e do sul do Mato Grosso do Sul (Figura 1).



**Figura 1** – Mapa dos pontos de coleta de plantas com sintomas de B/CYDV em diferentes localidades de regiões produtoras de cereais de inverno do Brasil.

(\*) Locais de coleta dos isolados.

Do material coletado, foram selecionados aleatoriamente 35 isolados virais para serem caracterizados, sendo 23 oriundos de plantas de aveia, um de azevém, dois de plantas de cevada e nove de trigo.

A obtenção dos isolados virais caracterizados foi realizada a partir de plantas com sintomas da virose ou de afídeos coletados no campo.

As plantas foram encaminhadas ao laboratório de entomologia da Embrapa Trigo, em Passo Fundo - RS, onde foram transplantadas e mantidas em telado. Indivíduos de populações avirulíferas criadas em laboratório foram utilizados para a aquisição e transmissão do potencial isolado viral. Os afídeos permaneceram sobre essas plantas por um período de 48 horas para aquisição. Após foram repassados para plantas de aveia ou trigo, obedecendo o hospedeiro original, onde permaneceram por 72 horas para transmissão. Após esse período os afídeos foram eliminados através de pulverização das plantas com inseticida Nuvan (Diclorvós) na dose 6 ml.L<sup>1</sup> de água e as plantas, colocadas para crescer por duas semanas, em telado anti-afídeo.

Na obtenção de isolados a partir de afídeos trazidos do campo foram realizadas transmissões direta para plantas respeitando-se o hospedeiro original. Assim, afídeos oriundos de plantas de trigo foram transferidos para plantas de trigo e afídeos oriundos de plantas de aveia transferidos para plantas de aveia.

Tanto na obtenção de isolados a partir de plantas quanto de afídeos, quando um terceiro hospedeiro estava envolvido, a

transferência foi realizada para a aveia, pois nesta espécie, geralmente, os sintomas são mais facilmente visualizados do que no trigo.

Cada planta foi testada separadamente a fim de identificar a espécie viral presente. Para identificação das espécies de B/CYDV utilizou-se a técnica de DAS-Elisa (Doble Antibody Sandwich - Enzyme Linked Imunosorbent Assay). Foram utilizados anti-soros monoclonais (Agdia Inc. Elkhart-in-USA), anti BYDV-PAV, BYDV-MAV e CYDV-RPV, conforme o protocolo estabelecido por Clark & Adams (1977). A reação colorimétrica foi quantificada em espectrofotômetro de placa, leitora de Elisa, modelo Rosys Anthos 2010 com leitura da absorbância de 405 nm.

Cada linhagem hospedeiro-vetor foi considerada um isolado, o qual foi mantido por meio de sucessivas transmissões. Plantas contendo os isolados virais foram mantidas em gaiolas, para evitar infestações de afídeos e outros insetos, em câmaras com fotoperíodo de 12 horas e temperatura média diária de 19,9°C com mínima de 15,4°C e máxima 24,4°C.

Cada isolado foi identificado utilizando-se o número de coleta, vetor preferencial e hospedeiro original (Tabela 1).

**Tabela 1** - Procedência e hospedeiro de origem dos isolados virais caracterizados

<b>Cód.</b>	<b>Isolado</b>	<b>Localidade</b>	<b>UF</b>	<b>GPS</b>	<b>Hosp.</b>	<b>Data</b>
1	40 R.p	Passo Fundo	RS	-28°13'33.7" -52°24'10.7"	Aveia	12/07/07
2	45 R.p	Bossoroca	RS	-28°42'54.34" -54°53'31.1"	Trigo	28/08/07
3	51 R.p	Porto Xavier	RS	-27°54'48.27" -55°07'59.3"	Aveia	29/08/07

4	54 R.p	São Martinho	RS	-27°41'41.92" -53°59'24.3"	Trigo	30/08/07
5	57 R.p	Planalto	RS	27°19'12.17" -53°03'56.8"	Aveia	30/08/07
6	67 R.p	Alto Alegre	RS	-28°46'22.44" -52°57'40.8"	Aveia	25/07/07
7	68 R.p	Espumoso	RS	-28°46'07.92" -52°55'25.2"	Aveia	25/07/07
8	69 R.p	Tupaciretã	RS	-29°03'46.51" -53°49'19.9"	Aveia	25/07/07
9	72 R.p	São Borja	RS	-28°41'37.9" -55°57'50.1"	Trigo	27/08/07
10	141/143 R.p	Laguna Carapã	MS	- 22°18'38.1" -55°08'58.4"	Aveia	10/06/08
11	175/177 R.p	Santo Ângelo	RS	-28°22'27.7" -54°12'40.4"	Aveia	15/07/08
12	180 S.g	São Luiz Gonzaga	RS	-28°24'27.2" -54°43'07.0"	Aveia	15/07/08
13	181 R.p	São Luiz Gonzaga	RS	-28°24'27.2" -54°43'07.0"	Aveia	15/07/08
14	184/185 R.p	Jaguari	RS	-29°26'04.7" -54°43'33.4"	Aveia	16/07/08
15	197/200 S.a	Cruz Alta	RS	-28°38'42.4" -53°33'40.4"	Aveia	16/07/08
16	203 R.p	Ronda Alta	RS	-27°47'23.4" -52°49'35.1"	Trigo	21/07/08
17	204/206 R.p	Três Palmeiras	RS	-27°33'56.7" -52°52'30.6"	Aveia	21/07/08
18	210 R.p	Pinhalzinho	SC	-26°49'31.0" -53°05'44.4"	Trigo	22/07/08
19	212 S.a	São Miguel do Oeste	SC	-26°47'49.3" -53°30'12.6"	Aveia	22/07/08
20	216/217 S.a	Nova Guarita	RS	-27°15'34.61" - 53°17'14.7"	Aveia	23/07/08
21	250 R.p	Marialva	PR	-23°30'01.7" -51°45'31.1"	Aveia	30/07/08
22	266/267 R.p	Ortigueira	PR	-24°12'12.5" -50°56'44.2"	Aveia	31/07/08
23	272 R.p	Palmeira	PR	-25°29'12.8" -50°03'58.4"	Aveia	31/07/08
24	286/287 R.p	Paulo Frontin	PR	-26°04'52.4" -50°45'20.5"	Trigo	15/08/08
25	290 R.p	São Mateus do Sul	PR	-25°51'08.4" -50°45'20.5"	Aveia	15/08/08
26	324/325 R.p	Abelardo Luz	SC	-26°37'16.3" -52°21'29.4"	Trigo	18/09/08
27	334 S.a	Ronda Alta	RS	-27°48'05.1" -52°47'34.8"	Trigo	18/09/08

28	356 R.p	Três de Maio	RS	-27°45'49.6" -54°15'56,9"	Aveia	09/10/08
29	366 R.p	São Borja	RS	-28°41'37.1" -55°57'48.8"	Trigo	10/10/08
30	372 R.p	Coxilha	RS	-28°11'41.5" -52°19'04.5"	Azevem	05/09/08
31	373 R.p	Coxilha	RS	-28°11'41.5" -52°19'04.5"	Aveia	05/09/08
32	374 R.p	Coxilha	RS	-28°11'41.5" -52°19'04.5"	Cevada	05/09/08
33	374 S.a.	Coxilha	RS	-28°11'41.5" -52°19'04.5"	Cevada	05/09/08
34	407R.p.	Coxilha	RS	-28°11'41.5" -52°19'04.5"	Aveia	10/07/09
35	408 R.p.	Coxilha	RS	-28°11'41.5" -52°19'04.5"	Aveia	10/07/09

## 2.5 Produção de inóculo

Para cada isolado caracterizado, fez-se a multiplicação da fonte de inóculo, separadamente. A etapa de aquisição de vírus foi realizada em placas de Petri com papel previamente umedecido, onde foram colocados fragmentos das plantas reservatórios e, sobre essas, afídeos avirulíferos da espécie que originalmente havia transmitido mais eficientemente o isolado viral. Os afídeos permaneceram sobre os fragmentos por um período de 48h para aquisição das partículas virais.

Após o período de aquisição, os afídeos foram passados um a um com auxílio de pincel para plântulas de trigo ou aveia, obedecendo ao hospedeiro original. Utilizou-se três vasos com cinco plantas cada, sobre as quais foram colocados cinco afídeos em cada uma a fim de, ao se alimentar, transmitirem o vírus. Essas plantas foram isoladas uma a uma com gaiolas de acrílico. Os afídeos

permaneceram sobre as plantas por um período de 72 horas para transmissão das partículas virais. Durante o período de aquisição e de transmissão as plantas foram mantidas em câmara climatizada com temperatura média de 19,3°C com mínima de 12,5°C e máxima de 24,0°C e fotoperíodo de 12 horas. Após o período de transmissão, os afídeos foram eliminados.

15 dias após a infestação com pulgões virulíferos, estimou-se o título viral das plantas por meio de DAS-Elisa, realizado por vaso, juntando-se sub-amostras de folhas das cinco plantas de cada vaso. Plantas dos vasos cuja leitura em absorbância em leitora de Elisa foram similares, foram utilizadas como inóculo viral no teste de transmissão, a fim de tornar o experimento o mais homogêneo possível.

## **2.6 Determinação da eficiência da transmissão e patogenicidade**

A fim de determinar a eficiência da transmissão, fragmentos das plantas infectadas com o BYDV-PAV foram disponibilizadas para afídeos das cinco espécies (*R. padi*, *S. avenae*, *S. graminum*, *M. dirhodum* e *S. maydis*), separadamente.

Foram utilizados quatro vasos com cinco plantas, para trigo e aveia, sobre as quais foram colocados para se alimentar três afídeos por planta. As etapas do processo de montagem dos testes (Figura 2) foram realizadas conforme descrito no item 2.5.



