

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

**ALTERAÇÕES METABÓLICAS, EFICIÊNCIA DA
TRANSMISSÃO E DANOS PROMOVIDOS PELO
Barley yellow dwarf virus (BYDV-PAV) EM CINCO
CULTIVARES DE TRIGO**

**ARIANE CLAUDETE LANZARINI
Bióloga**

**Orientadora: Prof^a Dr^a Jurema Schons
Co-orientador: Prof. Dr. José Roberto Salvadori**

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

Passo Fundo, abril de 2006.

AGRADECIMENTOS

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

À CAPES pela concessão de Bolsa de estudo;

À Prof^a Dr^a Jurema Schons pela orientação, amizade conquistada, pelo incentivo, apoio e ensinamentos pertinentes à pesquisa;

Ao Prof. Dr. José Roberto Salvadori pela co-orientação, incentivo, disponibilidade e ensinamentos;

Ao coordenador do Curso de Pós-graduação em Agronomia Prof. Dr. Alexandre Augusto Nienow pelo profissionalismo, competência e auxílio nas análises estatísticas;

À FAMV e a Embrapa Trigo pelo suporte de laboratórios e demais instalações utilizadas para o êxito do trabalho;

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Agronomia, pelos ensinamentos e atenção;

Aos funcionários e estagiários do Laboratório de Entomologia da Embrapa Trigo pela colaboração e amizade, em especial ao Egídio Sbrissa;

À Banca examinadora, Dr. Álvaro Almeida e Dr. Mauro Silva Braga pelas valiosas sugestões;

Aos colegas do mestrado pelo auxílio nas disciplinas, convívio e amizade. Em especial as amigas de todas as horas Vanessa, Kalíbia, Tanaka e Paula que marcaram minha trajetória com muita alegria;

Às minhas amigas e colegas do Laboratório de Virologia, Fernanda Nicolini-Teixeira, Francini Binotto-Missiura e Fernanda Vilasbôas pela amizade, apoio, esforço, amor e dedicação;

Aos meus pais Claudete e Charles, pela vida e pelo incentivo, minha eterna gratidão pelo carinho, amparo e orientações que me fizeram acreditar e concretizar este ideal, e por mais uma vez acreditarem em mim, eu agradeço;

À minha irmã Enaíra, pela amizade verdadeira e incondicional;

À minha família passo-fundense, Roseana e Étel, que fizeram nossa casa se tornar um verdadeiro lar;

À família Fazolo que me acolheu com carinho e paciência, e pelos alegres momentos vividos juntos, em especial ao Tiago;

E principalmente à DEUS, pela vida, saúde, família, força, coragem, persistência e oportunidades.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO	1
ABSTRACT	4
1 INTRODUÇÃO	7
2 REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1 A cultura do trigo.....	9
2.2 Vírus.....	11
2.3 <i>Barley yellow dwarf virus</i> (BYDV).....	12
2.3.1 Classificação do BYDV.....	12
2.3.2 Hospedeiros do BYDV.....	14
2.3.3 Transmissão e disseminação do BYDV.....	14
2.3.3.1 Descrição e biologia dos pulgões.....	17
2.3.3.2 Danos (diretos e indiretos) causados por pulgões em trigo.....	18
2.3.3.3 Controle dos pulgões.....	19
2.3.3.3.1 Controle químico.....	19
2.3.3.3.2 Controle biológico.....	20
2.3.4 Sintomatologia do BYDV.....	22
2.3.5 Danos causados pelo BYDV.....	23
2.3.6 Controle do BYDV.....	25
2.3.6.1 Controle químico – Tratamento de sementes.....	25
2.3.6.2 Resistência e tolerância.....	25
2.3.7 Identificação e detecção do BYDV.....	28
2.3.8 Proteínas.....	29
2.3.9 Açúcares totais.....	32
CAPÍTULO I	
Efeito da inoculação do <i>Barley yellow dwarf virus</i> (BYDV-PAV), por três espécies de pulgões, sobre o metabolismo de cinco cultivares de trigo	35
Resumo.....	35
Abstract.....	37
1 INTRODUÇÃO.....	39
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
2.1 Local de execução.....	42
2.2 Material vegetal e semeadura.....	42

2.3	Tratamentos	42
2.4	Delineamento experimental.....	43
2.5	Determinações.....	44
2.5.1	Concentração relativa de BYDV-PAV.....	44
2.5.2	Determinação do teor de clorofila.....	44
2.5.3	Determinação do teor de proteína solúveis.....	45
2.5.4	Determinação do nível de açúcares totais.....	45
2.6	Análise dos dados.....	46
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
4	CONCLUSÕES.....	55

CAPÍTULO II

	Resposta do cinco cultivares de trigo à infecção com o <i>Barley yellow dwarf virus</i> - PAV.....	56
	Resumo.....	56
	Abstract.....	58
1	INTRODUÇÃO.....	60
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	61
2.1	Local de execução.....	61
2.2	Material Vegetal e semeadura.....	62
2.3	Tratamentos.....	62
2.4	Delineamento experimental.....	63
2.5	Análise dos dados.....	64
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
4	CONCLUSÕES.....	73
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
CAPÍTULO I	
1 Teste de Elisa para BYDV-PAV (valor Abs a 405 nm) na folha bandeira do trigo infectada através de pulgões das espécies <i>Rhopalosiphum padi</i> (R.p.), <i>Schizaphis graminum</i> (S.g.) e <i>Sitobion avenae</i> (S.a.), comparados ao controle sadio.....	47
2 Teste Elisa para BYDV-PAV (valor da Abs a 405 nm) no colmo do trigo infectado através de pulgões da espécie <i>Rhopalosiphum padi</i> (R.p.), <i>Schizaphis graminum</i> (S.g.), <i>Sitobion avenae</i> (S.a.), comparados ao controle sadio.....	49
3 Teor de proteína (mg de proteínas/g de matéria fresca (MF)) em folhas de trigo infectadas com BYDV-PAV pelos pulgões <i>Rhopalosiphum padi</i> (R.p.), <i>Schizaphis graminum</i> (S.g.) e <i>Sitobion avenae</i> (S.a.), comparados ao controle sadio.....	50
4 Nível de açúcares totais (mg de glicose/g de matéria fresca (MF)) em folhas de trigo infectadas com BYDV-PAV pelos pulgões <i>Rhopalosiphum padi</i> (R.p.), <i>Schizaphis graminum</i> (S.g.) e <i>Sitobion avenae</i> (S.a.), comparados ao controle sadio.....	52
5 Teor de clorofila (µg/mL) em folhas de trigo infectadas com BYDV-PAV pelos pulgões <i>Rhopalosiphum padi</i> (R.p.), <i>Schizaphis graminum</i> (S.g.) e <i>Sitobion avenae</i> (S.a.), comparados ao controle sadio.....	54

CAPÍTULO II

1 Estatura média de 50 plantas (cm) de cinco cultivares de trigo infectadas pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio.....	65
2 Peso médio por planta de matéria seca (Parte aérea + raiz) de cinco cultivares de trigo infectadas pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio.....	66
3 Número médio de afilhos por planta de cinco cultivares de trigo infectadas pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio.....	68
4 Número médio de espigas por planta de cinco cultivares de trigo infectadas pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio...	69
5 Número médio de grãos por planta (espiga principal + espiga secundária) de cinco cultivares de trigo infectadas pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio.....	70
6 Peso de mil grãos (espiga principal + espiga secundária) de cinco cultivares de trigo infectadas pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio.....	71
7 Produtividade média (ha) de cinco cultivares de trigo infectadas pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio.....	72

**ALTERAÇÕES METABÓLICAS, EFICIÊNCIA DE
TRANSMISSÃO E DANOS PROMOVIDOS PELO Barley yellow
dwarf virus (BYDV-PAV) EM CINCO CULTIVARES DE
TRIGO**

**ARIANE CLAUDETE LANZARINI¹, JURENMA SCHONS²,
JOSÉ ROBERTO SALVADORI³**

RESUMO - O vírus do nanismo amarelo da cevada (*Barley yellow dwarf virus* - BYDV) causa anualmente prejuízos consideráveis em seus hospedeiros, principalmente em trigo, cevada e aveia em todos os países produtores desses cereais. Com o objetivo de detectar, quantificar e estudar o efeito do BYDV-PAV sobre o metabolismo das plantas e verificar a eficiência na transmissão do vírus por três espécies de pulgões (*Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae* e *Schizaphis graminum*) em cinco cultivares de trigo (BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS Camboatá e BRS Angico), conduziu-se um experimento (experimento I) em telado junto à Embrapa-Trigo Passo Fundo/RS. O experimento II, também realizado em telado da Embrapa-Trigo, teve como objetivo avaliar os danos promovidos pelo BYDV-PAV nos mesmos cultivares de trigo do experimento I. O delineamento foi de blocos ao acaso em três repetições com parcelas

¹ Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade Passo Fundo (UPF).

² Orientadora, Bióloga, Doutora em Ciências Biológicas, professora do PPGAgro da FAMV e ICB/UPF.

³ Co-orientador, Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, professor de PPGAgro e pesquisador da Embrapa-Trigo.

sub-divididas em quatro, sendo que cada uma foi infestada com uma das espécies de pulgões previamente expostos a aquisição viral e, uma sub-parcela permaneceu isenta de pulgões, como controle sadio. O experimento II teve delineamento similar, variando apenas quanto ao número de sub-parcelas, que neste caso foram duas, uma recebeu as três espécies de pulgões concomitantemente e a outra permaneceu isenta dos pulgões, como controle sadio. No experimento I, doze dias após a colocação dos pulgões, realizou-se o teste de Elisa na folha bandeira e colmo para confirmar a espécie do vírus presente no experimento e quantificou-se o vírus nessas diferentes partes da planta. Determinou-se o teor de proteínas solúveis, o nível de açúcares totais e a concentração de clorofila para analisar o efeito do vírus sobre o metabolismo dos cinco cultivares de trigo. Para os danos causados pelo BYDV-PAV em trigo, determinou-se características agrônomicas e dos componentes da produtividade. Os dados dos experimentos foram submetidos à análise de variância e as médias ao teste de Tukey a 5%. Os resultados do experimento I confirmaram a transmissão do BYDV-PAV pelas três espécies de pulgões. Na folha bandeira de trigo não houve diferença significativa na concentração viral entre os cultivares e entre os vetores. No colmo o vetor mais eficiente foi o *R. padi*, enquanto que *S. avenae* e *S. graminum* não diferiram estatisticamente entre si. O teor de proteínas foi maior nas plantas sadias em todos os cultivares e o nível de açúcares totais foi maior nas plantas infectadas. Houve redução na concentração de clorofila nas plantas de trigo infectadas em todos os cultivares. No experimento II, evidenciou-se dano significativo em função da

infecção viral em todas as variáveis testadas. Quanto às características agronômicas, a mais afetada foi o peso de matéria seca, que variou de 26,49% (BRS 177) a 52,67% (BRS 179). Para estatura de plantas houve reduções de 12,56% (BRS 177) a 15,51% (BRS Camboatá). Nos componentes de produtividade, a produtividade total de grãos foi o mais afetado, cuja redução variou de 34,17% (BRS Camboatá) a 60,81% (BRS 179). No número médio de afilhos por planta, apenas os cultivares BRS Angico e BRS 179 apresentaram reduções de 17,80% e 24,34% respectivamente. A redução do número médio de grãos variou de 26,12% (BRS Camboatá) a 54,29% (BRS 179). Também ocorreu diminuição no peso de mil grãos com redução que variou de 16,88% (BRS Camboatá) a 38,44% (BRS 194). Todos os resultados encontrados reiteram que o BYDV merece estudos mais detalhados, visto os danos causados sobre as plantas de trigo.

Palavras-chave: Danos, afídeos, proteínas, açúcares, clorofila, *Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae* e *Schizaphis graminum*.

**METABOLIC ALTERATIONS, EFICIENCY IN THE
TRANSMISSION AND DAMAGES PROMOTED FOR THE
Barley yellow dwarf virus (BYDV-PAV), IN FIVE CULTIVARS
OF WHEAT**

**ARIANE CLAUDETE LANZARIN¹, JURENMA SCHONS²
JOSÉ ROBERTO SALVADORI³**

ABSTRACT – The Barley yellow dwarf virus (BYDV) cause annually considerable damages in its hosts, mainly in wheat, barley and oats in all the producing countries of these cereals. With the objective to detect, to quantify and to study the effect of the BYDV-PAV on the metabolism of the plants and to verify the efficiency in the transmission of the virus for three species of aphids (*Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae* and *Schizaphis graminum*) in five cultivars of wheat (BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS Camboatá and BRS Angico), conducted an experiment (experiment I) in house green together to Embrapa-Trigo Passo Fundo/RS. Experiment II, also carried through in house green of the Embrapa-Trigo, had as objective to evaluate the damages promoted for the BYDV-PAV in the same cultivars of wheat of experiment I. the delineation was of blocks to

¹ Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade Passo Fundo (UPF).

² Orientadora, Bióloga, Doutora em Ciências Biológicas, professora do PPGAgro da FAMV e ICB/UPF.