**Figura 2** – Etapas dos testes de transmissão e patogenicidade.

### 2.7 Delineamento experimental

Os ensaios foram organizados em delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se quatro vasos (repetições) com cinco plantas para cada combinação isolado X planta hospedeira X vetor, e cinco plantas para a combinação vetor avirulífero X planta hospedeira, além de um controle para trigo e um para aveia, os quais não receberam afídeos.

## **2.8 Variáveis analisadas**

A avaliação dos sintomas foi realizada visualmente para cada uma das plantas aos 15, 30 e 45 dias após a transmissão. A coleta para análise sorológica (concentração de vírus na planta) foi realizada por vaso, juntando-se sub-amostras de folhas das cinco plantas de cada vaso, 30 dias após a transmissão.

A reação colorimétrica foi quantificada por absorvância em espectrofotômetro de placa, leitora de Elisa, modelo Rosys Anthos 2010, a 405 nm. Considerou-se a reação positiva quando o valor da absorvância da amostra foi superior a duas vezes o valor da absorvância do controle negativo (planta de trigo e aveia livres de vírus) de cada placa.

Para fins de comparação de capacidade de infecção foi utilizado o conjunto de dados relativo ao vetor mais eficiente.

Visando comparar a patogenicidade de cada isolado em trigo e aveia, a média de quatro vasos calculada a partir dos valores da leitura em absorvância (405 nm) e percentual de plantas infectadas foram submetidas a comparação de médias.

A eficiência de transmissão foi calculada pela razão entre o número de plantas infectadas (sintomas e DAS-Elisa positivos) e o total de plantas inoculadas.

## **2.9 Análise dos dados**

Comparações de médias foram realizadas utilizando o programa Assistat – Programa de assistência estatística (Departamento

de Engenharia Agrícola/Centro de Tecnologia e Recursos Naturais/ Universidade Federal de Campina Grande – UFCG) (SILVA, 1996; SILVA & AZEVEDO, 2002, 2006, 2009).

Análises de correlação e gráficos foram realizados com auxílio do programa Microsoft Excel.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos trinta e cinco isolados caracterizados, vinte e três foram provenientes de plantas de aveia, nove de trigo, um de azevém e dois de cevada. Todos os isolados obtidos de plantas de aveia, trigo, cevada e azevém com sintomas típicos da virose, das regiões produtoras do país apresentaram DAS-Elisa positivo para BYDV-PAV. Os sintomas foram mais visíveis em plantas de aveia, embora, plantas de trigo, cevada e azevém também exibissem sintomas, porém, menos pronunciados.

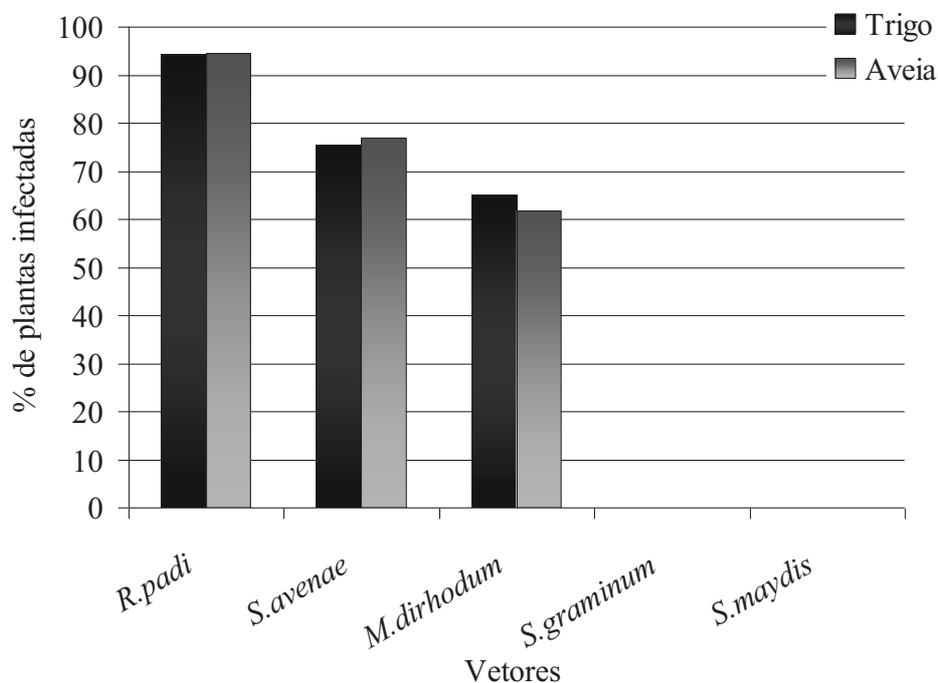
#### 3.1 Transmissão

*R. padi*, *S. avenae* e *M. dirhodum* foram vetores eficientes dos 35 isolados avaliados. Nenhum dos isolados foi transmitido por *S. graminum* e *S. maydis*.

Os isolados foram mais eficientemente transmitidos por *R. padi*, sendo a média de transmissão considerando o conjunto de dados obtidos para aveia e trigo de 94,3%. Para plantas de trigo a eficiência

média de transmissão foi de 94,3% com variação entre 50% a 100%, sendo que para 19 isolados a percentagem de plantas infectadas quando infestadas com esse vetor foi de 100%. Dez isolados ficaram entre 80% e 95% e apenas um isolado teve taxa de infectividade abaixo da média aos 45 dias, que foi de 50% (isolado 69 R.p). Em plantas de aveia observou-se o mesmo padrão, onde a média de transmissão por *R. padi* entre os isolados foi de 94,5%, entretanto com uma variação menor entre isolados aos 45 dias, que foi de 75% a 100% de plantas infectadas. Para 31 dos 35 isolados inoculados em plantas de aveia por *R. padi* observou-se taxa de transmissibilidade de 90% a 100% e 4 apresentaram de 75% a 85% das plantas infectadas.

*R. padi* vem seguido de *S. avenae* e *M. dirhodum*, que foram capazes de transmitir os isolados testados, sendo observado percentual de transmissão de 76,1% por *S. avenae* (79,2 % para trigo; 77,0% para aveia) e 63,4% de plantas infestadas com *M. dirhodum* (65,1% para trigo e 61,7% para aveia) (Figura 3).



**Figura 3** - Estimativa da eficiência de transmissão de isolados de BYDV-PAV por espécies de afídeos vetores. Média dos 35 isolados analisados em trigo e aveia.

No sul do Brasil, os primeiros estudos de transmissibilidade relatavam ocorrência de espécies de BYDV transmitidas por *M. dirhodum*, *S. avenae*, *R. padi*, *R. maidis* e *S. graminum*, sendo que as espécies transmitidas eficientemente por *M. dirhodum*, *S. avenae* e *R. padi* eram dominantes, enquanto que *R. maidis* e *S. graminum* apresentaram baixa eficiência (CAETANO, 1972). No presente estudo a espécie que apresentou maior percentual de transmissão foi *R. padi*. Da mesma forma *S. avenae* e *M. dirhodum* foram vetores eficientes, com percentuais de transmissão superiores a 50%, enquanto *S. graminum* não transmitiu o vírus (Tabela 2).

O perfil de transmissão múltiplo, ou seja, transmissão por várias espécies de afídeos, observado para os isolados testados é característico de BYDV-PAV. Assim como observado para a população atual, um perfil múltiplo de transmissão foi também observado nos anos 70. Embora, não existam dados sorológicos e moleculares, o perfil de transmissão dos anos 70 é compatível com a espécie BYDV-PAV.

Nos testes de transmissão realizados por Caetano (1972), foram utilizados 10 afídeos por planta. Para os testes realizados nesse trabalho, apenas três afídeos foram utilizados. O número de afídeos colocados sobre as plantas altera a probabilidade de transmissão, isto porque quanto maior o número de afídeos maior a probabilidade de ter pelo menos um indivíduo virulífero e maior a probabilidade dos indivíduos virulíferos efetuarem com sucesso o evento de transmissão. Em uma população de 10 afídeos/planta, a probabilidade de se ter indivíduos virulíferos é maior do que uma população de três afídeos/planta. Gomes (2006) estudando os níveis de infestação de zero, dois e dez pulgões virulíferos por planta na cultivar Embrapa 16, observou diferenças significativas no índice da virose.

Bianchin et al. (2008) relatam que plantas infestadas com dez afídeos apresentaram maior concentração viral, no entanto, não difere das infestações com cinco afídeos. Já a transmissão feita com três afídeos foi menos eficiente que a transmissão com dez, mas não foi diferente estatisticamente da transmissão com cinco afídeos.

Portanto, o fato de Caetano (1972) ter encontrado maiores percentuais de transmissão para as três espécies vetoras, pode ser

devido a maior eficiência de transmissão das espécies preponderantes na época, como também pode ser decorrente do número de afídeos utilizados nos testes caracterizando alta pressão de inóculo.

**Tabela 2** - Comparativo entre percentuais de transmissão pelas principais espécies vetoras em 1972 (CAETANO, 1972) e 2010 em plantas de trigo

<b>Espécies de Afídeos</b>	<b>1972</b>	<b>2010</b>
<i>M. dirhodum</i>	100%	65,1%
<i>S. avenae</i>	100%	75,2%
<i>R. padi</i>	100%	94,2%
<i>S. graminum</i>	33%	0%

Nenhum isolado testado foi transmitido pelo clone de *S. graminum* utilizado no experimento, entretanto, clones de *S. graminum* oriundos do campo são capazes de transmitir BYDV-PAV em testes diretos de transmissão (GRAY et al., 1998). Populações clonais de *S. graminum* podem diferir na sua habilidade de transmitir essa virose, sendo vetor eficiente da estirpe SGV e em menor grau transmite PAV (GRAY et al., 1998). Segundo Gray et al. (1998), uma população clonal de *S. graminum* da Carolina do Sul não transmitiu qualquer sorotipo de BYDV, enquanto que populações coletadas em outras localidades foram eficientes vetores (GILL, 1969; JOHNSON & ROCHOW, 1972). Segundo Rochow (1969) há especificidade na relação entre as espécies do vírus e as espécies do vetor (MILLER & RASOCHOVÁ, 1997), entretanto, esta especificidade do vetor não é absoluta. Estudos têm demonstrado que dentro de uma dada espécie

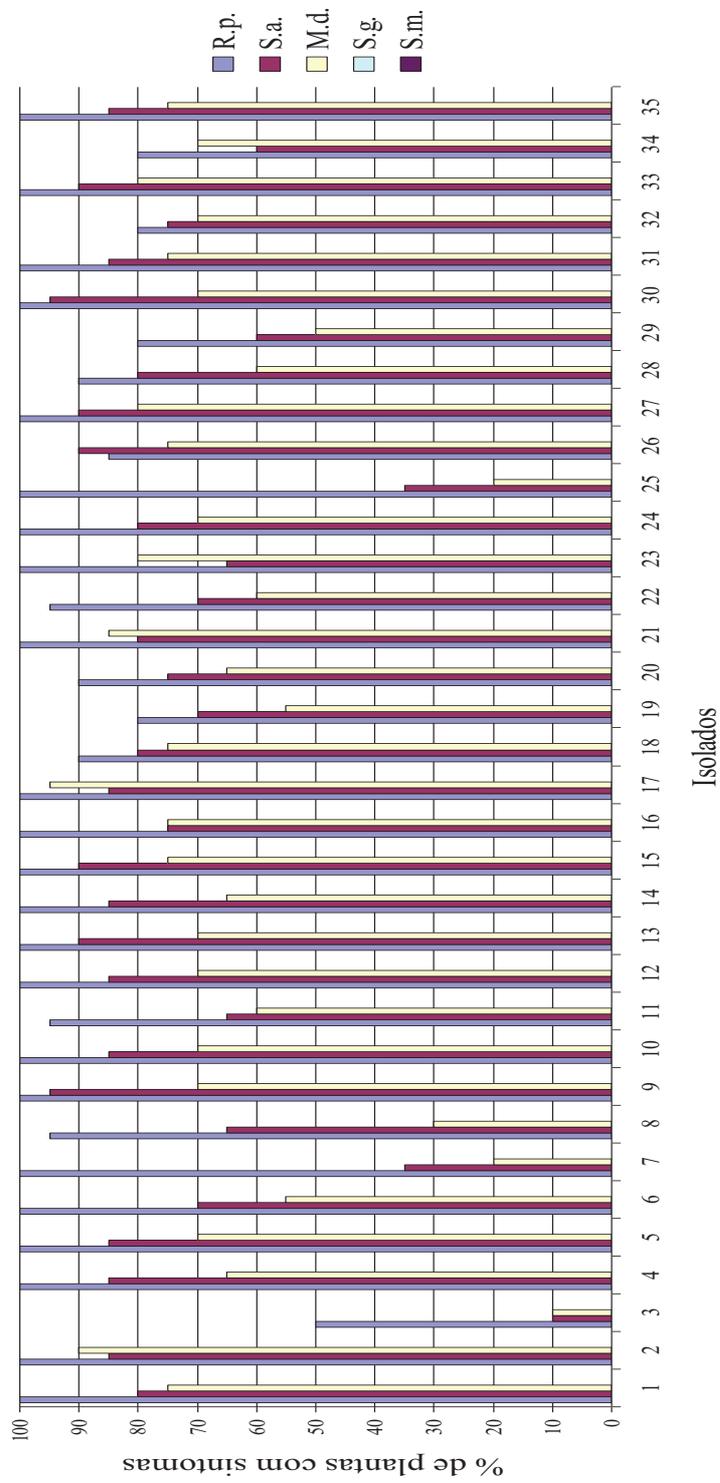
de pulgão, clones podem diferir em suas habilidades para transmitir vírus (SADEGHI et al., 1997).

Na literatura, *S. maydis* é relatada como sendo uma espécie capaz de transmitir viroses pertencentes ao gênero *Luteovirus* (BYDV) (BLACKMAN et al., 1990; BLACKMAN & EASTOP, 2000). Na Argentina (DELFINO, 2002; ALEMANDRI & TRUOL, 2009) e Bulgária (KRISTEVA & BAKARDZHIEVA, 2000) há relatos de transmissão de BYDV-PAV por essa espécie, entretanto, no presente estudo essa espécie não transmitiu nenhum dos isolados de BYDV-PAV testados (Figura 3).

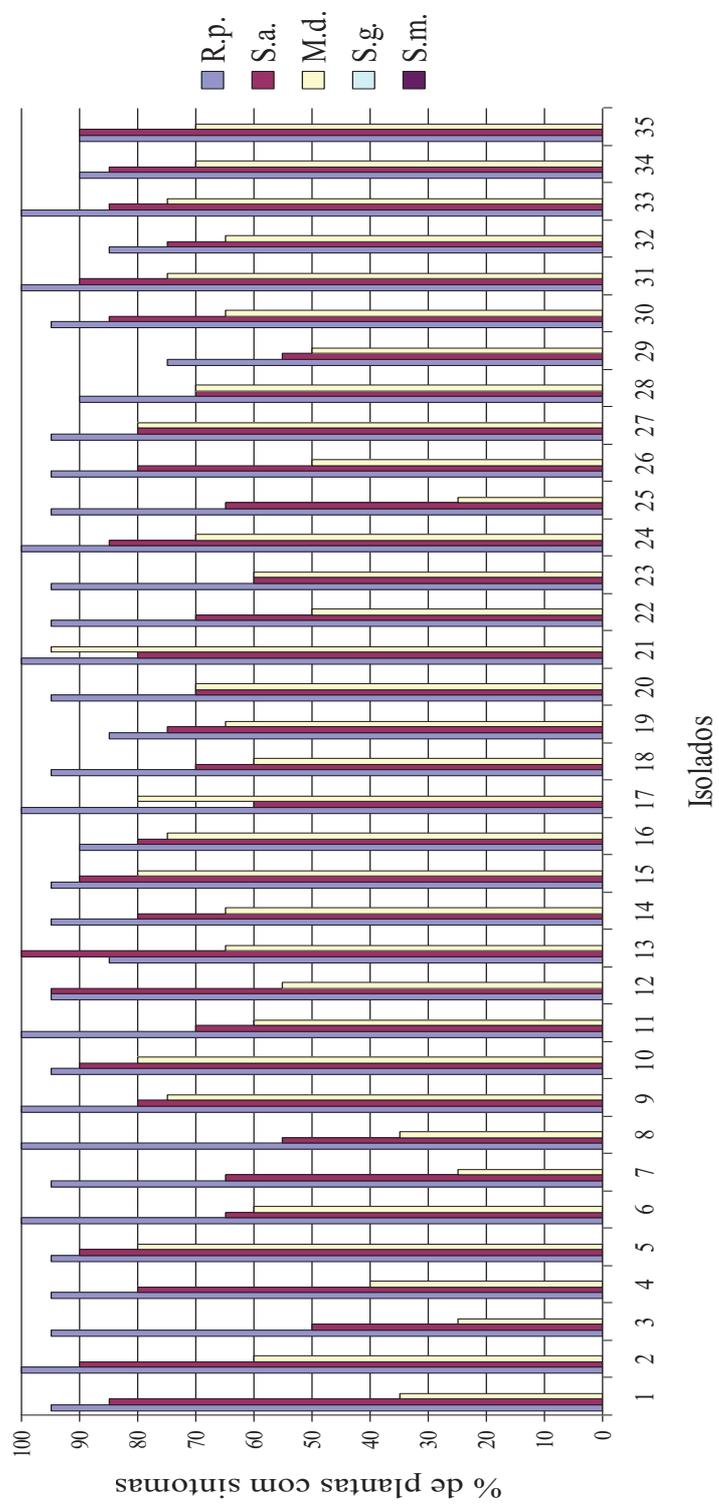
A ineficiência de *S. maydis* e *S. graminum* na transmissão do vírus não foi devido a mortalidade ou ao fato dessas espécies não terem se alimentado nas plantas testes, pois, no momento da eliminação dos afídeos, ambas as espécies estavam sobre as plantas alimentando-se.

Embora, tenham ocorrido variações de um isolado para outro, para a maioria, entre os vetores, manteve-se o mesmo padrão de transmissão, onde *R. padi*, com maior ou menor percentual de transmissão manteve-se como vetor preferencial dos isolados de BYDV-PAV testados, seguido por *S. avenae* e *M. dirhodum*, com ressalvas aos isolados 13 e 26 para os quais *S. avenae* foi mais eficiente como vetor para plantas de aveia e trigo respectivamente. Para os isolados 2, 17, 21, 23 e 34 para plantas de trigo e para isolados 17, 21 para plantas de aveia *M. dirhodum* foi mais eficiente vetor que *S. avenae*, entretanto *R. padi* se manteve como vetor mais eficiente para esses isolados.

Quando houve redução na taxa de transmissão de uma espécie, houve também redução na transmissão das demais tanto para trigo quanto para aveia (Figuras 4 e 5).