³ Co-orientador, Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, professor de PPGAgro e pesquisador da Embrapa-Trigo.

three repetitions with parcels subdivided in four, being that each one was infested with one of the species of aphids previously displayed acquisition viral and, a sub-parcel remained exempt of aphids, as healthy control. Experiment II had similar delineation, varying only how much the number of sub-parcels, that in this in case had been two, one concomitantly received the three species from aphids and to another one remained exempt of the aphids, as healthy control. In experiment I, twelve days after the rank of the aphids, became the Elisa test in flag leaf and wheat stem to confirm the species of the present virus in the experiment and quantified the virus in these different parts of the plant. The soluble protein levels had been determined, the levels of total sugars and texts of chlorophyll to analyzed the effect of the virus on the metabolism of the five wheat cultivars. To damages for the BYDV-PAV in wheat, be determination from agronomics characteristics and the components of the income. The data of experiment had been submitted to the analysis of variance and the averages to the test of Tukey 5%. The results of experiment I had confirmed the transmission of the BYDV-PAV for the three species of aphids. In leaf wheat flag had it did not have significant difference in the viral concentration between cultivars and between the vectors. In stem, the vector most efficient was the *R.padi*, while *S. avenae* and *S. graminum* had not differed statistical between them. The protein texts had been bigger in the healthy plants in all to cultivars the texts of total sugars had been bigger in the infected plants. It had reduction in texts of chlorophyll in the infected plants of wheat in all cultivars. The experiment II, evidence significant damages in function of the viral infection in all the tested variable.

The agronomics characteristics, the most affected it was the weight of dry material, that varied of 26.49% (BRS 177) to 52,67% (BRS 179). For height of plants reductions of 12.56% (BRS 177) had been observed 15,51% (BRS Camboatá). And to the income components, the total income of grains was affected, whose reduction varied of 34.17% (BRS Camboatá) to 60,81% (BRS 179). In the average number of tillers for plant, only to cultivars BRS 179 and BRS Angico had presented reductions of 17,80% and 24,34% respectively. The reduction of the average number of grains varied of 26.12% (BRS Camboatá) to 54,29% (BRS 179). Also reduction in the weight of a thousand grains occurred that varied of 16,88% by 38,44% in BRS Camboatá and BRS 194 cultivars respectively. All the results found reiterate that the BYDV more deserves detailed studies, in view of the caused damages on the wheat plants.

Key words: damage, aphids, protein, sugar, chlorophyll, *Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae*, *Schizaphis graminum*.

1 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma das principais culturas agrícolas do Sul do Brasil, caracterizando-se como um cereal adaptado às mais diferentes regiões, sendo cultivado em todos os continentes do mundo.

A cultura do trigo está sujeita a diversas doenças, entre as quais se destaca a virose do nanismo amarelo da cevada, cujo agente causal é o *Barley yellow dwarf virus* - BYDV. Esta é a enfermidade viral mais disseminada em cereais de inverno em todo o mundo. Ocorre em toda a América do Norte, na Europa, na Ásia, na América do Sul, na Austrália e na Nova Zelândia. O BYDV é transmitido por diversas espécies de afídeos e infecta muitas espécies de gramíneas, incluindo cevada, milho, aveia, arroz e trigo. O conhecimento sobre esse vírus é muito restrito no Brasil.

No sul do Brasil, o BYDV é conhecido, especialmente entre os produtores e técnicos, como VNAC, fazendo uma analogia ao nome do vírus em português (vírus do nanismo amarelo da cevada).

O principal problema no que diz respeito ao conhecimento desta virose é que não há estudos caracterizando mecanismos de ação para cada espécie do BYDV sendo, portanto, as informações atuais genéricas, pois são baseadas apenas na sintomatologia.

Através da utilização de técnicas sorológicas como Elisa (Enzyme-linked immunorbent assay) torna-se possível determinar a espécie do BYDV e estudar os danos promovidos por cada uma em diferentes hospedeiros e/ou cultivares de trigo. Da mesma forma a atribuição de resistência de um determinado genótipo ao BYDV é

inespecífica tendo em vista que até então as espécies de BYDV não eram diferenciadas.

O presente trabalho teve os seguintes objetivos:

- Detectar e quantificar o BYDV-PAV na folha bandeira e colmo de plantas de cinco cultivares de trigo (BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS Camboatá e BRS Angico);
- Verificar o efeito do BYDV-PAV sobre os teores de proteínas solúveis, açúcares totais e clorofila em cinco cultivares de trigo;
- Quantificar os danos promovido pelo BYDV-PAV em cinco cultivares de trigo, inoculado por pulgões virulíferos;
- Estudar a eficiência de três espécies de pulgões (*R. padi*, *S. avenae* e *S. graminum*) na transmissão do BYDV-PAV em cinco cultivares de trigo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DO TRIGO

O cultivo do trigo evoluiu muito nos últimos anos em termos de incremento de produtividade, decorrente de melhores matérias genéticas, do aumento dos níveis tecnológicos aplicados nas lavouras, da melhoria da assistência técnica e da crescente profissionalização dos tricultores. Apesar disso, há redução drástica da área cultivada gerada por problemas diversos, como os de colheita, de armazenagem, de custo de produção, de marketing, de comercialização e, principalmente, de concorrência predatória internacional, alimentada por altos subsídios externos (BISOTTO, 2005).

O trigo é um dos cereais de maior potencial produtivo (MUNDSTOCK 1983) sendo considerado um produto alimentar estratégico pela universalidade de sua aceitação em todas as camadas da população, pelas facilidades de estocagem e de industrialização e pela diversidade de usos industriais e culinários (BARBOSA, 1996).

Em fevereiro de 2005, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) divulgou os dados preliminares da safra de 2004/05 de trigo, através dos quais verifica-se que o trigo é a segunda cultura de grãos em nível mundial em termos de produção, sendo superado apenas pelo milho em 13,5% na estimativa para a safra de 2005 (BISOTTO, 2005).

A China é o maior produtor mundial de trigo, com cerca de 14,5% do total, seguido pelos países da União Européia, Índia e Estados Unidos (BISOTTO, 2005).

No ano de 2005/2006, segundo dados preliminares, a área brasileira cultivada foi de 2.756,5 milhões de hectares, com produção de 5.843 milhões de toneladas de trigo, com produtividade de 2,112 kg/ha (CONAB, 2006).

Há uma estimativa de utilização de apenas 1,73 e 2,74 milhões de hectares em 2001 e 2002 respectivamente, do cultivo de trigo no Brasil. Os países do mercosul (Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai) são responsáveis por apenas 3,7% da produção mundial de trigo, considerando a safra de 2003 (BISOTTO, 2005).

Dados preliminares da safra 2005/2006 indicam que na região Sul do Brasil a área cultivada de 2.529 milhões de hectares, com produção de 5.354 milhões de toneladas e com produtividade de 2.117 kg/ha (CONAB, 2006).

O aumento da produção nacional depende da disponibilidade de recursos físicos, biológicas e ambientais, da redução dos custos de produção e do desenvolvimento de novas tecnologias, que possibilitem o plantio de cultivares com maior potencial produtivo para diferentes regiões, adequadas a diferentes usos industriais e mais resistentes às doenças, às pragas e a estresses ambientais (BARBOSA, 1996).

As doenças causadas por fungos, bactérias e vírus destacam-se entre os limitantes naturais da cultura do trigo e também de outros cereais de inverno por sua importância econômica destacam-se, a ferrugem da folha, a ferrugem do colmo, manchas foliares e a virose do nanismo amarelo da cevada, causada pelo *Barley yellow dwarf virus* –BYDV. As infecções por vírus afetam processos fisiológicos

das plantas e podem ser responsáveis por grandes reduções na produção (MEHTA, 1978; MATZENBACHER, 1999).

O BYDV é a enfermidade viral mais disseminada em cereais de inverno em todo o mundo. Ocorre em toda a América do Norte, na Europa, na Ásia, na América do Sul, na Austrália e na Nova Zelândia, podendo ser transmitido por 23 espécies de afídeos e infectar aproximadamente 100 espécies de gramíneas anuais e perenes, incluindo cevada, milho, aveia, arroz e trigo. Sua intensidade tem variado de pequena a severa, dependendo da região e das condições climáticas do ano do cultivo (NICOLINI, 2002; WATKINS & LANE, 2003).

2.2 VÍRUS

Vírus, palavra originária do latim, significa veneno, palavra que já foi bastante utilizada nos primórdios da microbiologia, quando era feita referência à transmissão de uma doença infecciosa de um organismo doente para um sadio, em razão de não ser possível detectar o agente casual da doença através dos métodos e equipamentos da época (BEDENDO, 1995).

As definições de vírus, geralmente, baseiam-se no tamanho da partícula, na patogenicidade, na presença de um ácido nucléico e na incapacidade da partícula de multiplicar-se fora de uma célula viva (BEDENDO, 1995).

Os vírus são um conjunto formado por uma ou mais moléculas de ácido nucléico, normalmente envolto por uma capa protetora de proteína ou lipoproteína. O ácido nucléico é capaz de sua própria

replicação somente no interior das células hospedeiras. Dentro dessas células, a produção de vírus é: a) dependente do sistema de síntese de proteínas do hospedeiro; b) organizada a partir de compostos existentes na célula; c) localizada em sítios, os quais não são separados do conteúdo da célula hospedeira, por uma membrana dupla de natureza lipoprotéica (MATTHEWS, 1991).

Segundo Agrios (1997), os vírus são nucleoproteínas que têm capacidade de causar doenças. Multiplicam-se somente em células vivas, não se dividem e não produzem estruturas reprodutivas especializadas como esporos. Ao invés disso, induzem as células do hospedeiro a replicá-los. Ao causarem doença, não consomem nem destroem os constituintes celulares; porém, causam danos pela utilização de substâncias celulares durante a replicação, ocupando espaço nas células e causando distúrbios nos processos celulares.

2.3 BARLEY YELLOW DWARF VIRUS (BYDV)

2.3.1 Classificação do BYDV

Entre as doenças consideradas de grande importância para a cultura do trigo está a virose do nanismo amarelo da cevada causada pelo *Barley yellow dwarf virus* (BYDV).

Até meados do ano 2000, o BYDV era classificado em cinco estirpes que se diferenciavam pela especificidade da transmissão das espécies vetoras e pela virulência nos hospedeiros, seguindo a designação da letra inicial do nome científico da espécie principal do

afídeo vetor: RPV transmitida eficientemente por *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus); RMV por *R. maidis* (Fitch); MAV por *Macrosiphum avenae* (Fabricius) (reclassificado como *Sitobion*); SGV por *Schizaphis graminum* (Rondani) e PAV tanto por *R. padi* como por *S. avenae* (PEDERSEN et al., 2003). Essas estirpes eram divididas em dois subgrupos; PAV, MAV e SGV subgrupo 1 e RPV e RMV subgrupo 2 (BURNET et al., 1987).

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 mudou a nomenclatura para vírus do nanismo amarelo dos cereais (*Cereal yellow dwarf virus* (CYDV-RPV)) e é uma espécie do gênero *Polerovirus*. As espécies BYDV-RMV, BYDV-GPV, BYDV-SGV também pertencem à família *Luteoviridae*, entretanto, não estão, até o momento, classificados quanto ao gênero (VAN REGENMORTEL et al., 2000).

O genoma dos membros da família *Luteoviridae* contém cinco ou seis Regiões Abertas de Leitura (ORFs). Os diferentes gêneros dessa família diferem nas propriedades biológicas, organização genômica, seqüências de aminoácidos e na disposição e no tamanho das ORFs; os membros do gênero *Luteovirus* são vírus de RNA senso positivo com um único genoma de 5.5 a 6 kb. (PEDERSEN et al., 2003).

2.3.2 Hospedeiros do BYDV

O BYDV infecta uma extensa gama de membros da família Poaceae, a qual é a única família de plantas suscetíveis ao ataque do vírus. Aproximadamente 100 espécies anuais e perenes são hospedeiras do vírus no mundo todo, fato este que contribui para perpetuar a enfermidade no campo (BURNETT et al., 1995).

Algumas das espécies de cereais de importância agrônômica como cevada (*Hordeum vulgare* L.), aveia (*Avena sativa* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), trigo duro (*Triticum turgidum* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), milho (*Zea mays* L.) e centeio (*Secale cereale* L.) são suscetíveis ao BYDV. Porém, os cereais de inverno - trigo, triticale, cevada e aveia - estão mais sujeitos à redução na produtividade (BURNETT et al., 1995).

2.3.3 Transmissão e disseminação do BYDV

O BYDV é transmitido por formas jovens e adultas dos afídeos vetores, sendo considerado um vírus persistente nos mesmos. Nem todas as espécies de pulgões são igualmente eficientes na transmissão do BYDV. As várias espécies de afídeos não diferem apenas por sua morfologia e fisiologia como também pela maneira de alimentação, o que influencia na sua eficiência como vetor. Pesquisas realizadas com diversos isolados de BYDV demonstram que este vírus possui espécies que se distinguem por sua virulência na planta hospedeira, na capacidade de infectar diferentes gêneros e espécies de gramíneas e na maneira como são transmitidas pelos vetores em relação específica,

preferencial ou indiferente por mais de uma espécie de afídeo (BURNETT, 1983; VAN REGENMORTEL et al., 2000).

Todos os vírus da família *Luteoviridae*, incluindo BYDV, são transmitidos de forma persistente por afídeos, sendo adquiridos através da ingestão da seiva do floema das plantas infectadas (GILDOW, 1983).