**Figura 4** - Eficiência de transmissão, por isolado, em trigo por cinco espécies de afídeos vetores.



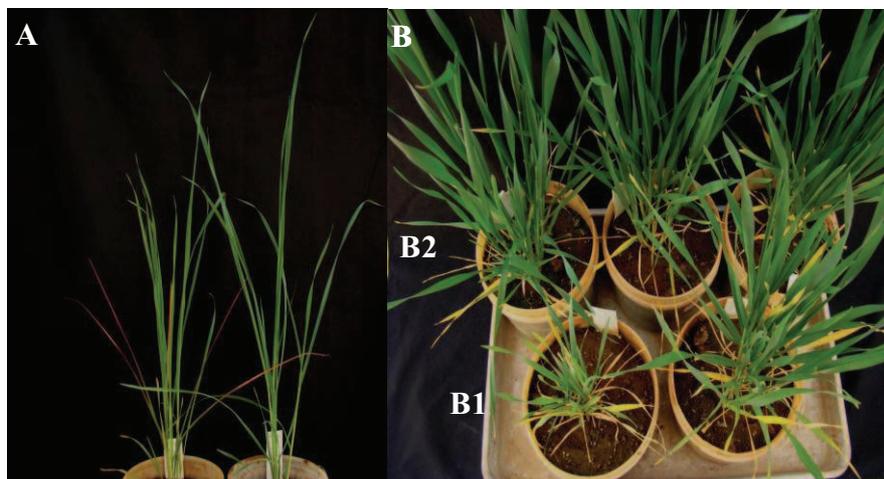
**Figura 5** - Eficiência de transmissão, por isolado, em aveia por cinco espécies de afídeos vetores.

### 3.2 Patogenicidade

Todos os isolados foram capazes de infectar trigo e aveia. Nas plantas de aveia infestadas com afídeos virulíferos foram visualizados sintomas como avermelhamento das folhas do ápice para a base e enrijecimento do limbo foliar (Figura 6A) similar aos sintomas observados no campo, já descritos na literatura (BURNETT & MEZZALAMA, 1983; CAETANO, 1972; FIGUEIRA, 1997; MILLER & RASOCHOVÁ, 1997; CASA et al., 2000).

Em plantas de trigo (Figura 6B) os sintomas mais evidentes foram amarelecimento do limbo foliar, redução da massa foliar e redução da estatura devido ao encurtamento dos entrenós, conforme relatado por D'arcy, (1995), além de atraso no ciclo de desenvolvimento em relação as plantas infestadas com afídeos avirulíferos e plantas não infectadas.

Com base nos resultados obtidos a partir de transmissões utilizando valores referentes a *R. padi* (vetor mais eficiente) em média, não houve diferença entre o período de incubação do vírus entre os hospedeiros (Tabela 3).



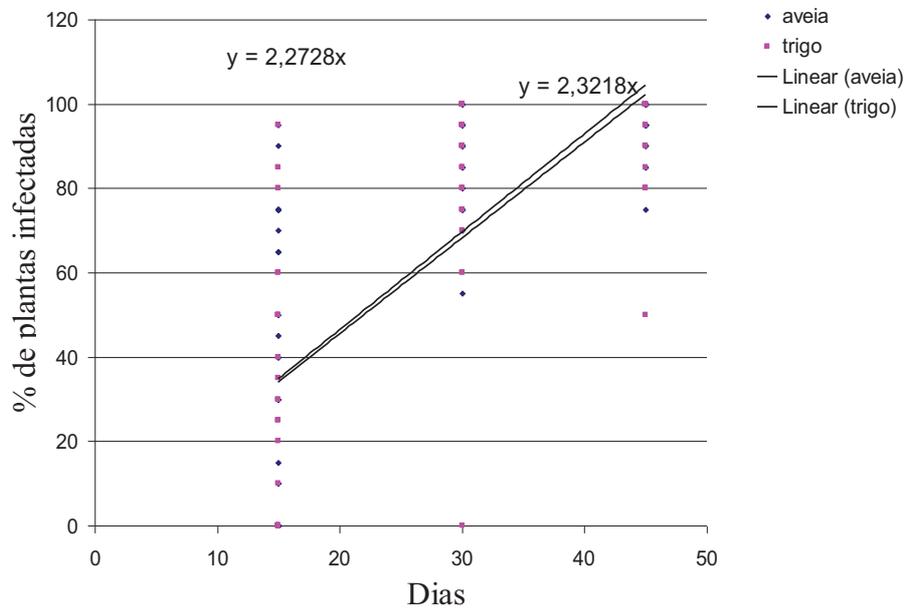
**Figura 6** - Sintomas causados por *Barley yellow dwarf virus* – PAV em plantas de aveia e trigo. A) Planta de aveia apresentando sintomas típicos de avermelhamento e enrijecimento do limbo foliar, com folha lanceolada. B) Sintomas em plantas de trigo, em B1 plantas infectadas apresentando redução da massa foliar e de estatura e em B2 plantas controle, sem infecção viral.

**Tabela 3** - Percentagem média de plantas com sintomas de BYDV-PAV nas três avaliações realizadas em trigo e aveia

Avaliação de sintomas	Médias	
	Aveia	Trigo
15 dias	29,7 a	21,2 a
30 dias	87,2 a	86,5 a
45 dias	94,4 a	94,2 a

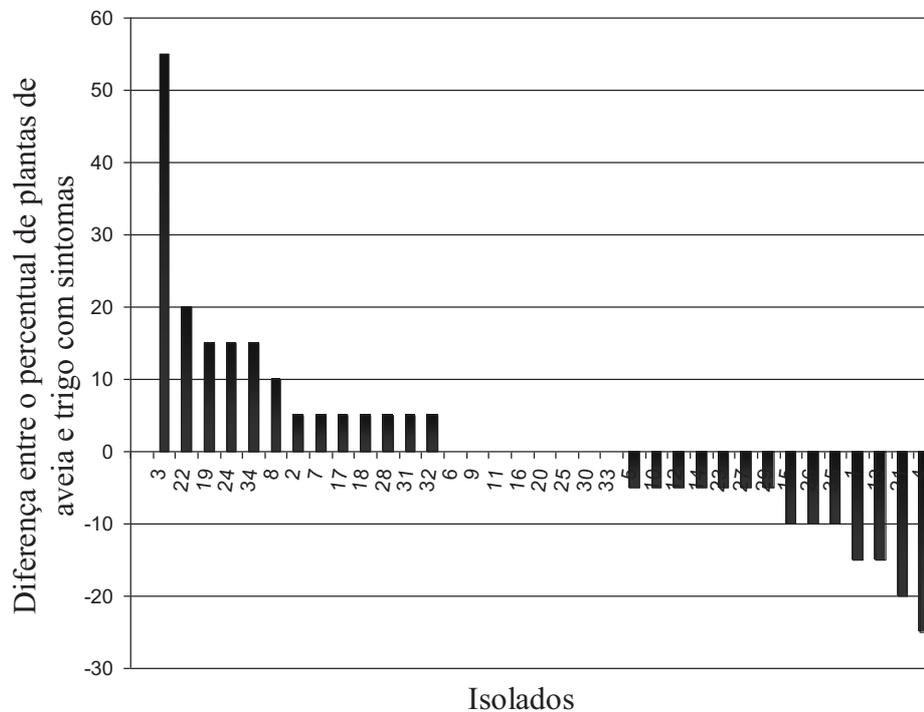
(a) médias seguidas de mesma letra na linha não diferem pelo Teste T ao nível de 5% de probabilidade.

O período de incubação ( $PI_{50\%}$ ), estimado por equação linear, foi de 21,5 dias para a aveia e 22 dias para o trigo (Figura 7).



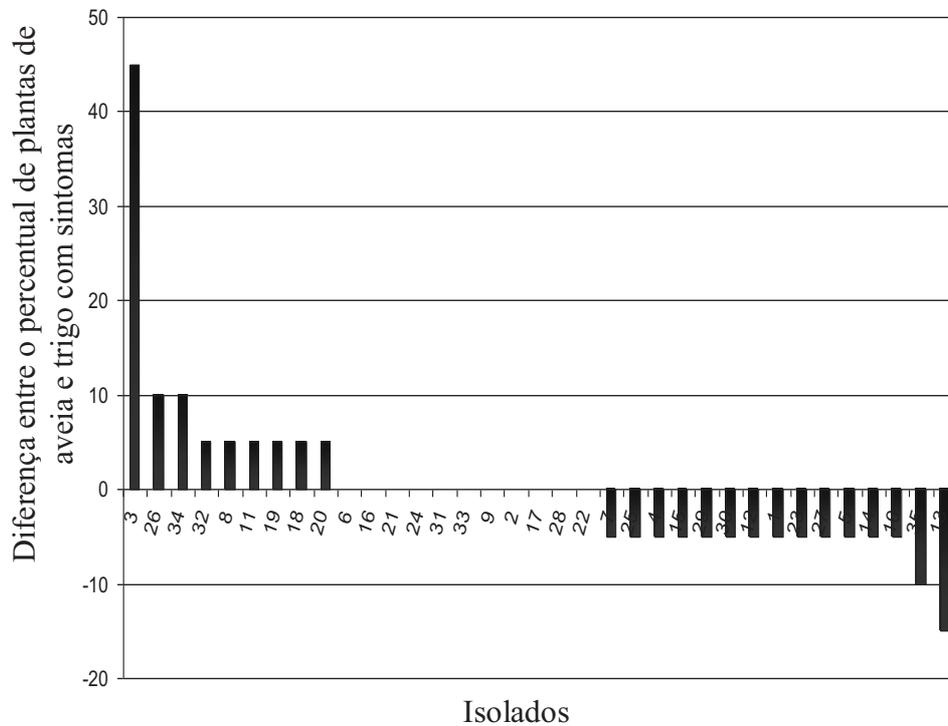
**Figura 7** - Relação entre percentual de plantas de trigo e aveia com sintomas.

Esse comportamento de similaridade nos percentuais de plantas com sintomas, entre os hospedeiros testados, se evidenciou na segunda avaliação (30 dias) (Figura 8), onde os isolados mantiveram a média de 87% de plantas infectadas, com exceção do isolado 3 no qual não foi observada plantas de trigo com sintomas, e em plantas de aveia o percentual foi baixo (55%), quando comparado aos demais isolados nesse período. Os demais isolados mantiveram diferença de até 30% entre os hospedeiros.