Os afídeos adquirem o vírus alimentando-se da seiva de plantas infectadas por períodos curtos de 30 minutos, mas o mais habitual é que a aquisição do vírus ocorra em alimentação prolongada (períodos de 12 a 30 horas). Depois de um período latente de quatro dias, o afídeo pode transmitir o vírus para plantas saudáveis ao alimentar-se das mesmas após a aquisição, uma vez adquirido o vírus são capazes de transmitir o vírus por toda a vida. A expressão dos sintomas da virose na planta pode surgir de uma a três semanas após o inseto virulífero ter se alimentado na planta inicialmente saudável (PALM, 1993).

A replicação do BYDV ocorre primeiramente nos tecidos do floema e induz a necrose destes. Um aumento em componentes nitrogenados, incluindo aminoácidos livres, tem sido relatado no tecido de folhas de aveia e cevada infectadas por BYDV, em geral, essas mudanças fisiológicas que ocorrem como resultado da infecção são similares às aquelas observadas no tecido senescente (BURNETT, 1983).

Os outonos amenos favorecem a multiplicação dos afídeos de gramíneas causando danos significativos. A existência de plantas hospedeiras com bom crescimento para servir de abrigo e alimento

para os afídeos durante este período e na primavera é importante (CAETANO, 1972).

A temperatura pode influenciar a transmissão das espécies do BYDV. A transmissão de RMV por *R. padi* e *S. avenae* aumentou de 6% e 11% a 15 °C para um máximo de 70% e 80% a 30 °C, respectivamente para cada afídeo (ROCHOW, 1969).

As interações entre vírus-vetor e vetor-planta são extremamente complexas, condicionando, portanto, a propagação do vírus e a ocorrência de danos em plantas cultivadas; têm sido efetuados inúmeros trabalhos neste sentido, os quais comprovam que cada planta, cada vetor, cada vírus e cada condição do meio onde se colocam estes quatro elementos, determinam uma situação particular, sendo, muito difícil, isolar um fator sem considerar os demais, por exemplo, várias espécies de pulgões transmitem o vírus do nanismo amarelo da cevada, são necessários poucos pulgões para que o cultivo seja rapidamente contaminado, plantas contaminadas amarelecem e chegam a ser mais atrativas para os pulgões, o que acentua ainda mais o efeito do patógeno (CORNUET, 1992).

Em um estudo epidemiológico realizado no ano de 1998 em plantas de trigo e aveia infectadas naturalmente com o BYDV, oriundas de diferentes regiões do Paraná e do Rio Grande do Sul, 75% das plantas amostradas estavam infectadas com a espécie BYDV-PAV, 20% com BYDV-MAV e 5% com BYDV-SGV, sendo que BYDV-RPV e BYDV-RMV não foram encontradas (SCHONS & DALBOSCO, 1999).

O BYDV não é transmitido pela semente, pelo solo ou por meios mecânicos, a transmissão e a disseminação ocorre unicamente

por meio de insetos vetores, espécies da família Aphididae denominados vulgarmente de afídeos ou pulgões (PEDERSEN et al., 2003).

Os principais afídeos vetores do BYDV são *Rhopalosiphum padi* (L.), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Sitobion avenae* (Fabricius), *Schizaphis graminum* (Rondani) e *Metopolophium dirhodum* (Walker) (BURNETT et al., 1987).

2.3.3.1 Descrição e biologia dos pulgões

São insetos que se alimentam da seiva das plantas, causando danos pela extração de seiva, efeito tóxico da saliva (*S. graminum*) ou transmissão de patógenos causadores de doenças. Os pulgões são nativos da Ásia e Europa, de onde provavelmente foram introduzidos na América, neste novo ambiente, livre dos seus inimigos naturais atingiram altas populações na década de 70 (GASSEN, 1984).

De acordo com (SALVADORI 2000b; GALLO et al., 2002 e GASSEN, 2003), os pulgões pertencem a ordem Hemiptera, família Aphididae e as espécies mais frequentemente encontrada em trigo são: *Schizaphis graminum* (Rondani, 1952) – pulgão-verde-dos-cereais; *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus, 1758) – pulgão-da-aveia; *Rhopalosiphum rufiabdominale* (Sasaki, 1899) – pulgão-da-raiz; *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) – pulgão-do-milho; *Sitobion avenae* (Fabricius, 1794) – pulgão-da-espiga; *Metopolophium dirhodum* (Walker, 1849) – pulgão-da-folha.

São descritos como 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. Reproduzem-se por partenogênese telítoca, são vivíparos e desenvolvem-se por paurometabolia, com 4 estádios ninfais, multiplicam-se rapidamente (aproximadamente uma geração por semana), originando colônias numerosas, constituídas de ninfas e fêmeas ápteras e aladas (forma de disseminação). O clima frio aumenta a duração do ciclo de vida e diminui a multiplicação (SALVADORI, 2000a). Possuem aparelho bucal picador-sugador, desenvolve-se e multiplica-se melhor em temperaturas amenas (18 a 25 °C) e em períodos de pouca chuva. Os pulgões podem viver até três meses sob temperatura inferior a 5 °C, e morrer a temperaturas constantes superiores a 28 °C (GASSEN, 2003). De acordo com Gallo et al., 2002, os pulgões são descritos da seguinte maneira:

2.3.3.2 Danos (diretos e indiretos) causados por pulgões em trigo

Tanto pulgões jovens (ninfas) como adultos alimentam-se da seiva de trigo, que é suscetível ao dano desde a emergência até que os grãos estejam completamente formados.

Os danos ocasionados pelos pulgões, na cultura do trigo, podem ser diretos pela extração da seiva, diminuindo o número, o tamanho e o peso de grãos e o poder germinativo das sementes, e principalmente de forma indireta agindo como vetores na transmissão do vírus do nanismo amarelo da cevada (VNAC), causado *pelo Barley yellow dwarf virus* (SALVADORI, 2000b).

S. graminum provoca um dano adicional, causado pela toxidez da saliva. O dano depende do cultivar do trigo e do biótipo do pulgão (SALVADORI, 2000b).

Os prejuízos são maiores nos anos de seca, para todas as espécies de afídeos encontradas em trigo (GALLO et al., 2002).

Os danos maiores verificam-se quando a infecção pelo vírus ocorre nos estádios iniciais de desenvolvimento das plantas. Por outro lado infecções tardias a partir do estágio de alongamento determinam danos menores (LISTER & RANIERI, 1995).

2.3.3.3 Controle dos pulgões

2.3.3.3.1 Controle químico

Na década de 70, os pulgões *M. dirhodum* e *S. avenae* desenvolveram altas populações em trigais na região do planalto médio gaúcho. Apesar da existência de predadores e parasitos, o controle biológico natural não era suficiente para evitar os danos causados pelos pulgões. Em decorrência disso foi adotado o emprego generalizado de aficidas químicos nas lavouras de trigo. Em média, eram utilizadas duas aplicações de inseticidas em 95% da área tritícola, sendo que em algumas situações eram efetuadas até quatro aplicações (SALVADORI, 2000b).

Salvadori (2000b) citou que o uso de inseticida quando forem atingidos os níveis de danos econômicos, ou seja: a) 10% de plantas infestadas da emergência ao afilhamento; b) 10 pulgões/afilho do alongamento ao emborrachamento; e c) 10 pulgões/espiga, do

espigamento ao grão em massa. O nível de infestação deve ser avaliado através de inspeções semanais da lavoura, amostrando-se aleatoriamente locais na bordadura e no interior das lavouras que proporcione resultado médio representativo da densidade de pulgões. O tratamento de sementes com inseticidas apropriados também é tecnicamente viável.

2.3.3.3.2 Controle biológico

No controle biológico dos pulgões de trigo, os principais predadores são joaninhas (larvas e adultos), larvas de moscas e larvas e adultos de crisopídeos. Em geral, os predadores não são específicos e, portanto, alimentam-se de grande número de ovos, larvas e adultos de outros pequenos insetos, além de pulgões. A voracidade dos predadores geralmente é grande; a joaninha *Cycloneda sanguinea*, a joaninha *Eriopis connexa* e a larva do díptero *Allograpta* sp. apresentam consumo médio de 27, 43 e 37 pulgões/dia, respectivamente (GASSEN, 1988).

Fungos da ordem Entomophthorales, como *Conidiobolus obscurus*, *Entomophthora planchoniana*, *E. neoaphis*, *E. sphaerosperma* e *Zoophthora radicans*, são os principais patógenos dos pulgões da trigo (GASSEN & TAMBASCO; GASSEN & ZÜÑIGA citado por SALVADORI & TONET, 2001). Em condições ambientais favoráveis como temperatura relativa do ar elevadas, os fungos podem ocasionar epizootias e exercer importante controle natural dos pulgões (SALVADORI & TONET, 2001).

Os parasitóides são vespas (Hymenoptera, Aphidiidae e Aphelinidae) de tamanho diminuto (cerca de dois mm de comprimento) que ovipositam dentro do corpo dos pulgões, onde se desenvolve nova vespinha. Do ovo da vespinha eclode a larva que se alimenta e se desenvolve às custas do hospedeiro, que acaba morrendo cerca de uma semana após a oviposição. A larva empupa dentro do exoesqueleto seco do pulgão, que é chamado de múmia, de onde emerge novo parasitóide adulto para se acasalar e iniciar novo ciclo de vida, que desde a oviposição até emergência do adulto, dura cerca de 10 a 13 dias (SALVADORI & TONET, 2001).

É possível favorecer a ação dos inimigos naturais de pragas, evitando a queima de restos culturais, diversificando culturas, mantendo as bordas de lavouras e áreas inaptas para a agricultura com plantas que sejam hospedeiras de insetos sobre as quais os predadores e parasitos possam se desenvolver (GASSEN, 1984).

Em julho de 1978, com o apoio da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e da Universidade da Califórnia, Berkeley, EUA, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), por meio do Centro Nacional da pesquisa do Trigo (Embrapa Trigo), localizado em Passo Fundo – RS iniciou o programa de controle biológico dos pulgões do trigo. Desde os últimos anos da década de 60 os pulgões vinham causando grandes prejuízos a triticultura nacional, e o uso de inseticidas para o combate da praga crescera até atingir proporções econômica, social e ecologicamente inaceitável (SALVADORI & SALLES, 2002). Foram introduzidas no país 14 espécies de microhimenopteros parasitóides e 2 espécies de joaninhas predadoras. O programa deu ênfase ao

controle através dos parasitóides que passaram a ser produzidos massalmente e distribuídos sem custo, aos agricultores para liberação nas lavouras de trigo. Com base no controle biológico, o conceito de nível de dano econômico e no uso de inseticidas/doses menos nocivos aos organismos não visados, não só os inimigos naturais introduzidos como os que já existiam no ambiente foram beneficiados pela racionalização do controle químico (SALVADORI, 2000b).

2.3.4 Sintomatologia do BYDV

O BYDV, algumas vezes tem o seu diagnóstico dificultado. Sintomas da doença podem ser confundidos com deficiência nutricional, como de nitrogênio e de fósforo ou com distúrbios fisiológicos, como estresse hídrico devido a encharcamento do solo. Em todas as culturas afetadas ocorre descoloração foliar que se inicia no ápice e se estende para a base da folha (WATKINS & LANE, 2003).

Em trigo, centeio e tritcale os efeitos do BYDV são semelhantes. Quando a inoculação acontece na fase de plântula, os sintomas apresentados são clorose e nanismo. Ocorrendo 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 pretas ou descoloridas durante o amadurecimento, devido à presença de fungos patogênicos; em aveia, as folhas se tornam avermelhadas ou adquirem uma intensa

coloração púrpura, às vezes acompanhadas por o enrijecimento da planta (BURNETT, 1983).

Os efeitos da temperatura são extremamente importantes na manifestação dos sintomas provocados pela ação do vírus. Wiese (1991) afirma que as plantas inoculadas desenvolvem sintomas dentro de duas semanas se a temperatura estiver em torno de 20 °C, e dentro de quatro semanas se estiver em 25 °C. Nenhum sintoma aparece quando a temperatura está acima de 30 °C.

2.3.5 Danos causados pelo BYDV

Segundo Caetano, (1972) em plantas infectadas por BYDV a produção de grãos normalmente é prejudicada em número e peso, ocorrendo, porém, casos em que a planta produz poucos grãos por espiga e nestas condições o peso dos grãos é relativamente mais elevado.

Em cevada, os danos na produtividade de grãos podem atingir 90% (PLUMB, 1981) em plantas infectadas durante os estádios iniciais de crescimento, EC 10-12 (ZADOKS et al., 1974).

Segundo Caetano (1983), as perdas na produtividade de trigo em função da infecção com BYDV podem chegar a 20 até 30% no Rio Grande do Sul.

De acordo com Nutter et al. (1993), dano é qualquer redução na qualidade e na quantidade da produção. No caso do BYDV, os danos em plantas infectadas estão relacionados principalmente com o nanismo da planta, o tamanho das espigas, o número e o peso dos grãos. As alterações no crescimento e nos teores de clorofila refletem-

se em mudanças na anatomia, na citologia e na fisiologia de plantas infectadas pelo BYDV (JENSEN & D'ARCY, 1995).

Todos os anos, o BYDV causa grandes perdas na produção de cereais. Em média perdas na produção são comuns, na cevada chegam a 15%, 17% em trigo e 25% em aveia (KOEV et al., 1998).

O número de plantas infectadas e a intensidade dos sintomas são diretamente proporcionais às perdas. Quanto mais cedo ocorrer a infecção, maiores serão as perdas, que variam de ano para ano, em função da suscetibilidade do hospedeiro e das áreas de risco, podendo ser mínimas ou totais (SILVA, 1998).

No Brasil, Medeiros et al., (1996), trabalhando com aveia-branca (*Avena sativa*), quantificou uma redução no peso de grãos por panícula de até 39%, com dano médio de 16,6%. Em 1997, nos 17 cultivares que constituíram o ensaio de cultivares de aveia, em Passo Fundo, RS, os danos causados pelo BYDV variaram entre 3,93% no cultivar UPF 14 e 52,14% no cultivar UFRGS 16 (SCHONS et al., 1999).

Epidemias do BYDV são irregulares no tempo e espaço, o vírus pode ocorrer em um dado ano em uma área e não ocorrer em uma área imediatamente adjacente, e pode subseqüentemente não ocorrer por vários anos. Os danos, entretanto, podem ser severos em algumas regiões que são provavelmente afetadas todos os anos (SCHONS et al., 1999).

A perda total da colheita não é incomum (PLUMB, 1981). Em trigo danos de até 63% foram observados no ano de 1999 (SCHONS et al., 2000).

2.3.6 Controle do BYDV

Os procedimentos utilizados para controlar a ocorrência de moléstias causadas por vírus em plantas cultivadas visam reduzir as fontes de infecção, limitar a disseminação de vetores (insetos, na maioria dos casos) e minimizar o efeito da infecção na produção da planta. De modo geral, tais medidas não oferecem nenhuma solução permanente para o problema das moléstias causadas por vírus (MATTHEWS, 1991). Segundo Fraser (1992), apesar de considerável pesquisa na área, não existe nenhum composto químico que possa ser aplicado rotineiramente para controlar de forma direta os vírus que atacam as plantas.

2.3.6.1 Controle químico – Tratamento de sementes

Uma forma de controle das viroses de cereais de inverno transmitidos por afídeos é o controle indireto, através do tratamento de sementes com os inseticidas imidacloprido e tiametoxan, que reduz sensivelmente a incidência e o índice de doença causado pelo BYDV (COLOMBO, 2002).

2.3.6.2 Resistência e tolerância

A melhor estratégia de controle de moléstias virais à longo prazo é o melhoramento genético para a tolerância ou resistência aos vírus ou aos seus vetores (MATTHEWS, 1991).

De acordo com a terminologia para respostas de plantas a viroses proposta por Cooper e Jones em 1983, e utilizada por grande número de pesquisadores (SINGH et al, 1993; BURNETT et al., 1995; MILLER & RASOCHOVÁ, 1997; JIN et al, 1998), a resistência ocorre quando a replicação viral é reduzida na planta infectada, e a tolerância quando a planta infectada desenvolve pouco ou nenhum sintoma. No CIMMYT (*Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Trigo*) Henry & Vivar (1998) avaliaram a manifestação de sintomas e a quantidade de BYDV em 66 linhagens de cevada que apresentavam alta produtividade de grãos: muitas das linhagens testadas revelaram pouco ou nenhum sintoma no campo, mas apresentaram elevada concentração do vírus nas plantas, sugerindo que em cevada o fenômeno da tolerância a este vírus seja um mecanismo mais comum do que a resistência.

Burnett et al. (1995) revisaram o progresso obtido pelo melhoramento genético no que se refere à tolerância e resistência ao nanismo amarelo da cevada em cereais. Em 1955, Suneson identificou um gene recessivo, *ydl*, que confere um baixo nível de tolerância ao BYDV em cevada. Rasmusson & Schaller, em 1959, e Damsteegt & Bruel, em 1964, descreveram um gene dominante, denominado *Yd2*, conferindo um alto nível de tolerância. Chaloub et al. (1995) afirmaram que somente *yd2* tem sido amplamente usado em programas de melhoramento de cevada, uma vez que condiciona níveis mais elevados de tolerância. Conforme Skaria et al. (1985), a presença do gene *Yd2* também reduz a concentração do vírus quando as plantas são infectadas com as espécies MAV e PAV, mas não

quando a infecção é com RPV, o que possibilita concluir que *Yd2* proporciona resistência a algumas espécies de BYDV.

Na aveia cultivada *Avena sativa* L, Qualset (1983) afirmou que a tolerância era herdada quantitativamente. Mais tarde, Landry et al. (1984) e McKenzie et al. (1985) demonstraram que a tolerância em aveia era condicionada por de dois a quatro genes. Usando marcadores moleculares, Barbosa-Neto (1995) identificou um número de regiões cromossômicas associadas à tolerância ao vírus variando de duas a oito, conforme o ambiente onde foi conduzida a avaliação fenotípica das plantas. Boas fontes de tolerância têm sido encontradas em outras espécies de aveia, incluindo as hexaplóides *A. sterilis* L. E *A. fatua* L., e a diplóide *A. strigosa* Schreber (COMEAU, 1982; RINES et al., 1980; JEDIINSKI, 1983).

Em trigo, Tola & Kronstad (1983) afirmaram que a tolerância seria herdada quantitativamente. Singh et al. (1993) identificaram um gene parcialmente dominante, *Bdvl*, conferindo tolerância em algumas variedades. De acordo com Singh (1993), o gene *Bdvl* parece estar ligado aos genes *Lr34* e *Yr48*, que conferem resistência em planta adulta à ferrugem da folha e à ferrugem amarela listrada, respectivamente.

Espécies de *Thynopyron*, anteriormente denominado *Agropyron*, contém genes de resistência para BYDV. Estes genes têm sido introgrididos para *T.aestivum* através de cruzamentos interespecíficos, de modo a obter linhagens de trigo com alguma resistência ao vírus (BANKS et al., 1995; LARKIN et al., 1995; SHARMA et al., 1995).

O controle baseado na resistência varietal ou tolerância, nos Estados Unidos, não apresenta nenhuma resistência adaptada, relativa ao BYDV é disponível em trigo (WATKINS & LANE, 2003). A resistência varietal não é totalmente efetiva, pois o vírus ocorre na forma de diversas espécies (SILVA, 1998).

Algumas linhagens de trigo mostram tolerância a infecção com o BYDV, mas tolerância é multigênica e dificulta o uso de técnicas tradicionais de manipulação. Há algum tempo têm-se transferidos genes de resistência de interesse de outras gramíneas hospedeiras produzindo plantas geneticamente modificadas (BURNETT et. al, 1995).

2.3.7 Identificação e detecção do BYDV

A necessidade do emprego de métodos de detecção para patógenos de difícil diagnóstico é uma das prioridades da área de sanidade vegetal. Diferente de outras entidades fitopatológicas, os vírus não formam estruturas facilmente visíveis que permitem identificá-los rapidamente pelos métodos convencionais de um laboratório (ALMEIDA & LIMA 2001).

A sorologia é uma técnica que vem sendo usada com muito sucesso por ser sensível, prática e rápida, auxiliando no diagnóstico de agentes infecciosos como vírus, fungos e bactérias, métodos baseados em sorologia tem grande vantagem de serem simples, de baixo custo e de requererem laboratórios simples para seu emprego, no entanto, sempre ocorreu uma exigência por rapidez, facilidade na análise de maior número de amostras e por aumento na sensibilidade dos testes;

grandes avanços nessa área, como a adaptação do método de Elisa (Enzyme-linked immunorbent assay), foram obtidos, aumentando a sensibilidade e rapidez da diagnose de amostras de plantas, facilitando estudos de etiologia, epidemiologia (ALMEIDA & LIMA, 2001).

O Elisa baseia-se no princípio clássico da sorologia, onde o antígeno é reconhecido pelo anticorpo (IgG), formando o complexo antígeno-anticorpo, associado à propriedades colorimétricas. O teste de Elisa permite detectar e quantificar determinado antígeno em uma solução ou num extrato vegetal, além de permitir a avaliação de grande número de plantas (ALMEIDA & LIMA, 2001).

2.3.8 Proteínas

As proteínas constituem mais da metade do peso seco de uma célula. São polímeros que desempenham inúmeras funções biológicas e também determinam a forma e a estrutura da célula. Elas catalisam um extraordinário número de reações químicas, controlam a permeabilidade das membranas, regulam a concentração de metabólitos, proporcionam movimento e controlam a função gênica (ZAHA et al., 2003). Apenas as plantas, com seu alto conteúdo de celulose, tem menos do que 50% de proteínas. Todas as proteínas são polímeros de moléculas contendo nitrogênio, conhecidas como aminoácidos, ligado entre si por ligações peptídicas, vinte aminoácidos diferentes são usados pelos sistemas vivos para formar as proteínas (RAVEN et al., 2001).

Segundo Pascholati & Leite (1995) a comparação dos níveis de síntese de proteínas entre tecidos infectado e sadio revela que os

tecidos infectados apresentam aumento considerável desta atividade. A planta procura ativar todas as linhas de defesa para evitar o estabelecimento de relações parasitárias e o patógeno, por outro lado, tende a anular os efeitos inibitórios gerado pelo hospedeiro. Este aumento tende a ser ao redor do sítio de infecção, por exemplo, em “ilhas verdes”, o acúmulo de proteínas exhibe aumentos acentuados enquanto que nas áreas cloróticas observa-se declínio. Também deve-se saber que o balanço protéico é alterado no tecido infectado e, apesar do aumento generalizado, algumas proteínas sofrem uma diminuição na sua concentração.

Também Wilson (1993) observou que ataques de patógenos levam à produção de outros componentes da parede celular vegetal, como proteínas. As proteínas acumulam-se em várias dicotiledôneas, em resposta tanto a fungos quanto a bactérias e vírus, alterando a estrutura das paredes celulares para criar uma barreira física à invasão do patógeno.

Em muitos casos, os mecanismos de proteção envolvem a indução de mecanismos de defesa, tais como o acúmulo de fitoalexinas ou a construção de barreiras estruturais (YOSHIKAWA et al., 1993). Segundo esses autores, as plantas portadoras de falhas nestes mecanismos, acabam sendo suscetíveis a diversos agentes patogênicos, incluindo vírus. A indução das reações de defesa das plantas é presumivelmente mediada por um processo natural de reconhecimento inicial entre a planta e o patógeno.

Quando folhas de tabaco (*Nicotina tabacum* L.), sensíveis ao vírus do mosaico do tabaco (*Tabacco mosaic virus* – TMV), são inoculadas com o vírus, surgem lesões locais e os níveis de proteínas

aumentam (VAN LOON & VAN KAMMEN, 1970). A indução desta proteína esta associada com a resistência e a multiplicação do vírus e sua função no mecanismo de defesa ao patógeno tem sido proposta.

Em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) foram observados elevados níveis de proteínas quando as plantas foram infectadas com o vírus do mosaico da alfafa (*Alfafa mosaic virus* – AMV) (ABU-JAWDAH & KUMMERT, 1983).

Em três cultivares de batata (*Solanum tuberosum* L.), Schons (1997) observou que as plantas sadias apresentaram, de um modo geral, níveis menores de proteínas do que as infectadas com o *Potato leafroll virus* - PLRV. Este trabalho difere do trabalho de Nicolini (2002), que encontrou em plantas sadias de aveia-branca, níveis maiores de proteínas quando comparadas às infectadas pelo BYDV.

Schons et al. (1995) também encontraram redução nos níveis de proteínas solúveis em plantas de melancia (*Citrullus lanatus*) infectadas com o vírus da mancha anelar do mamoeiro, estirpe melancia (*Papaya ringspot virus* type watermelon PRSV-W).

Em tomateiro infectado com o vírus do mosaico do tabaco (*Tabacco mosaic virus* -TMV), Leal & Lastra (1984) observaram que a concentração de proteínas solúveis diminuiu após a infecção.

Schons & Dalbosco (2000) estudaram os níveis de proteínas solúveis em diferentes cultivares de trigo infectadas com o SBWMV e, observaram concentrações maiores de proteínas nas plantas sadias.

Souza et al. (2005) relataram que os teores de proteína em plantas de trigo sem sintoma do *Soil borne wheat mosaic virus* – SBWMV foram mais elevados do que em plantas que apresentavam sintomas.

2.3.9 Açúcares totais

Os carboidratos ou polissacarídeos representam uma das grandes classes de moléculas biológicas com uma variedade de funções celulares. Esses polímeros constituem-se na principal fonte de energia celular, sendo também, constituintes estruturais importantes da parede celular. Os carboidratos mais simples são moléculas pequenas, monoméricas, denominadas monossacarídeos ou, simplesmente, açúcares (ZAHA et al., 2003).

No processo fotossintético, o carbono é assimilado e convertido em açúcares. Parte desse carbono assimilado é retido nas folhas para garantir o crescimento e metabolismo desses órgãos fotossintetizantes. No entanto, a maior parte dos fotoassimilados é exportada para órgãos e tecidos não fotossintéticos, onde será metabolizado ou estocado como reserva (HOPKINS, 1995).

O equilíbrio entre a área de produção de carboidratos e consumo pode ser comprometido por um patógeno. O que é observado, em linhas gerais, é o aumento do fluxo de grandes concentrações de materiais (como carboidratos) para áreas infectadas. A saída de produtos oriundos da atividade fotossintética, no entanto, é grandemente reduzida, dificultando a exportação de nutrientes das folhas para o resto da planta. (PASCHOLATI & LEITE, 1995).