**Figura 8** – Valores referentes a diferença entre trigo e aveia quanto ao percentual de plantas com sintomas 30 dias após a inoculação, a partir de dados referentes ao vetor mais eficiente.

Aos 45 dias (última avaliação), a média de plantas apresentando sintomas foi de 97% tanto para plantas de aveia quanto de trigo, mantendo o padrão de similaridade, com diferenças nos percentuais de plantas de trigo e aveia infectadas entre 0% e 15%, com ressalvas ao isolados 3 que apresentou diferença de 45% entre os hospedeiros (Figura 9), mantendo o baixo percentual das avaliações anteriores.

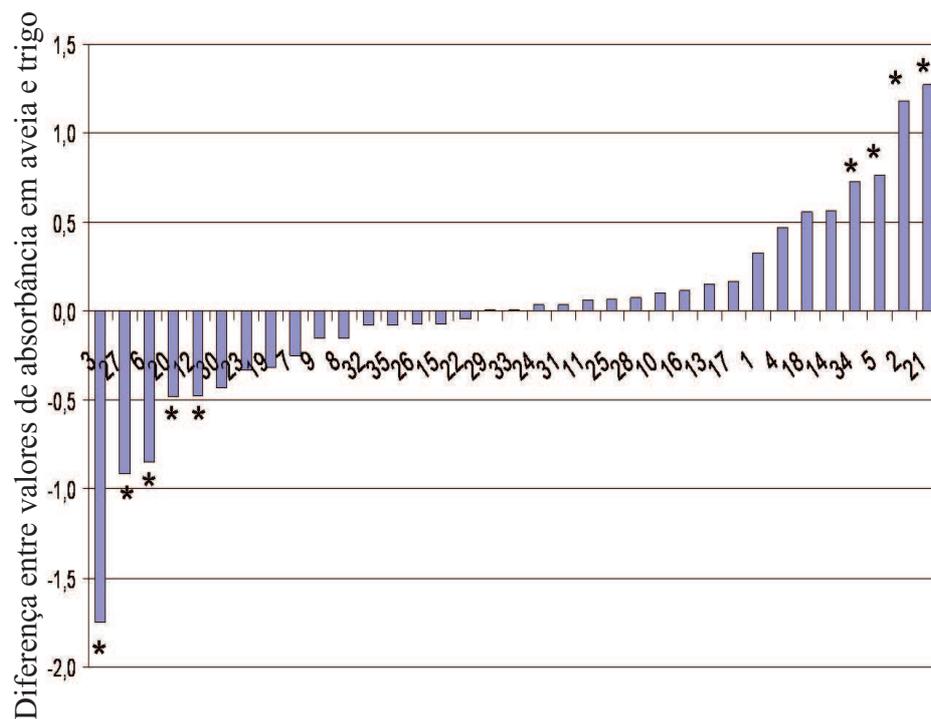


**Figura 9** – Valores referentes à diferença entre trigo e aveia quanto ao percentual de plantas com sintomas 45 dias após a inoculação, a partir de dados referentes ao vetor mais eficiente.

Análises sorológicas realizadas em plantas de aveia e trigo por DAS-Elisa, confirmou a infecção por BYDV-PAV para os dois hospedeiros utilizados.

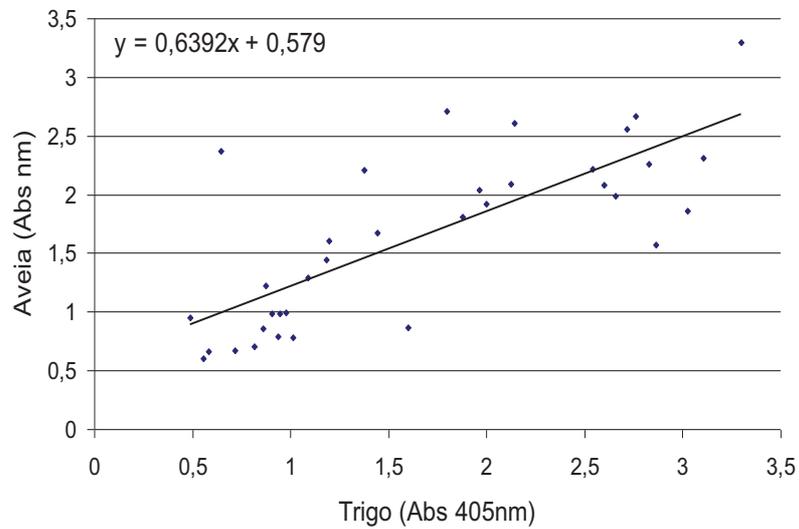
A partir da comparação de médias pelo Teste T, entre trigo e aveia, realizada através da análise dos valores médios de absorbância obtidos de transmissões do vetor mais eficiente (*R. padi*), observou-se que não houve diferença entre os hospedeiros (Figura 10), com exceção dos isolados 366 R.p; 204-206 R.p; 57 S.a; 408 R.p; 210 R.p os quais plantas de trigo infectadas com esses isolados

apresentaram maior concentração viral do que plantas de aveia. Para os isolados 184-185 R.p; 216-217 S.a; 334 S.a; 72 R.p; e 69 R.p, plantas de aveia apresentaram maior concentração viral em relação as plantas de trigo, havendo correlação entre os valores obtidos em plantas de trigo e aveia ( $r = 0,768$ ) (Figura 11).



**Figura 10** – Diferenças entre as médias do ELISA dos 35 isolados analisados pelo Teste T.

(\*) Isolados cujo valor da absorvância obtida por DAS-Elisa diferiram significativamente entre trigo e aveia.



**Figura 11** – Correlação entre valores obtidos por DAS-Elisa para trigo e aveia, considerando o vetor mais eficiente.

#### 4 CONCLUSÕES

- 1) *R.padi* foi o vetor mais eficiente, independentemente do isolado e do hospedeiro.
- 2) Nenhum dos isolados foi transmitido por *S. graminum* e *S. maydis*.
- 3) BYDV-PAV apresentou perfil de transmissão múltiplo.
- 4) Todos os isolados foram capazes de infectar e causar sintomas da virose em trigo e aveia.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos dados obtidos no presente trabalho, considera-se que assim como em outras importantes regiões produtoras de cereais de inverno do mundo, BYDV-PAV tem sido a espécie predominante nas condições brasileiras tanto em aveia como em trigo, observando-se a presença de outras espécies como BYDV-MAV e CYDV-RPV com menor frequência.

Um dos atributos que podem explicar a prevalência dessa espécie é o múltiplo perfil de transmissão por espécies, que estão presentes no campo durante o ano todo (*R. padi*) e presença de espécies de final do ciclo da cultura (*S. avenae* e *M. dirhodum*), além da capacidade de infectar aveia e trigo.

A presença marcante de *R. padi* sobre plantas voluntárias de trigo e aveia e lavouras implantadas de cereais de inverno, estando presente desde a implantação das cultura no campo e o fato de ser a espécie mais eficiente na transmissão de BYDVs, sendo responsável pela transmissão dessa virose para trigo e aveia ainda na fase de plântula, período no qual as plantas são mais suscetíveis ao dano ocasionado pela virose, presume-se ser essa a espécie vetora de maior importância nas condições brasileiras.

*S. avenae* é observado no campo a partir dos meses de inverno e primavera, período em que a cultura do trigo está na fase de espigamento. Embora transmita BYDV-PAV, o impacto a cultura é menor devido à presença desse vetor em um período adiantado de desenvolvimento das culturas.

**REFERÊNCIAS**

ABOULATA, A. E. *Barley yellow dwarf virus* in Egypt: current situation and prospects. In: HENRY, M.; McNAB, A. (Eds.). *Barley yellow dwarf disease: recent advances and future strategies*. PROCEEDINGS OF AN INTERNATIONAL SYMPOSIUM HELD AT EL BATÁN, September, 2002, Texcoco-Mexico: CIMMYT, 2002. p. 115-116.

AGRIOS, G. N. *Plant Pathology*. 4<sup>th</sup> Edition. Academic Press, 1997. 635p.

ALEMANDRI, V.; TRUOL, G. *Barley yellow dwarf virus* (BYDV-PAV) y sus variantes. In: TRUOL, G. (Ed.) *Enfermedades virales asociadas al cultivo de trigo en Argentina: reconocimiento, importancia, formas de transmisión y manejo*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Córdoba, cap. 2, p. 21-26, 2009.

ARAYA, I. R. A Review of *Barley Yellow Dwarf Virus* in the Southern Cone Countries of South America. IN: BURNETT, P. A. (Ed.). *World Perspectives on Barley Yellow Dwarf*. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico, 1990. p. 29-33.

BIANCHIN, V. Ocorrência do *Barley yellow dwarf virus* e *Cereal yellow dwarf virus*, transmissibilidade do BYDV-PAV pelo pulgão *Rhopalosiphum padi* e reação de cultivares de trigo ao complexo vírus/vetor. 2008. 107 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, RS. 2008.

BISOTTO, V. Algumas considerações sobre a cultura de trigo. In: *Indicações Técnicas da Comissão Sul-Brasileira de Pesquisa de Trigo*. Cruz Alta, RS: FUNDACEP, 2005, p.11-45.

BLACKMAN, R. L.; EASTOP, V. F.; BROWN, P. A. The biology and taxonomy of the aphids transmitting barley yellow dwarf virus. In: BURNETT, P. A. (Ed.): *World Perspectives on Barley Yellow Dwarf*. CIMMYT, Mexico, D.F., Mexico, 1990, p.197-214.