Do ponto de vista fisiológico, uma infecção viral de forma sistêmica pode diminuir a concentração de clorofila na maioria dos casos (LEAL & LASTRA, 1984). A diminuição de clorofila parece estar relacionada com a destruição dos cloroplastos em plantas infectadas com vírus (AYANDRU & SHARMA, 1982). Também tem

sido observado o decréscimo na fixação de CO₂, e conseqüentemente, da taxa fotossintética em plantas com infecção viral (LEOPARDI & PÉREZ DE ACOSTA, 1992). Por outro lado, a infecção viral pode provocar o aumento na concentração de açúcares nas folhas de plantas infectadas, possivelmente pela dificuldade de translocação dos fotoassimilados para o resto da planta (LEAL & LASTRA, 1984).

Em estudo realizado por Gonçalves et al. (2005) com o *Sugarcane yellow leaf virus* (ScYLV), que causa sintomas típicos de luteovirus em cana-de-açúcar, foi avaliado por fluorescência da clorofila e as trocas gasosas durante a fotossíntese, relacionando esses danos com análises metabólicas, ou seja, conteúdos de pigmentos fotossintéticos e carboidratos presentes na folha. As plantas apresentaram redução na eficiência da fotossíntese e redução nas taxas de troca líquida de CO₂. Adicionalmente, o conteúdo de açúcares nas folhas foi aumentando, provavelmente como efeito secundário da infecção viral.

Santos et al. (2005) também observaram alterações nos níveis de carboidratos solúveis em folhas de videira infectadas com *Grapevine virus A* (GVA), *Grapevine virus B* (GVB) e *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3). Segundo os autores, em todas as análises foi possível observar grande distinção entre as plantas sadias e infectadas, na comparação de GVA e GVB apresentaram-se semelhantes principalmente no aumento de sacarose (+ 100%). O GLRaV-3 induziu aumento no teor de frutose (+20%), glucose (+80%) e sacarose (+90%) em relação as plantas sadias. De modo geral os vírus promovem um acúmulo de carboidratos, o que sugere um bloqueio no carregamento do floema, tecido no qual estes vírus

estão praticamente restritos. Os autores salientam também que os efeitos metabólicos provocados por esses vírus se manifestam em tecidos muito jovens e podem ser mais drásticos em folhas totalmente expandidas.

Souza et al. (2005) encontraram resultados idênticos em trabalho realizado com o SBWMV em trigo, onde os teores de açúcares foram maiores em plantas de trigo com sintomas do que nas sem sintomas e, portanto ficou comprovada alteração metabólica promovida pelo SBWMV nos cinco genótipos estudados.

CAPÍTULO I

EFEITOS DA INOCULAÇÃO DO *Barley yellow dwarf virus* (BYDV-PAV), POR TRÊS ESPÉCIES DE PULGÕES, SOBRE O METABOLISMO DE CINCO CULTIVARES DE TRIGO

ARIANE CLAUDETE LANZARINI¹, JUREMA SCHONS²,
JOSÉ ROBERTO SALVADORI³

RESUMO - O *Barley yellow dwarf virus*-BYDV é o agente causal da virose mais importante dos cereais de inverno. Com o objetivo de detectar, quantificar e estudar o efeito do BYDV-PAV sobre o metabolismo das plantas e verificar a eficiência na transmissão do vírus por três espécies de pulgões (*Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae* e *Schizaphis graminum*) em cinco cultivares de trigo (BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS Camboatá e BRS Angico), conduziu-se um experimento em telado junto à Embrapa-Trigo Passo Fundo/RS. As plantas de trigo foram infestadas com pulgões previamente infectados com BYDV-PAV. Realizou-se o teste de Elisa na folha bandeira e no colmo para determinar a espécie do vírus presente e quantificou-se o vírus nessas diferentes partes da planta. Determinou-

¹ Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade Passo Fundo (UPF).

² Orientadora, Bióloga, Doutora em Ciências Biológicas, professora do PPGAgro da FAMV e ICB/UPF.

³ Co-orientador, Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, professor de PPGAgro e pesquisador da Embrapa-Trigo.

se o teor de proteínas solúveis, o nível de açúcares totais e a concentração de clorofila para analisar o efeito do vírus sobre o metabolismo dos cinco cultivares. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias ao teste de Tukey a 5%. A espécie BYDV-PAV foi confirmada nas plantas infestadas pelas três espécies de pulgões, os resultados observados na folha bandeira de trigo demonstraram que não houve diferença significativa na concentração viral entre os cultivares e entre os vetores, os testes no colmo evidenciaram diferenças, sendo que o vetor mais eficiente foi o *R. padi*, enquanto que *S. avenae* e *S. graminum* não diferiram estatisticamente entre si. O teor de proteínas foi maior nas plantas saudáveis em todos os cultivares enquanto que o nível de açúcares totais foi maior nas plantas infectadas. Houve redução na concentração de clorofila nas plantas de trigo infectadas com o BYDV-PAV em todos os cultivares, independente do vetor.

Palavras-chave: *Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae* e *Schizaphis graminum*, proteínas, açúcares, clorofila.

**EFFECT OF INOCULATED WITH Barley yellow dwarf virus
(BYDV-PAV), FOR THREE SPECIES OF APHIDS
ON THE METABOLISM OF FIVE CULTIVARS OF WHEAT
INOCULATED**

**ARIANE CLAUDETE LANZARINI¹, JUREMA SCHONS²,
JOSÉ ROBERTO SALVADORI³**

ABSTRACT - The *Barley yellow dwarf virus* is the causal agent of the more important virose of the winter cereals. With the objective to detect and to quantify, to study the effect of the BYDV-PAV in the metabolism and to verify the efficiency of the virus transmission of three species of aphids (*Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae* and *Schizaphis graminum*) in five cultivars of wheat (BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS Camboatá e BRS Angico), conducted an experiment in green house together to Embrapa-Trigo Passo Fundo. The wheat plants had been infested with aphids previously infected with BYDV-PAV. The ELISA test was become in flag leaf and stem to determine the species of the present virus in the experiment and was quantified the virus in these different parts of the plant. The soluble protein drift had been determined, the level of you sugar totals and the

¹ Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade Passo Fundo (UPF).

² Orientadora, Bióloga, Doutora em Ciências Biológicas, professora do PPGAgro da FAMV e ICB/UPF.

³ Co-orientador, Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, professor de PPGAgro e pesquisador da Embrapa-Trigo.

concentration of chlorophyll to analyzed the effect of the virus on the metabolism of the five wheat cultivars. The data had been submitted to the analysis of variance and the averages to the test of Tuckey 5%. The BYDV-PAV species was confirmed in the plants infected for the three species of aphids, the results observed in the flag leaf had demonstrated that it did not have significant difference in the viral concentration between cultivars and the vectors, the tests in stem had evidenced differences, being that the vector most efficient was the *R. padi*, while that *S. avenae* and *S. graminum* had not differed estatically. The protein texts had been bigger in the healthy plants, already the texts of you sugar totals had been bigger in the infectated plants. It had reduction in texts of sugar totals had been bigger in the infectated plants. It had reduction in texts of chlorophyll in the infectated plants of wheat with BYDV-PAV in all cultivars, independent the vector.

Key-words: *Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae* and *Schizaphis graminum*, protein, sugar, chlorophyll.

1 INTRODUÇÃO

Entre as doenças consideradas de grande importância para a cultura do trigo está a virose do nanismo amarelo da cevada causada pelo *Barley yellow dwarf virus* (BYDV).

O BYDV infecta uma extensa gama de membros da família Poaceae, a qual é a única família de plantas suscetíveis ao ataque do vírus. Aproximadamente 100 espécies anuais e perenes são hospedeiras do vírus no mundo todo, fato este que contribui para perpetuar a enfermidade na natureza (BURNETT et al., 1995).

Schons¹ relata que no Brasil com a perpetuação da aveia no campo, mesmo durante o verão, como cobertura de solo ou pastagem, a fonte de inóculo do BYDV fica disponível o ano todo. Como o plantio preferencial com este propósito é aveia preta (*Avena strigosa* L.), que é altamente suscetível ao vírus a incidência do mesmo tem aumentado nos últimos anos.

É transmitido por formas jovens e adultas dos afídeos vetores, sendo considerado um vírus persistente nos mesmos. Nem todas as espécies de pulgões são igualmente eficientes na transmissão do BYDV (BURNETT, 1983).

Os principais afídeos vetores do BYDV são *Rhopalosiphum padi* (L.), *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Sitobion avenae* (Fabricius), *Schizaphis graminum* (Rondani) e *Metopolophium dirhodum* (Walker) (BURNETT et al., 1987).

¹ SCHONS, J. (PPGAgro/FAMV e ICB/UPF – Passo Fundo – RS)

As interações entre vírus-vetor e vetor-planta são extremamente complexas, inúmeros trabalhos comprovam que cada planta, cada vetor, cada vírus e cada condição do ambiente determinam uma situação particular. É muito difícil isolar um fator sem considerar os demais. Por exemplo, várias espécies de pulgões transmitem o vírus do nanismo amarelo da cevada e poucos pulgões são necessários para que o cultivo seja rapidamente causando amarelecimento das plantas, as quais tornam-se mais atrativas para os pulgões, acentuando ainda mais o efeito do patógeno e provocando a destruição das plantas (COURNET, 1992).

O BYDV, algumas vezes tem o seu diagnóstico dificultado, tendo em vista que os sintomas da doença podem ser confundidos com deficiência nutricional, como de nitrogênio e de fósforo ou com distúrbios fisiológicos, como estresse hídrico devido a encharcamento do solo. Em todas as culturas afetadas ocorre descoloração foliar que se inicia no ápice e se estende para a base da folha (WATKINS & LANE, 2003). Em lavouras de trigo infectadas, as espigas permanecem eretas e podem se tornar pretas ou descoloridas durante o amadurecimento devido à presença de fungos patogênicos (BURNETT, 1983).

As perdas são diretamente proporcionais ao número de plantas infectadas e a intensidade dos sintomas. Quanto mais cedo ocorrer a infecção, maiores serão as perdas, que variam de ano para ano, em função da suscetibilidade do hospedeiro e das áreas de risco, podendo ser mínimas ou totais (SILVA, 1998).

Os principais distúrbios causados pelo vírus na célula do hospedeiro podem ser atribuídos à indução de síntese de novas

proteínas, podendo algumas ser enzimas, toxinas ou hormônios. Essas substâncias podem interferir no metabolismo normal da planta (AGRIOS, 1997).

Segundo Pascholati & Leite (1995) a comparação dos níveis de síntese de proteínas entre tecidos infectado e sadio revela que os tecidos infectados sofrem aumento considerável desta atividade. A planta procura ativar todas as linhas de defesa para evitar o estabelecimento de relações parasitárias e o patógeno, por outro lado, tende a anular os efeitos inibitórios gerado pelo hospedeiro.

Do ponto de vista fisiológico, uma infecção viral de forma sistêmica pode diminuir a concentração de clorofila na maioria dos casos (LEAL & LASTRA, 1984). A diminuição de clorofila parece estar relacionada com a destruição dos cloroplastos em plantas infectadas com vírus (AYANDRU & SHARMA, 1982). Por outro lado, a infecção viral pode provocar o aumento na concentração de açúcares nas folhas de plantas infectadas, possivelmente pela dificuldade de translocação dos fotoassimilados para o resto da planta (LEAL & LASTRA, 1984).

O objetivo do presente trabalho foi de detectar, quantificar e estudar o efeito do BYDV-PAV sobre o metabolismo das plantas e verificar a eficiência na transmissão do vírus por três espécies de pulgões (*R. padi*, *S. avenae* e *S. graminum*) em cinco cultivares de trigo (BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS Camboatá e BRS Angico).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de execução

O experimento foi conduzido em telado na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, no ano de 2004, as análises foram realizadas no laboratório de virologia vegetal da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo.

2.2 Material vegetal e semeadura

Foram utilizadas plantas de trigo dos cultivares: BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS Camboatá e BRS Angico. A escolha dos cultivares foi em função de que todos são indicados pela Comissão Sul-Brasileira de Pesquisa de trigo e que são cultivares preferenciais para o plantio na região sul do Brasil.

Na semeadura foram distribuídas 60 sementes por linha e a adubação foi efetuada com 250 kg/ha da fórmula NPK 5:25:25. A adubação de cobertura foi realizada 30 dias após a emergência e constou de 40 Kg/ha de N, na forma de uréia.

Os tratamentos fitossanitários foram realizados de acordo com o recomendado para a cultura.

2.3 Tratamentos

Para a inoculação do BYDV foram criadas separadamente colônias de pulgões das espécies *Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae* e *Schizaphis graminum*. As colônias foram multiplicadas em

plantas de trigo sadias e posteriormente transferidas para plantas de aveia com sintomas de BYDV para aquisição do vírus por dez dias.

As plantas fonte de inóculo, bem como os pulgões, após período de aquisição de dez dias foram testados por ELISA para todas as espécies do BYDV e constatou-se a presença de infecção mista com BYDV-PAV e MAV.

Após a aquisição do vírus, foram transferidos 10 pulgões por planta para cada sub-parcela que foi isolada dos demais por gaiolas entomológicas de maneira a não haver a migração dos pulgões de uma sub-parcela para a outra. Cada sub-parcela recebeu uma espécie de pulgão e uma sub-parcela permaneceu sem pulgões também separado por gaiola, como controle sadio.