BLACKMAN, R. L.; EASTOP, V. F. *Aphids on the World's Crops, an identification and Information Guide*. 2 ed. John Wiley & Sons, Ltd., Chi Chester, England, 2000. 466p.

BRIGGLE, L. W. Barley yellow dwarf research program in the USA. In: *Barley Yellow Dwarf*. CIMMYT, Mexico, 1984.

BRUEHL, G. W. *Barley yellow Dwarf*. Monograph n. 1. The American Phytopathological Society, 1961. 52 p.

BURNETT, P. A.; MEZZALAMA, M. Vector relationships of isolated of barley yellow dwarf virus In: BURNETT, P. A. (Ed.) *World Perspective on Barley Yellow Dwarf*. México: CIMMYT, 1983.

BURNETT, P. A.; PLUMB, R. T. Present status of controlling Barley yellow dwarf virus. In: HADIDI, A.; KHETARPAL, R. K.; KOGANEZAWA, H. (Eds.) *Plant virus disease control*. The American Phytopathological Society, Minnesota-USA. 1998. p. 448-458.

CAETANO, Va. da R. Nota previa sobre a ocorrência de uma virose em cereais de inverno no Rio Grande do Sul. *Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia*, v. 2. p. 53-65, 1968.

\_\_\_\_\_. Estudo sobre o vírus do nanismo amarelo da cevada, em trigo, no Rio Grande do Sul. 1972. Tese (Doutorado em agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. 1972.

CAETANO, Ve. da R. Estudos sobre os afídeos vetores do Vírus do Nanismo Amarelo da Cevada, em especial de *Acyrtosiphon dirhodum*, em trigo, no Sul do Brasil. 1973. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 1973.

CANZIANI, J. R.; GUIMARÃES, V. D. A. O trigo no Brasil e no mundo: cadeia de produção, transformação e comercialização. In: CUNHA, G. R. da (Ed.). *Oficina sobre trigo no Brasil*. Brasília, 2009. p. 29-72.

CASA, R. T.; REIS, E. M.; SCHONS, J. *Vírus do nanismo amarelo da cevada – VNAC*. São Paulo: UPF, 2000, 22p.

CHAPIN, J. W.; THOMAS, J. S.; GRAY, S. M.; SMITH, D. M.; HALBERT, S. E. Seasonal Abundance of Aphids (Homoptera: Aphididae) in Wheat and Their Role as Barley Yellow Dwarf Virus Vectors in the South Carolina Coastal Plain. *Entomological Society of America*, v. 94, n. 2, 2001.

CLARK, M. F.; ADAMS, A. N. Characteristics of microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal General Virology*, v.34, p. 475-483, 1977.

CLEMENT, D. L.; LISTER, R. M.; FOSTER, J. E. ELISA-based studies on the ecology and epidemiology of *Barley yellow dwarf virus* in Indiana. *Phytopathology*, v.76, p. 86-92, 1986.

COMAS, J.; PONS, X.; ALBAJES, R.; PLUMB, R. T. The Role of Maize in the Epidemiology of *Barley yellow dwarf virus* in Northeast Spain. *Journal of Phytopathology*, v.138, n. 3, p. 244-248, 1993.

COMPANHIA NACIONAL DA ABASTECIMENTO – CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira, safra 2009/2010, quarto levantamento, 2010. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acessado em: 10 dezembro 2010.

COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA - CBPA. In: *Indicações técnicas para cultura aveia*. Guarapuava. Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, 2006.

COSTA, C. L. *Vetores de vírus de plantas* – 1. Insetos. Brasília: Universidade de Brasília, Departamento de Fitopatologia, v.6, p. 103-171, 1998.

CUNFER, B. M.; MASK, P. L.; BUNTIN, G. D.; VAN RIESSEN, H. W.; ROBERTS, J. J.; HEWINGS, A. D. A survey for *Barley yellow dwarf* luteovirus on wheat in Georgia and Alabama, USA. *Barley Yellow Dwarf News*. CIMMYT, v. 5, p. 26-27, 1994.

D'ARCY, C. J. Symptomatology and host range of barley yellow dwarf. In: D'ARCY, C. J.; BURNETT, P. A. (Eds.).

*Barley yellow dwarf: 40 years of progress*. The American Phytopathological Society. Minnesota-USA, 1995. p. 9-28.

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*. The American Phytopathological Society. Minnesota-USA, 1995, p. 1-5.

DEDRYVER, C. A.; RIAULT, G.; TANGUY, S.; S.; LE GALLIC, J. F.; TROTTE, M.; JACQUOT, E. Intra-specific variation and inheritance of BYDV-PAV transmission in the aphid *Sitobion avenae*. *European Journal of Plant Pathology*, v.111, p. 341-354, 2005.

DELFINO, M. A. Dos especies de pulgones de interés fitosanitario nuevas para la afidofauna Argentina (Hemiptera, Aphididae). In: Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Resúmenes, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, 2002. 123p.

ESAU, K. Anatomy of plant virus infections. *Annual Review Phytopathologi*, v.5, p. 45-76, 1967.

FABRE, F.; PLANTEGENEST, M.; MIEUZET, L.; DEDRYVER, C.; LETERRIER, J. L.; JACQUOT, E. Effects of climate and land use on the occurrence of viruliferous aphids and the epidemiology of barley yellow dwarf disease. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v. 106, p. 49-55, 2005.

FARRELL, J. A.; SWARD, R. J. *Barley yellow dwarf virus* serotypes and their vectors in Canterbury, New Zeland. *Plant Pathology*, v. 18, p. 21-23, 1989.

FARGETTE, D.; LISTER, R. M.; HOOD, E. L. Grasses as a reservoir of *Barley yellow dwarf virus* in Indiana. *Plant Disease*, v. 66, n. 11, p. 1041-1045, 1982.

FAUQUET, C. M. *Virus taxonomy: eighth report of the international committee on taxonomy viruses*. San Diego: Academic Press, 2005. 1258p.

FERERES, A.; LISTER, R. M.; CASTANERA, P.; FOSTER, J. E. Identification, Distribution and Vector Population Dynamics of *Barley yellow dwarf virus* in Three Cereal-Producing Areas of Spain. *Journal of Phytopathology*, v. 126, n.1, p. 79-91, 1989.

FIGUEIRA, A. R. Grupo Luteovirus - Parte I. In: LUZ, W. C. (Org.). *Revisão Anual de Patologia de Plantas*. Passo Fundo: RS- RAPP, v. 05, p. 1-58, 1997.

\_\_\_\_\_. Grupo Luteovirus - Parte II. In: LUZ, W. C. *Revisão anual de patologia de plantas*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, v. 6, p. 367-421, 1998.

FLOSS, E. L.; VÉRAS, A. L.; FORCELINI, C. A.; GOELLNER, C.; GUTKOSKI, L. C.; GRANDO, M. F.; BOLLER, W. Programa de pesquisa de aveia da UPF “30 anos de atividades – 1977-2007”. *Revista Plantio Direto*, 2007. Disponível em: [http://www.plantiodireto.com.br/?body=cont\\_int&id=785](http://www.plantiodireto.com.br/?body=cont_int&id=785). Acesso em: 23 fev. 2011.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; FILHO, E. B.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. *Entomologia agrícola*. Piracicaba, FEALQ, 2002. 920p.

GARRET, A.; KERLAN, C.; THOMAS, D. Ultrastructural study of acquisition and retention of potato leafroll luteovirus in the alimentary canal of its aphid vector, *Myzus persicae* Sulz. *Archive Virology*, v.141, p. 920-1279, 1996.

GASSEN, D. N. *Insetos associados a cultura do trigo no Brasil*. Passo Fundo: Embrapa – CNPT, 1984 (Embrapa - CNPT. Circular técnica 3).

\_\_\_\_\_. Manejo de pragas em trigo. In: BURNETT, P. A.; CUELLAR, E. (Eds.). *Novas tecnologias em trigo*. Cascavel-PR: COODETEC/ BAYER Crop Science, 2003, p. 42-61.

GILDOW, F. E. Biology of aphid vectors of *Barley yellow dwarf virus* and the effect of BYDV on aphids. In: BURNETT,

P. A.; CUELLAR, E. (Eds.). *Barley yellow dwarf – a proceeding of the workshop*. México: CIMMYT, 1983. p. 28-33.

\_\_\_\_\_. *Barley yellow dwarf virus-aphid vector interactions associated with virus transmission and vector specificity*. In: BURNETT, P.A. (Ed.). *World Perspectives on Barley Yellow Dwarf*. Proceeding of the International Workshop. 1987. p. 111-122.

GILDOW, F. E.; GRAY, S. M. The aphid salivary gland basal lamina as a selective barrier associated with vector-specific transmission of barley yellow dwarf luteoviruses. *Phytopathology*, v. 83, p. 320-1293, 1993.

GILL, C. C.; COMEAU, A. Synergism in cereal corn leaf aphids specific and non specific isolates of *Barley yellow dwarf virus*. *Phytopathology*, v. 67, p. 1388-1392, 1977.

GILL, C. C.; CHONG, H. Cytopathological evidence for the division of *Barley yellow dwarf virus* isolates into two subgroups. *Virology*, v. 95, p. 59-69, 1979.

GOMES, M. F. R. Danos do afídeo *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera: Aphididae) em função da duração e do nível de infestação, em estádios iniciais de trigo. 2006. 73 f. Dissertação de Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, RS. 2006.

GRAY, S. M.; BANERJEE, N. Mechanisms of arthropod transmission of plant and animal viruses. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 63, n.1, p. 128-148, 1999.

GRAY, S.; CHAPIN, J. W.; SMITH, D. M.; BANERJEE, N.; THOMAS, J. S. Barley yellow dwarf luteoviruses and their predominant aphid vectors in winter wheat grown in South Carolina. *Plant Disease*, v. 82, n.12, p. 1328-1333, 1998.