Os pulgões foram transferidos para as plântulas, 12 dias após a emergência das mesmas e permaneceram por 10 dias, a fim de transmitir o vírus. Após este período, os pulgões foram eliminados através da aplicação do inseticida monocrotofós. As gaiolas foram removidas 24 horas após a aplicação do inseticida.

Aos 50 dias após a inoculação, quando as plantas apresentavam sintomas evidentes do BYDV, cinco plantas por repetição de cada sub-parcela foram coletadas e procedeu-se a realização do teste de Elisa para BYDV-PAV e MAV na folha bandeira e no colmo e foram realizados os demais testes bioquímicos.

2.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com três repetições. Cada bloco era uma repetição constituiu-se de 5 linhas de 0,90 m de comprimento com espaçamento de 0,2 m entre linhas

sendo que cada linha continha um cultivar constituía um parcela, que foi subdividida em quatro subparcelas (3 inoculados com os diferentes pulgões e uma subparcela como controle sadio).

2.5 Determinações

2.5.1 Concentração relativa do BYDV - Teste sorológico de Elisa

O teste sorológico de Elisa para BYDV-PAV e MAV foi realizado na folha bandeira e colmo das plantas de trigo através do método descrito por Clark & Adams (1977). Para execução do teste de Das-Elisa (Elisa-direto) foram utilizados reagentes adquiridos da firma AGDIA Inc., incluindo microplacas de poliestireno fundo chato com 96 cavidades cada.

O teste de ELISA foi utilizado para confirmar a eficiência de inoculação do BYDV-PAV e MAV, pelas diferentes espécies de afídeos vetores.

2.5.2 Determinação do teor de clorofila

Para determinação de clorofila, foi realizada uma adaptação do método descrito por Teles et al. (1977). Pesou-se 100 mg de tecido foliar (após a remoção das nervuras principais), macerou-se com 0,020 g de $MgCO_3$, e em seguida adicionou-se 10 mL de acetona 80%. A solução foi centrifugada a 1200 g^{-1} por 30 minutos; os tubos foram mantidos tampados com papel alumínio.

Para a leitura foi utilizado o sobrenadante, o qual foi lido em espectrofotômetro a 650 e 663 nm.

2.5.3 Determinação de teor de proteínas solúveis

O teor de proteínas solúveis foi determinado no extrato enzimático obtido através da homogeneização de 200 mg do tecido vegetal em 2 mL de tampão PO_4 0,2 M pH 6,7 (gelado), seguido de centrifugação por 10 min a 5600 g a 4 °C, seguindo o método de Bradford (1976).

O meio de reação continha 0,1 mL de extrato, 5,0 mL do reativo de Bradford, seguido de repouso por 5 minutos. As leituras (Abs) foram efetuadas em espectrofotômetro a 595 nm, as quais foram comparadas com a curva padrão de caseína.

2.5.4 Determinação do nível de açúcares totais

O açúcar total foi determinado por uma adaptação feita por Schons (1997) do método descrito por Dubois et al. (1956). O extrato foi o mesmo descrito para proteínas solúveis.

O meio de reação continha 0,1 mL do extrato vegetal, 0,9 mL do tampão fosfato, 0,5 mL de fenol a 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Após repouso por 20 minutos, procedeu-se à leitura (Abs) em espectrofotômetro a 490 nm, sendo que os resultados foram comparados à curva padrão de glicose.

2.6 Análise estatística

Utilizou-se delineamento estatístico de blocos casualizados com cinco tratamentos e três repetições por tratamento. A análise de variância foi feita, prosseguindo-se com análise de médias utilizando o modelo Tukey.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao iniciar o trabalho, conforme consta na metodologia, foram testados por Elisa os pulgões para todas as espécies de BYDV. Houve reação sorológica positiva para BYDV-PAV e MAV nas três espécies de pulgões e nas plantas fontes de inóculo, em cinco repetições para cada pulgão e planta. O trabalho foi conduzido na expectativa de que haveria uma infecção mista por BYDV-PAV e MAV. Entretanto, ao realizar o teste de Elisa na folha bandeira e colmo das plantas previamente expostas aos pulgões virulíferos, constatou-se que, o BYDV- MAV não havia sido transmitido por nenhuma espécie de pulgão em estudo para nenhum dos cultivares utilizados no experimento.

Desta forma, o presente trabalho apresenta resultados referentes aos cinco cultivares de trigo (BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS Camboatá e BRS Angico) infectados com BYDV-PAV por três espécies de pulgões já citados.

Na Tabela 1 estão apresentados os dados referentes ao teste de Elisa para BYDV-PAV, comparando a eficiência de transmissão do vírus por cada uma das espécies de vetores nos cinco cultivares em estudo acompanhados do respectivo controle sadio.

Tabela 1 - Teste de Elisa para BYDV-PAV (valor Abs a 405 nm) na folha bandeira do trigo infectadas através de pulgões das espécies *Rhopalosiphum padi* (R.p.), *Schizaphis graminum* (S.g.) e *Sitobion avenae* (S.a.) comparados ao controle sadio

Cultivares	Vetores/Elisa abs 405 nm			Médias	Controle
	R.p.	S.g.	S. a.		
BRS 179	0,53	0,49	0,50	0,50	0,26
BRS194	0,70	0,86	0,73	0,76	0,32
BRS Angico	0,53	0,78	0,66	0,65	0,26
BRS 177	0,61	0,40	0,45	0,48	0,19
BRS Camboatá	0,68	0,45	0,30	0,47	0,13
Médias	A 0,61	A 0,59	A 0,53	A 0,57	B 0,23

C.V. cultivares= 70,64%

C.V. pulgões= 38,63%

Médias precedidas de mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Os resultados observados referentes ao teste de Elisa para BYDV-PAV na folha bandeira de trigo demonstram que não houve diferença significativa na concentração viral entre os cultivares e entre os vetores. Evidenciando que houve a transmissão de forma idêntica pelas três espécies vetores do vírus, tendo em vista que todos diferem significativamente do controle sadio.

Dessa forma, os resultados não permitem inferir resistência ou tolerância ao vírus para nenhum dos cinco cultivares em estudo, no que se refere à concentração viral, bem como não é possível inferir maior ou menor eficiência na transmissão do vírus a nenhuma das espécies vetoradas testadas.

Entretanto, ao analisar os dados apresentados na Tabela 2, referente a infecção pelo BYDV-PAV no colmo das plantas de trigo observa-se diferença significativa na concentração viral em função do vetor, não havendo diferença significativa entre os cultivares.

No colmo, a maior concentração viral está nas plantas inoculadas pelo *R. padi* diferindo das plantas inoculadas por *S. avenae*.

S. graminum apresentou valores intermediários entre os outros dois, não diferindo estatisticamente de ambos. A reação foi positiva para todos os vetores o que comprova pela diferença significativa observada em relação ao controle sadio (que foi negativo para o vírus).

De acordo com Gallo et al. (2002), o *R. padi* e *S. graminum* são pulgões que se encontram preferencialmente no colmo e folha bandeira, já o *S. avenae* é mais facilmente encontrado nas folhas, isso justifica os resultados encontrados no presente trabalho.

Tabela 2 - Teste de Elisa para BYDV-PAV (valor da Abs a 405 nm) no colmo do trigo infectado através de pulgões da espécie *Rhopalosiphum padi* (R.p.), *Schizaphis graminum* (S.g.), *Sitobion avenae* (S.a.) comparado ao controle sadio

Cultivares	Vetores /Elisa abs 405 nm			Médias	Controle
	R.p.	S.g.	S. a.		
BRS 179	0,61	0,80	0,53	0,64	0,10
BRS194	0,53	0,40	0,37	0,43	0,09
BRS Angico	0,65	0,60	0,49	0,58	0,18
BRS 177	0,62	0,44	0,41	0,49	0,19
BRS Camboatá	0,55	0,55	0,36	0,48	0,10
Médias	A 0,59	AB 0,47	B 0,43	A 0,49	C 0,13

C.V. cultivares= 36,31%

C.V. pulgões= 31,82%

Médias precedidas de mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Diferenças significativas no teor de proteínas foram observadas quando se comparou a planta infectada por BYDV-PAV com o controle sadio (Tabela 3). Ao analisar a interação vírus x vetor observa-se que as plantas de trigo infectadas com o BYDV-PAV por *R. padi* tiveram o metabolismo mais afetado no que se refere a maior redução do teor de proteínas solúveis (Tabela 3), fato este também observado quanto ao nível de açúcares (Tabela 4) e o teor de clorofila (Tabela 5). Os resultados demonstram que a virose reduziu o teor de proteínas em todos os cultivares. Esses dados corroboram com os apresentados por Nicolini (2002), que encontrou em plantas de aveia sadias, teores maiores de proteínas quando comparadas às infectadas pelo BYDV.

Tabela 3 - Teor de proteína (mg de proteína/g de matéria fresca (MF)) em folhas de trigo infectadas com BYDV-PAV pelos pulgões *Rhopalosiphum padi* (R.p.), *Schizaphis graminum* (S.g.) e *Sitobion avenae* (S.a.) e controle sadio

Cultivares	Vetores/mg de ptn/g MF			Médias	Controle
	R.p.	S.g.	S. a.		
BRS 179	9,30	11,96	10,96	10,74	13,90
BRS194	9,36	9,90	11,90	10,38	15,40
BRS Angico	10,13	11,86	10,26	10,75	12,96
BRS 177	9,13	10,73	11,66	10,50	15,46
BRS Camboatá	9,73	9,73	11,63	10,36	13,66
Médias	C 9,53	B 10,84	B 11,22	B 10,47	A 14,28

C.V. cultivares= 10,76%

C.V. pulgões= 10,70%

Médias precedidas de mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Schons & Dalbosco (2000) determinaram os teores de proteínas solúveis em diferentes cultivares de trigo infectados com o *Soil-borne wheat mosaic virus* (SBWMV) e, observaram concentrações maiores de proteínas nas plantas sadias. Da mesma forma Schons et al. (1995) encontraram maior nível de proteínas solúveis em plantas de melancia (*Citrullus lanatus*) sadias quando comparadas com as plantas infectadas com o vírus da mancha anelar do mamoeiro, estirpe melancia (*Papaya ringspot virus type watermelon PRSV-W*). Van Loon & Van Kammen (1970) observaram o mesmo efeito em folhas de tabaco (*Nicotina tabacum* L.), sensíveis ao vírus do mosaico do tabaco (*Tabacco mosaic virus – TMV*), nas plantas inoculadas com o vírus, surgiram lesões locais e os níveis de

proteínas aumentaram. Em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) também foi observado elevado teor de proteínas quando as plantas foram infectadas com o vírus do mosaico da alfafa (ABU-JAWDAH & KUMMERT, 1983).

No nível de açúcares totais foi observada diferença significativa quando comparadas plantas infectadas com BYDV-PAV e plantas sadias (Tabela 4). Nível de açúcares mais elevados foram observados em plantas infectadas com BYDV-PAV por pulgões *R. padi* e *S. graminum*, vetores do BYDV, já plantas inoculadas por *S. avenae* não apresentaram diferenças nos teores de açúcares quando comparadas às plantas sadias.

Ao analisar a Tabela 1 é possível entender que embora estatisticamente a concentração de BYDV-PAV na folha bandeira não tenha diferido em função do vetor, biologicamente percebe-se que o menor valor de Elisa (Abs 405 nm) foi observado nas plantas inoculadas através de *S. avenae*. Sugerindo que a menor concentração viral interfere menos na translocação de fotoassimilados. Estes dados demonstram que os açúcares, de modo geral, aumentam sua concentração nas plantas infectadas por BYDV-PAV variando conforme a concentração do vírus.

Tabela 4 - Nível de açúcares totais (mg de glicose/g de matéria fresca (MF)) em folhas de trigo infectadas com BYDV-PAV pelos pulgões *Rhopalosiphum padi* (R.p.), *Schizaphis graminum* (S.g.) e *Sitobion avenae* (S.a.) e controle sadio

Cultivares	Vetores/glicose/g MF			Médias	Controle
	R.p.	S.g.	S. a.		
BRS 179	17,44	16,37	13,22	15,67	14,80
BRS194	7,35	8,43	7,17	7,65	5,96
BRS Angico	13,03	14,55	11,35	12,97	8,03
BRS 177	8,42	7,02	8,04	7,82	6,31
BRS Camboatá	12,81	8,98	9,26	10,35	9,86
Médias	A 11,81	AB 11,07	BC 9,81	A 10,89	C 8,99

C.V. cultivares= 25,29%

C.V. pulgões= 17,96%

Médias precedidas de mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Resultados semelhantes foram observados por Gonçalves et al. (2005) em trabalho com o *Sugarcane yellow leaf virus* (ScYLV), que causa sintomas típicos de luteovirus em cana-de-açúcar, o conteúdo de açúcares nas folhas foi aumentando, provavelmente como um efeito secundário da infecção viral. Santos et al. (2005) também observou alterações em nível de carboidratos solúveis em folhas de videira infectadas com *Grapevine virus A* (GVA), *Grapevine virus B* (GVB) e *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3). De modo geral os vírus promovem um acúmulo de carboidratos, o que sugere um bloqueio no carregamento do floema, tecido no qual estes vírus estão praticamente restritos. Salienta-se também que os efeitos metabólicos provocados por esses vírus se manifestam em tecidos muito jovens e podem ser mais drásticos em folhas totalmente expandidas. Souza

(2005) encontrou os mesmos resultados com o SBWMV em trigo, as plantas sem sintomas da doença apresentaram maiores teores de açúcares.

A infecção viral pode provocar o aumento na concentração de açúcares nas folhas de plantas infectadas, possivelmente pela dificuldade de translocação dos fotoassimilados para o resto da planta.

O teor de clorofila apresentou diferenças significativas quando comparados às plantas saudáveis com as infectadas (Tabela 5). Todos os cultivares apresentaram diminuição na clorofila quando infectadas com BYDV-PAV através dos pulgões, sendo que quando *R. padi* foi utilizado como vetor do BYDV-PAV o teor de clorofila foi significativamente inferior ao *S. avenae*, sendo que *S. graminum* apresentou valores intermediários entre *R. padi* e *S. avenae*.

Estes dados reforçam o observado na Tabela 2, evidenciando a maior eficiência na transmissão do BYDV-PAV por *R. padi* quando comparado aos demais vetores testados, causando maiores danos às plantas, tendo em vista que a redução no teor de clorofila interfere na assimilação e translocação de fotoassimilados para os órgãos de reserva.

Tabela 5 - Teor de clorofila (μg de clorofila/mL) em folhas de trigo infectadas com BYDV-PAV pelos pulgões *Rhopalosiphum padi* (*R.p.*), *Schizaphis graminum* (*S.g.*), *Sitobion avenae* (*S.a.*) e controle sadio

Cultivares	Vetores (μg de clorofila/mL)			Médias	Controle
	<i>R.p.</i>	<i>S.g.</i>	<i>S. a.</i>		
BRS 179	1,68	2,16	1,97	1,93	4,19
BRS194	2,28	2,85	2,58	2,57	4,23
BRS Angico	1,83	2,09	2,70	2,21	3,32
BRS 177	2,24	2,48	2,64	2,45	3,98
BRS Camboatá	2,51	2,54	3,07	2,70	3,66
Médias	C 2,11	BC 2,42	B 2,58	B 2,73	A 3,881

C. V. cultivares= 12,39%

C. V. pulgões= 13,88%

Médias precedidas de mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Conforme Leal & Lastra, (1984) do ponto de vista fisiológico, uma infecção viral de forma sistêmica pode diminuir a concentração de clorofila na maioria dos casos, o que foi confirmado no presente estudo. Também Ayandru & Sharma, (1982) reiteram que a diminuição de clorofila parece estar relacionada com a destruição dos cloroplastos em plantas infectadas com vírus, o que ficou evidenciado no presente trabalho, tendo em vista o amarelecimento das folhas das plantas de trigo. Dados também encontrados por Gonçalves et al. (2005) em estudo com o *Sugarcane yellow leaf virus* (ScYLV) em cana-de-açúcar, as plantas apresentaram redução na eficiência da fotossíntese, redução nas taxas de troca líquida de CO_2 e diminuição de clorofila. Portanto a infecção viral pode provocar o aumento na

concentração de açúcares resultado este também observado no presente estudo (Tabela 4) nas folhas de plantas infectadas, possivelmente pela dificuldade de translocação dos fotoassimilados para o resto da planta, por isso causando diminuição na clorofila.

4 CONCLUSÕES:

Nas condições em que a pesquisa foi desenvolvida, os resultados obtidos permitem concluir que:

- a) *Rhopalosiphum padi*, *Schizaphis graminum*, *Sitobion avenae*, mostraram-se eficientes na transmissão do BYDV-PAV, quando o teste de Elisa foi realizado na folha bandeira, *R. padi* foi o mais eficiente na transmissão do BYDV-PAV quando o teste de Elisa foi realizado no colmo;
- b) Os pulgões transmitiram BYDV-PAV para os cultivares de trigo: BRS 179, BRS 177, BRS 194, BRS Angico e BRS Camboatá;
- c) O BYDV-PAV causa alterações no metabolismo das plantas de trigo, diminuindo o teor de proteínas solúveis, aumentando o nível de açúcares totais e reduzindo a concentração de clorofila.

CAPÍTULO II

RESPOSTA DE CINCO CULTIVARES DE TRIGO À INFECÇÃO COM *Barley yellow dwarf virus* -PAV

ARIANE CLAUDETE LANZARINI¹, JUREMA SCHONS²,
JOSÉ ROBERTO SALVADORI³

RESUMO – O vírus do nanismo amarelo da cevada (*Barley yellow dwarf virus* - BYDV) causa anualmente prejuízos consideráveis em seus hospedeiros, principalmente em trigo, cevada e aveia em todos os países produtores desses cereais. Com o objetivo de avaliar os danos promovidos pelo BYDV-PAV em cinco cultivares de trigo (BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS Camboatá e BRS Angico), foi conduzido um experimento no telado da Embrapa-Trigo (Passo Fundo/RS). Os danos promovidos pelo BYDV-PAV foram determinados através da análise das características agronômicas (estatura das plantas e peso de matéria seca) e da produtividade por seus componentes (número de plantas, número de afilhos, espigas e grãos por planta; peso de mil grãos). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias ao teste de Tukey a 5%. Danos significativos em função da infecção viral foram observados em todas as variáveis testadas, tanto para características agronômicas como para componentes da produtividade.

¹ Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade Passo Fundo (UPF).

² Orientadora, Bióloga, Doutora em Ciências Biológicas, professora do PPGAgro da FAMV e ICB/UPF.

³ Co-orientador, Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, professor de PPGAgro e pesquisador da Embrapa-Trigo.

Quanto às características agronômicas, a mais afetada foi o peso de matéria seca, que variou de 26,49% no cultivar BRS 177 a 52,67% no cultivar BRS 179. Já para estatura de plantas foram observadas reduções de 12,56% no cultivar BRS 177 a 15,51% no cultivar BRS Camboatá. Quanto aos componentes de produtividade, a produtividade total de grãos foi o mais afetado pela infecção viral, danos significativos foram observados em todos os cultivares, cuja redução variou de 34,17% no cultivar BRS Camboatá a 60,81% no cultivar BRS 179. No número médio de afilhos por planta, apenas os cultivares BRS Angico e BRS 179 apresentaram reduções de 17,80% e 24,34% respectivamente. A redução do número médio de grãos variou de 26,12% no cultivar BRS Camboatá a 54,29% no cultivar BRS 179. Também ocorreu diminuição no peso de mil grãos com redução que variou de 16,88% no cultivar BRS Camboatá a 38,44% no cultivar BRS 194.

Palavras-chave: BYDV-PAV, pulgões, danos.

**REPLY OF FIVE CULTIVARS OF WHEAT TO THE
INFECTION WITH THE *Barley yellow dwarf virus* - PAV**

**ARIANE CLAUDETE LANZARINI¹, JUREMA SCHONS²,
JOSÉ ROBERTO SALVADORI³**

ABSTRACT – The Barley yellow dwarf virus (BYDV) cause annually considerable damages in its hosts, mainly in wheat, barley and oats in all the producing countries of these cereals. With the objective to evaluate the damages promoted for the BYDV-PAV in five cultivars of wheat (BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS Camboatá and BRS Angico), was lead an experiment in the green house one of Embrapa-Trigo (Passo Fundo/RS). The damages promoted for the BYDV-PAV had been determined through the analysis of the agronomics characteristics (height of the plants and weight of dry material) and of the components of the income (number of plants, number of tillers, ear and grains for plant; weight of a thousand grains and total income of grains (kg/ha)). The data had been submitted to the analysis of variance and the averages to the test of Tuckey 5%. Significant damages in function of the illness had been observed in all tested variable, as much for agronomics characteristics as for components of the income. For the agronomics characteristics, the

¹ Bióloga, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade Passo Fundo (UPF).

² Orientadora, Bióloga, Doutora em Ciências Biológicas, professora do PPGAgro da FAMV e ICB/UPF.

³ Co-orientador, Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, professor de PPGAgro e pesquisador da Embrapa-Trigo.

most affected it was the weight of dry material, that varied of 26.49% in cultivars BRS 177 to 52,67% in cultivars BRS 179. Already for height of plants reductions of had been observed of 12.56% in cultivars BRS 177 to 15,51% in cultivars BRS Camboatá. For the income components, the total income of grains was affected by the viral infection, significant damages had been observed in all the cultivars, whose reduction varied of 34.17% in cultivars BRS camboatá 60,81% to cultivars BRS 179. In the average number of tillers for plant, only the cultivars them BRS Angico and BRS 179 had presented reduction, being 17.80% and 24.34% respectively. Percentile variations in the reduction of the average number of grains had varied of 26.12% in cultivars BRS Camboatá 54,29% to cultivars BRS 179. Reduction in the weight of a thousand grains with reduction that varied of 16,88% by38,44% in BRS Camboatá aand BRS 194 cultivars respectively.

Key words: BYDV-PAV, aphides, damage.

1 INTRODUÇÃO

O trigo cultivado está sujeito a diversas doenças, entre as quais se destacam, por sua importância econômica, a ferrugem da folha, a ferrugem do colmo, manchas foliares e a virose do nanismo amarelo da cevada, causada pelo *Barley yellow dwarf virus* -BYDV (MATZENBACHER, 1999).

O BYDV é a enfermidade viral mais disseminada em cereais de inverno em todo o mundo. Ocorre em toda a América do Norte, na Europa, na Ásia, na América do Sul, na Austrália e na Nova Zelândia, podendo ser transmitido por 23 espécies de afídeos e infectar aproximadamente 100 espécies de gramíneas anuais e perenes, incluindo cevada, milho, aveia, arroz e trigo. Sua intensidade tem variado de pequena a severa, dependendo da região e das condições climáticas do ano do cultivo (NICOLINI, 2002; WATKINS & LANE, 2003).

O BYDV não é transmitido pela semente, pelo solo ou por meios mecânicos. Sua disseminação ocorre unicamente por meio de pulgões. Muitas espécies da Família Aphididae podem transmitir o BYDV, *Rhopalosiphum padi* (L.), *Sitobion avenae* (Fabricius), *Schizaphis graminum* (Rondani) *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Metopolophium dirhodum* (Walker) (PEDERSEN et al., 2003, BURNETT, 1987).

Epidemias do BYDV são irregulares no tempo e espaço, sendo que o vírus pode ocorrer em um dado ano em uma área e não ocorrer em uma área imediatamente adjacente, e pode, subsequentemente não ocorrer por vários anos. Os danos, entretanto, podem ser severos em

algumas regiões que são afetadas todos os anos. De acordo com relatos anteriores, a infecção natural em aveia pode causar danos que variam de 3 a 52% (SCHONS et al., 1999). Em trigo danos de até 63% foram observados no ano de 1999 (SCHONS et al., 2000).

Em cevada, os danos na produtividade de grãos podem atingir 90% (PLUMB, 1981) em plantas infectadas durante os estádios iniciais de crescimento, EC 10-12 (ZADOKS et al., 1974). No Brasil, Medeiros (1996), trabalhando com aveia branca, quantificou uma redução no peso de grãos por panícula de até 39%, com dano médio de 16,6%.

No caso do BYDV, os danos em plantas infectadas estão relacionados principalmente com o nanismo da planta, o tamanho das espigas, o número e o peso dos grãos. As alterações no crescimento e nos teores de clorofila refletem-se em mudanças na anatomia, na citologia e, na fisiologia de plantas infectadas pelo BYDV (JENSEN & D'ARCY, 1995).

O objetivo do presente trabalho foi de avaliar os danos promovidos pelo BYDV-PAV em cinco cultivares de trigo (BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS Camboatá e BRS Angico).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de execução

O experimento foi conduzido em telado na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, no ano de 2004, e as análises foram realizadas no laboratório de virologia vegetal da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da

Universidade de Passo Fundo e no laboratório de entomologia agrícola da Embrapa – Trigo.

2.2 Material vegetal e sementeira

Foram utilizadas plantas de trigo dos cultivares: BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS Camboatá e BRS Angico. A escolha dos cultivares foi em função de que todos são indicados pela Comissão Sul-Brasileira de Pesquisa de trigo e que são cultivares preferenciais para o plantio na região sul do Brasil.

Na sementeira foram distribuídas 60 sementes por linha e a adubação foi efetuada com 250 kg/ha da fórmula NPK 5:25:25. A adubação de cobertura foi realizada 30 dias após a emergência e constou de 40 Kg/ha de N, na forma de uréia.

Os tratamentos fitossanitários foram realizados de acordo com o recomendado para a cultura.

2.3 Tratamentos

Para a inoculação do BYDV foram criadas colônias de pulgões das espécies *R. padi*, *S. avenae* e *S. graminum*. As colônias foram multiplicadas em plantas de trigo saudáveis e posteriormente transferidas para plantas de aveia infectadas com BYDV para aquisição do vírus.

As plantas, bem como os pulgões após período de aquisição foram testadas por ELISA para todas as espécies do BYDV.

Após a aquisição do vírus foram transferidos 10 pulgões por planta, sendo na proporção de 1/3 de cada espécie para a sub-parcela que foi isolada por gaiola entomológica de maneira a não haver a possibilidade de migração dos pulgões de uma sub-parcela para a

outra. Uma sub-parcela recebeu pulgões e uma sub-parcela permaneceu sem pulgões como controle sadio.

Os pulgões foram transferidos para as plântulas 12 dias após a emergência das mesmas onde permaneceram por 10 dias, a fim de transmitir o vírus. Após este período os pulgões foram eliminados através da aplicação do inseticida monocrotofós. As gaiolas foram removidas 24 horas após a aplicação do inseticida.