GUO, J. Q.; LAPIERRE, H.; MOREAU, J. P. Vectoring ability of aphid clones of *Rhopalosiphum padi* (L.) and *Sitobion avenae* (Fabr.) and their capacity to retain *Barley yellow dwarf virus*. *Annals of Applied Biology*, v. 131, p. 179-188, 1997a.

\_\_\_\_\_. Clonal variations and virus regulation by aphids in transmission of a French PAV-type isolate of *Barley yellow dwarf virus*. *Plant Disease*, v. 81, p. 570-575, 1997b.

HAACK, L.; LECLERCQ-LE QUILLEC, F.; HENRY, M.; ALBERT, H.; DEDRYVER, C. A. Vector Dynamics and BYD Disease Progress on Barley and Maize: Two Contrasting Cases and Consequences for Control. In: HENRY, M.; McNAB, A. (Eds.). *Barley yellow dwarf disease: recent advances and future strategies*. PROCEEDINGS OF AN INTERNATIONAL SYMPOSIUM HELD AT EL BATÁN, September, 2002, Texcoco- Mexico: CIMMYT, 2002. p. 40-43.

HALBERT, S.; VOEGTLIN, D. Biology and Taxonomy of Vectors of Barley Yellow Dwarf Viruses. In: D'ARCY, C. J.; BURNETT, P. A. (Ed.). *Barley yellow dwarf: 40 years of progress*. The American Phytopathological Society. Minnesota-USA, 1995, p. 217-257.

HABEKUB, A.; SCHLIEPHAKE, E. Importance of BYDV and its vectors in central Germany. In: HENRY, M.; McNAB, A. (Eds.). *Barley yellow dwarf disease: recent advances and future strategies*. PROCEEDINGS OF AN INTERNATIONAL SYMPOSIUM HELD AT EL BATÁN, September, 2002, Texcoco-Mexico: CIMMYT, 2002. 50p.

HARRINGTON, R. BYDV: the heat is on. In: HENRY, M.; McNAB, A. (Eds.). *Barley yellow dwarf disease: recent advances and future strategies*. In: BURNETT, P. A. (Ed.). *Barley yellow dwarf disease: recent advances and future strategies*. PROCEEDINGS OF AN INTERNATIONAL SYMPOSIUM HELD AT EL BATÁN, September, 2002, Texcoco-Mexico: CIMMYT, 2002. p. 34-39.

HENRY, M.; DEDRYVER, C. A. Fluctuations in cereals aphid populations on maize (*Zea mays*) in eastern France in relation to the epidemiology of *Barley yellow dwarf virus* (BYDV). *Journal of Applied Entomology*, v. 107, p. 401-410. 1989.

\_\_\_\_\_. Occurrence of *Barley yellow dwarf virus* in pastures of western France. *Plant Pathology*, v. 40, p. 93-99, 1991.

HENRY, M.; FRANCKI, R. I. B.; WALLWORK, H. Occurrence of barley yellow dwarf virus in cereals and grasses of the low-rainfall wheat belt of South Australia. *Plant Pathology*, v. 41, n. 6, p. 713-721, 1992.

HULL, R. M. *Plant Virology*. 4 ed. New York. Academic Press, 2002.

\_\_\_\_\_. The Movement of Viruses in Plant. *Annual Review Phytopathology*, v. 27, p. 213-240, 1989.

IRWIN, M. E.; THRESH, J. M. Epidemiology of *Barley yellow dwarf virus*: a study in ecological complexity. *Annual Review Phytopathology*, v.28, p. 393-424, 1990.

JOHNSON, R. A.; ROCHOW, W. F. An isolate of *Barley yellow dwarf virus* transmitted specifically by *Schizaphis graminum*. *Phytopathology*. v. 62, p. 921-925, 1972.

JOHNSTONE, G. R. Epidemiology of Barley Yellow Dwarf in Australasia. In: D'ARCY, C. J.; BURNETT, P. A. (Ed.). *Barley yellow dwarf: 40 years of progress*. The American Phytopathological Society. Minnesota-USA, 1995, p. 129 - 143.

JOHNSTONE, G. R.; SWARD, R. J.; FARRELL, J. A.; GEBER, R. S.; GUY, P. L.; MCEVAN, J. M.; WATERHOUSE, P. M. Epidemiology and control of barley yellow dwarf viruses in Australia and New Zeland. In: BURNETT, P. A. (Ed.). *World perspective on barley yellow dwarf*. 1990. p. 228-239.

KANG, B. C.; YEAM, I.; JAHN, M. M. Genetics of plant virus resistance. *Annual Review of Phytopathology*. v. 43, p. 581-621, 2005.

KR"STEVA, K. H.; BAK"RDZHIEVA, N. Studies of virus disease on cereal crop and the species composition aphids (Aphidinea, Homoptera) as vectors of barley yellow dwarf virus. *Bulgarian, Rasteniev" dni Nauki*, v. 37, n. 10, p. 942-947, 2000.

LAU, D.; SCHONS, J.; LAU, E. Y.; PEREIRA, P. R. V. da S.; SALVADORI, J. R.; PARIZOTO, G.; MAR, T. B. Ocorrência

do *Barley/Cereal yellow dwarf virus* e seus vetores em cereais de inverno no Rio Grande do Sul em 2007. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. 8 p. html. (Embrapa Trigo. *Comunicado técnico online*, 236). Disponível em: <[http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p\\_co236.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p_co236.htm)>. Acesso em: 18 dez., 2010.

LAU, D.; PEREIRA, P. R. V. da S.; SALVADORI, J. R.; SCHONS, J.; PARIZOTO, G.; MAR, T. B. Ocorrência do *Barley/Cereal yellow dwarf virus* e seus vetores em cereais de inverno no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e Mato Grosso do Sul em 2008. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009. 10 p. html. (Embrapa Trigo. *Comunicado Técnico online*, 256). Disponível em: <[http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p\\_co256.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p_co256.htm)>. Acesso em: 15 dez., 2010.

LECLERCQ-LE QUILLEC, F. Analyse de la dynamique spatiotemporelle du complexe BYDV [*Barley yellow dwarf virus*] et effet d'un traitement de semences sur la distribution des vecteurs et des virus. These de Doctorate, Université de Paris XI Orsay, 1992. 111p.

LECLERCQ-LE QUILLEC, F.; TANGUY, S.; DEDRYVER, C. A. Aerial flow of barley yellow dwarf viruses and of their vectors in western France. *Annals of applied Biology*, v. 126, p. 75-90, 1995.

LISTER, R. M.; FERERES, A.; FOSTER, J. E.; CASTANERA, P. Occurrence of *Barley yellow dwarf virus* in three major cereal-growing regions of Spain. In: *Barley Yellow Dwarf: A Proceedings of the Workshop*. BURNETT, P.A. (Ed.). Mexico, D.F.: CIMMYT. 1990. p. 49-54.

LISTER, R. M.; RANIERI, R. Distribution and economic importance of *Barley yellow dwarf*. In: D'ARCY, C. J.; BURNETT, P. A. (Eds.). *Barley yellow dwarf: 40 years of progress*. The American Phytopathological Society. Minnesota-USA, 1995. p. 55-74.

LOPES-DA-SILVA, M.; TONET, G. E. L.; VIEIRA, L. G. E. Characterization and genetic relationships among Brazilian

biotypes of *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae) using RAPD markers. *Neotropical Entomology*, v. 33 n. 1, p. 43-49, 2004.

LUCIO-ZAVALETA, E.; SMITH, D. M.; GRAY, S. M. Variation in transmission efficiency among *Barley yellow dwarf virus*-RMV isolates and clones of the normally inefficient aphid vector, *Rhopalosiphum padi*. *Phytopathology*, v. 91, p. 792-796, 2001.

MARTIN, R. R.; D'ARCY, C. J. Taxonomy of barley yellow dwarf viruses. In: D'ARCY, C.J.; BURNETT, P. A. (Eds.) *Barley yellow dwarf: 40 years of progress*. The American Phytopathological Society. Minnesota-USA, 1995, p. 203-214.

MILLER, W. A.; RASOCHOVÁ, L. Barley Yellow Dwarf viruses. *Annual Review of Phytopathology*, v. 35, p. 167-190, 1997.

MILLER, W. A.; DINESH-KUMAR, S. P.; PAUL, C. P. Luteovirus gene expression. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v. 14, p. 179-211, 1995.

MILLER, W.A.; BECKETT, R.; LIU, S. Structure, function and variation of the *Barley yellow dwarf virus* and *Cereal yellow dwarf virus* genomes. In: HENRY, M.; McNAB, A. (Eds.). *Barley yellow dwarf disease: recent advances and future strategies*. PROCEEDINGS OF AN INTERNATIONAL SYMPOSIUM HELD AT EL BATÁN, September, 2002, Texcoco- Mexico: CIMMYT, 2002. p. 1-8.

MUNDSTOCK, C. M. *Cultivo dos cereais de estação fria: trigo, cevada, aveia, centeio, alpiste e triticale*. Porto Alegre: Ed. NBS Ltda, 1983.

NAULT, L. R. Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. *Annual Entomological Society American*, v. 90, p. 521-541, 1997.

OSWALD, J. W.; HOUSTON, B.R. A new virus disease of cereals, transmissible by aphids. *Plant Disease*, v. 11, p. 471-475, 1951.

PARK, J. C.; SEO, J. H.; CHOI, J. S.; PARK, S. L.; SUH, D. Y.; LEE, M. H. Distribution of *Barley yellow dwarf virus* vic-PAV strain in South Korea. In: HENRY, M.; McNAB, A. (Eds.). *Barley yellow dwarf disease: recent advances and future strategies*. PROCEEDINGS OF AN INTERNATIONAL SYMPOSIUM HELD AT EL BATÁN, September, 2002, Texcoco- Mexico: CIMMYT, 2002. p. 110-111.

PEDERSEN, M. K.; HANSEN, M.; ERBS, G. *Barley yellow dwarf virus*. *Plant Virology*, 2001.

PEREIRA, P. R. V. da S.; SALVADORI, J. R.; LAU, D; NAVIA, D. Pulgão-preto-dos-cereais, *Sipha maydis* Passerini, 1860 (Hemiptera: Aphididae). Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. 1 folder.

PLUMB, R. T. *Barley yellow dwarf virus* - a global problem. In: PLUMB, R. T.; THRESH, J. M. (Eds.). *Plant Virus Epidemiology*. London: *Blackwell Society*, p.185-98, 1983. 377p.

POKORNÝ, R. Occurrence of viruses of the family *Luteoviridae* on maize and some annual weed grasses in the Czech Republic. *Cereal Research*. v. 34, n. 2 -3, p. 1087-1092, 2006.

POWER, A. G.; GRAY, S. Aphid transmission of barley yellow dwarf viruses. In: D'ARCY, C. J.; BURNETT, P. A. (Eds.). *Barley yellow dwarf: 40 years of progress*. The American Phytopathological Society. Minnesota-USA, 1995, p. 259-289.

ROCHOW, W. F. Differential transmission of barley yellow dwarf from field samples by four aphid species. *Plant Disease*, v. 262, p. 356-359, 1959.

\_\_\_\_\_. Specialization among greenbugs in the transmission of *Barley yellow dwarf virus*. *Phytopathology*, v. 50, p. 881-884, 1960.

\_\_\_\_\_. Biological properties of four isolates of *Barley yellow dwarf virus*. *Phytopathology*. v. 59, p. 1580-1589, 1969.

\_\_\_\_\_. *Barley yellow dwarf virus: phenotype mixing and vector specificity. Science*, v. 167, p. 875-878, 1970.

ROCHOW, W. F.; PANG, E. W. A. Aphids can acquire strains of barley yellow dwarf virus they do not transmit. *Virology*, v. 15, n. 3, p. 382-384, 1961.

RUBIN-DE-CELIS, V. E.; BRAMMER, S. P.; GASSEN, D. N.; VALENTE, V. L. S.; OLIVEIRA, A. K. Discrimination and comparison of three wheat aphid species based on isoenzyme patterns. (Hemiptera: Aphididae). *Brazilian Journal of Genetics*, v. 19, n. 3, p. 399-404, 1996.

SADEGHI, E.; DEDRYVER, C. A.; GAUTHIER, J. P. Role of acquisition and inoculation time in the expression of clonal variation for BYDV-PAV transmission in the aphid species *Rhopalosiphum padi*. *Plant Pathology*, v. 46, p. 502-508, 1997.

\_\_\_\_\_. Variation in transmission of two BYDV-MAV isolates by multiple clones of *Rhopalosiphum padi* L. *European Journal of Plant Pathology*, v. 103, p. 515-519, 1997.

SALVADORI, J. R. *Pragas da cultura da cevada*. Passo Fundo: Embrapa – CNPT, 2000a (Embrapa Trigo. Documento 23).

\_\_\_\_\_. Pragas da lavoura de trigo. In: CUNHA, G. R.; BACALTCHUK, B.(Org). *Tecnologia para produzir trigo no Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: Assembléia Legislativa do Rio Grande do Sul – Comissão de Agricultura Pecuária e Cooperativismo; Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000b (Série Culturas, 2).

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

SCHONS, J.; DALBOSCO, M. Identificação de estirpes do vírus do nanismo amarelo da cevada. *Fitopatologia Brasileira*, v. 25, p. 634, 1999. Suplemento.

SCHONS, J.; NICOLINI, F.; KUYAVA, S. R.; SOARES, D. C.; FLOSS, E. L. Danos causados pelo vírus do nanismo amarelo da cevada em 17 cultivares de aveia. *Fitopatologia Brasileira*, v. 24, p. 360, 1999. Suplemento.

SIGNORET, P. A. The *Barley yellow dwarf virus* situation in Western Europe. In: *World Perspectives on Barley Yellow Dwarf International Workshop*. Udine (Italy), CIMMYT - Mexico, DF (Mexico), 1990. p. 6-11.

SILVA, F. de A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, 2009.

\_\_\_\_\_. A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4, Orlando-FL-USA: Anais... Orlando: *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, 2006. p. 393-396.

\_\_\_\_\_. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v. 4, n. 1, p. 71-78, 2002.

SILVA, F. de A. S. E. The ASSISTAT Software: statistical assistance. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 6, Cancun, Anais... Cancun: *American Society of Agricultural Engineers*, 1996. p. 294-298.

SILVA, M. T. B. da; COSTA, E. C.; BALARDIN, R. S. Reação de cultivares e eficiência do controle químico de pulgões vetores do *Barley yellow dwarf virus* em trigo. Santa Maria, *Ciência Rural*, v. 34, n.5, p. 1333-1340, 2004.

TOMASINI, R. G. A. Evolução histórica e aspectos econômicos. In: OSÓRIO, E. A. (Ed.). *Trigo no Brasil*. Fundação Cargill, Campinas, São Paulo, 1982. p. 3-26.

TRUOL, G. *Barley yellow dwarf virus* in Argentina. In: HENRY, M.; McNAB, A. (Eds.). *Barley yellow dwarf disease: recent advances and future strategies*. PROCEEDINGS OF AN INTERNATIONAL SYMPOSIUM HELD AT EL BATÁN, September, 2002, Texcoco-Mexico: CIMMYT, 2002. p. 53-54.

Van REGENMORTEL, M. H. V.; FAUQUET, C. M.; BISHOP, D. H. L.; CARSTENS, E. B.; ESTES, M. K.; LEMON, S. M.; MANILOFF, J.; MAYO, M. A.; MCGEOCH, D. J.; PRINGLE, C. R.; WICKNER, R. B. *Virus Taxonomy- Seventh report of the International Committee on Taxonomy of viruses*. Academic Press. New York. 2000. 1162p.

WATERHOUSE, P. M.; GILDOW, F. E.; JOHNSTONE, G.R. Luteoviruses. Kew, Surrey, England: Common. *Mycology Institute Associate Applied Biology*, 1988.

WATKINS, J. E.; LANE, L. C. *Barley Yellow Dwarf disease of barley, oats, and wheat*. 2003. Disponível em: <<http://www.ianr.unl.edu/pubs/plantdisease/g906.htm>>. Acesso em: 13 dez. 2010.

WIESE, M. V. *Compendium of wheat diseases*. 2 ed. St. Paul: American Phytopathological Society Press, 1991. 112p.

ZHANG, Q. F.; GUAN, W. N.; REN, Z. Y.; ZHU, X. S.; TSAI, J. H. Transmission of *Barley yellow dwarf virus* strains from northwestern China by four aphid species. *Plant Disease*, v. 67, p. 895-899, 1983.

ZHOU, G.; CHENG, Z.; ZHANG, S. Serological identification of luteoviruses of small grains in China. *Plant Disease*, v. 68, p. 710-713, 1984.

ZHOU, G.; ZHANG, S.; ROCHOW, W. F. One wheat yellow dwarf virus strain, transmissible by aphid vectors of *Schizaphis graminum* and *Sitobion avenae*. *Acta Physiologica Sinica*, v. 16, p. 17-21, 1986.

ZHOU, G.; ZHANG, S.; QIAN, Y. Biological and serological identification of four strains of wheat yellow dwarf viruses. *Agricultural Sciences in China*, v. 20, p. 7-12, 1987.

ZYLBERSZTAJN, D.; NEVES (Coord.), M. F.; ROSSI, R. M. (Coord.); FERRAZ, R. M. M.; CASTRO, L. T.; MARINO, M. K.; MIZUMOTO, F. M.; CONEJERO, M. A.; FERREIRA, T. F.; ORATI, R. A. *Estratégias Para o Trigo no Brasil*. São Paulo: Atlas, 2004, 224 p.

# ANEXOS

## ANEXO 1

Tampão de Extração (EXTRACTION BUFERR – dissolvido em 1000 mL de PBST (1x))

Sulfito de sódio	1,3 g
Polyvinylpyrrolidona (PVP) MW 24 – 40,000	20,0 g
Azida sódica	0,2 g
Albumina (POWDERED EGG – Chicken)	2,0 g
Tween 20	20,0 g
pH ajustado para	7,4

## ANEXO 2

Tampão de cobertura ou tampão de revestimento (COATING BUFFER) – dissolvido em 1000 mL de água destilada

Carbonato de sódio	1,59 g
Bicarbonato de sódio	2,95 g
Azida sódica	0,2 g
pH ajustado para	9,6

## ANEXO 3

Tampão de lavagem (PBST) – dissolvido em 1000 mL de água destilada

Cloreto de sódio	8,0 g
Fosfato de sódio, dibásico (anidro)	1,15 g
Fosfato de potássio, monobásico	0,2 g
Cloreto de potássio	0,2 g
Tween 20	0,5 g
pH ajustado para	7,4

## ANEXO 4

Tampão para o conjugado ECI BUFFER – dissolvido em 1000 mL de PBST

Soro albumina bovina (BSA)	2,0 g
Polyvinylpyrrolidona (PVP) MW 24 – 40,000	20,0 g
Azida sódica	0,2 g
pH ajustado para	7,4

## ANEXO 5

Tampão para o substrato (PNP Buffer) – dissolvido em 800 mL de

água destilada

Cloreto de magnésio	0,1 g
Azida sódica	0,2 g
Dieta nolamina	97,0 mL
pH ajustado para (volume final para 1000 mL)	9,8