Aos 50 dias após a inoculação, folhas com sintomas evidentes do BYDV foram coletados de cada cultivar e de cada sub-parcela para proceder-se a realização do teste de Elisa para BYDV-PAV e MAV.

No final do ciclo da cultura, 50 plantas por sub-parcela foram coletadas e determinou-se os danos causados pelo BYDV-PAV sobre as características agrônômicas (estatura das plantas e peso de matéria seca (parte aérea + raiz)) e da produtividade por seus componentes (número de plantas, número de afilhos e número de espigas; número de grãos por planta e peso de mil grãos).

2.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com seis repetições. Cada repetição constituiu-se de cinco linhas (5 cultivares) de 0,90 m de comprimento com espaçamento de 0,2 m entre linhas sendo que cada cultivar constituía um parcela, que foi subdividida em duas subparcelas sendo uma inoculada com os pulgões misturados de três espécies (*R. padi*, *S. avenae*, *S. graminum*) e uma subparcela isenta de pulgões, como controle sadio.

Cada subparcela era constituída de 50 plantas, que representavam uma repetição.

2.5 Análise dos dados

Utilizou-se delineamento estatístico de blocos casualizados com cinco tratamentos e três repetições por tratamento. A análise de variância foi feita, prosseguindo-se com análise de médias utilizando o modelo Tukey.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao iniciar o trabalho, conforme consta na metodologia, foram testados por Elisa os pulgões para todas as espécies de BYDV. Houve reação sorológica positiva para BYDV-PAV e MAV nos pulgões e nas plantas fontes de inóculo. O trabalho foi conduzido na expectativa de que haveria uma infecção mista por BYDV-PAV e MAV. Entretanto, ao realizar o teste de Elisa na folha bandeira das plantas previamente expostas aos pulgões virulíferos, constatou-se que, por algum motivo o BYDV- MAV não havia sido transmitido para nenhuma planta testada.

Desta forma, o presente trabalho apresenta resultados referentes aos cinco cultivares de trigo (BRS 177, BRS 179, BRS 194, BRS Camboatá e BRS Angico) infectados com BYDV-PAV pelos pulgões das três espécies já citados, concomitantemente.

Características agronômicas

Na Tabela 1, estão representados os dados referentes à estatura de plantas em função da infecção pelo BYDV-PAV e seu respectivo

controle sadio. Em todos os cultivares observou-se redução na estatura das plantas na sub-parcela infectada pelo vírus.

Diferenças significativas foram observadas entre as plantas infectadas e sadias em todos os cultivares.

Nas plantas de trigo infectadas houve redução na estatura das plantas, que variou de 12,56% no cultivar BRS 177 a 15,51% no cultivar BRS Camboatá (Tabela 1). Os cultivares BRS Angico e BRS Camboatá apresentaram menor estatura nas plantas sadias quando comparadas os demais cultivares, diferença esta, que se manteve quando as plantas estavam infectadas pelo BYDV-PAV.

Tabela 1 - Estatura média de 50 plantas (cm) de cinco cultivares de trigo infectado pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio

Cultivares	Estatura plantas (cm)			Variação percentual (%) {(S-I)/S} *100
	Infectado (I)	Sadio (S)	Médias	
BRS 179	83,8	96,0	89,9 a	12,7
BRS 194	82,4	96,1	89,2 a	14,1
BRS Angico	59,6	68,8	64,3 b	13,3
BRS 177	81,4	93,1	87,3 a	12,5
BRS Camboatá	58,8	69,6	64,3 b	15,5
Médias	B 73,2	A 84,8		
C.V. parcela: 9,12%				
C.V. subparcela: 7,58%				

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e precedidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

As plantas sadias apresentaram-se mais altas evidenciando que a infecção viral realmente reduziu o porte das plantas em todos os cultivares testados. Resultados semelhantes foram encontrados por Nicolini (2002) em plantas de aveia infectadas com BYDV cuja redução na estatura variou de 0,96% a 69,91%.

Esses resultados indicam que a virose causada pelo BYDV-PAV interfere efetivamente no crescimento das plantas de trigo.

Para os dados de peso de matéria seca total apresentados na Tabela 2, foram observadas diferenças significativas entre plantas infectadas e plantas sadias em todos os cultivares.

Tabela 2 - Peso médio por planta de matéria seca (Parte aérea + raiz) por plantas de cinco cultivares de trigo infectado pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio

Cultivares	Peso matéria seca (g)			Variação percentual (%) {(S-I)/S}*100
	Infectado (I)	Sadio (S)	Médias	
BRS 179	B 1,8	A 3,7 a	2,7 a	52,7
BRS 194	B 1,7	A 3,1 ab	2,4 a	47,0
BRS Angico	B 1,3	A 2,2 c	1,7 b	43,0
BRS 177	B 1,7	A 2,3 c	2,0 a	26,5
BRS Camboatá	B 1,5	A 2,2 c	1,8 b	31,9
Médias	1,6	2,3		

C.V. parcela: 18,06%

C.V. subparcela: 13,97%

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e precedidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Houve redução no peso de matéria seca total de todas as plantas infectadas pelo BYDV-PAV conforme dados apresentados na

Tabela 2. A redução variou de 26,49% no cultivar BRS 177 a 52,67% no cultivar BRS 179, sendo que não houve diferença significativa entre os cultivares. Já nas plantas sadias alguns cultivares apresentaram maior peso de matéria seca total, indicando tratar-se de uma característica varietal.

Componentes da produtividade

Quanto ao número de plantas, não houve diferenças significativas entre plantas infectadas e plantas sadias, demonstrando que não houve de modo geral, morte de plantas em função da infecção viral.

Dados referentes ao número médio de afilhos por planta, apresentados na Tabela 3 evidenciam redução significativa no número de afilhos nas plantas infectadas com BYDV-PAV em relação às plantas sadias nos cultivares BRS 179 e BRS Angico. Nos demais cultivares não houve diferenças significativas quanto ao número de afilhos em função da infecção viral.

Tabela 3 - Número médio de afilhos por planta de cinco cultivares de trigo infectado pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio

Cultivares	Número de afilhos/planta			Variação percentual (%) {(S-I)/S}*100
	Infectado (I)	Sadio (S)	Médias	
BRS 179	B 1,1	A 1,5 a	1,3	24,3
BRS194	A 1,1	A 1,2 bc	1,2	5,8
BRS Angico	B 1,2	A 1,5 ab	1,3	17,8
BRS 177	A 1,1	A 1,2 c	1,1	4,2
BRS Camboatá	A 1,2	A 1,4 abc	1,3	8,1
Médias	1,2	1,3		

C.V. parcela: 13,8%

C.V. subparcela: 11,8%

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e precedidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

A variação percentual referente a diminuição do número de afilhos nas plantas infectadas pelo vírus variou de 4,24% no cultivar BRS 177 a 24,34% no cultivar BRS179. Resultados semelhantes em relação à diminuição do número de afilhos também foram observados por Nicolini (2002) em plantas de aveia infectadas por BYDV.

Entretanto, vale lembrar que, segundo Caetano (1972) para infecções de BYDV que ocorrem precocemente nas plantas pode ocorrer falta de desenvolvimento ou morte dos afilhos antes de completar o ciclo da cultura.

A análise referente ao número de espigas por planta, apresentado na Tabela 4, mostrou diferenças significativas entre plantas infectadas e plantas sadias.

Tabela 4 - Número médio de espigas por planta de cinco cultivares de trigo infectado pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio

Cultivares	Número de espigas/planta			Variação percentual (%) {(S-I)/S}*100
	Infectado (I)	Sadio (S)	Médias	
BRS 179	1,1	1,4	1,2 ab	21,4
BRS194	1,1	1,2	1,1 b	8,3
BRS Angico	1,2	1,4	1,3 a	14,3
BRS 177	1,0	1,2	2,0 b	16,7
BRS Camboatá	1,1	1,3	1,2 ab	15,4
Médias	B 1,1	A 1,3		

C.V. parcela: 8,68%

C.V. subparcela: 7,43%

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e precedidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Para o número médio de espigas por planta, melhores resultados foram observados nas plantas sadias, dado esperado, pois de acordo com Caetano (1972) infecções por BYDV reduzem o número e tamanho das espigas. Variações percentuais na redução do número de espigas em função da infecção viral variaram de 8,33 no cultivar BRS 194 a 21,43% no cultivar BRS 179.

Houve diferenças significativas no número médio de grãos por planta (espiga principal + espiga secundária), conforme apresentados na Tabela 5. Os melhores resultados foram observados nas plantas sadias, as quais apresentaram número mais elevado de grãos nas plantas sadias quando comparadas às infectadas, em todos os cultivares testados.

Tabela 5 - Número médio de grãos por planta (espiga principal + espiga secundária) de cinco cultivares de trigo infectado pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio

Cultivares	Número de grãos/planta			Variação percentual (%) {(S-I)/S}*100
	Infectado (I)	Sadio (S)	Médias	
BRS 179	B 18,5 ab	A 40,6 a	29,5 a	54,3
BRS194	B 13,4 b	A 24,7 c	19,1 a	45,9
BRS Angico	B 16,9 ab	A 30,4 bc	23,7 ab	44,4
BRS 177	B 18,5 ab	A 36,5 ab	27,5 ab	49,5
BRS Camboatá	B 20,6 a	A 27,9 c	24,3 b	26,1
Médias	17,6	32,0		

C.V. parcela: 19,13%

C.V. subparcela: 15,43%

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e precedidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Houve também interação entre cultivares *versus* condição (infectadas e sadias). Estes resultados eram também esperados, pois a infecção por BYDV promove a diminuição no número e peso dos grãos. Variações percentuais na redução do número médio de grãos em função da infecção pelo BYDV-PAV variaram de 26,12% no cultivar BRS Camboatá a 54,29% no cultivar BRS 179.

Dados referentes ao peso de mil grãos estão apresentados na Tabela 6, evidenciando a diminuição do peso de mil grãos de 16,88% no cultivar BRS Camboatá a 38,44% no cultivar BRS 194 a nas plantas infectadas pelo BYDV-PAV. Já Nicoloni (2002) observou dados variáveis no peso de mil grãos em plantas infectadas pelo BYDV em aveia, sendo que alguns cultivares apresentaram maiores pesos nas plantas com sintomas da doença, dado este também relatado

por Caetano (1972), em que plantas infectadas a produção de grãos normalmente é prejudicada em número e peso, ocorrendo, porém casos em que a planta produz poucos grãos por espiga e nestas condições o peso dos grãos é relativamente mais elevado.

Tabela 6 - Peso de mil grãos (g) (espiga principal + espiga secundária) de cinco cultivares de trigo infectado pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio

Cultivares	Peso de mil grãos/planta			Variação percentual (%) $\{(S-I)/S\} * 100$
	Infectado (I)	Sadio (S)	Médias	
BRS 179	B 47,9 a	A 64,2 a	56,0 a	25,4
BRS194	B 37,5 b	A 60,8 ab	49,1 ab	38,4
BRS Angico	B 34,7 b	A 51,3 b	43,0 b	32,3
BRS 177	B 37,9 ab	A 59,4 b	48,7 ab	36,3
BRS Camboatá	B 42,4 ab	A 51,0 b	46,7 b	16,9
Médias	40,1	57,3		

C.V. parcela: 14,43%

C.V. subparcela: 11,07%

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e precedidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Com relação à produtividade média por hectare houve diferenças significativas na produtividade das plantas infectadas com o BYDV-PAV quando comparado ao controle sadio (Tabela 7).

Tabela 7 - Produtividade média por hectare de cinco cultivares de trigo infectado pelo BYDV-PAV e respectivo controle sadio

Cultivares	Produtividade (Kg/ha)			Variação percentual (%) {(S-I)/S}*100
	Infectado (I)	Sadio (S)	Médias	
BRS 179	B 1352	A 3450 a	2401 a	60,8
BRS194	B 1066	A 2277 b	1671 b	53,2
BRS Angico	B 1056	A 2151 b	1604 b	50,9
BRS 177	B 1424	A 3112 a	2268 a	54,2
BRS Camboatá	B 1279	A 1943 b	1611 b	34,2
Médias	1235	2587		

C.V. parcela: 20,13%

C.V. subparcela: 17,53%

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e precedidas de mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Maior produtividade foi observada nas plantas sadias, que também apresentaram diferenças entre os cultivares, devido a características varietais. Essas características varietais não se expressaram nas plantas infectadas, dado bastante relevante, observando-se que o cultivar que mais produzia quando sadio (BRS 179), não foi o mesmo que mais produziu quando infectado pelo vírus, que foi o cultivar BRS 177. Ao contrário, BRS 179 foi o cultivar que mais sofreu redução na produtividade (60,81%) quando infectado pelo BYDV-PAV enquanto que o cultivar BRS Camboatá foi o que menos sofreu redução na produtividade (34,17%).

De acordo com trabalhos realizados, a infecção natural por BYDV em aveia pode causar danos que variam de 3 a 52% (SCHONS et al., 1999). Em trigo danos de até 63% foram observados no ano de

1999 (SCHONS et al., 2000), dado este semelhante ao observado no presente estudo no cultivar BRS 179 (60,8%).

Os dados apresentados na Tabela 7 permitem observar que dos cinco cultivares utilizados no presente estudo, todos reduziram a produtividade em função da infecção com o BYDV-PAV, com danos que variaram de 34,5 a 60,8%. Dessa forma, é possível inferir que os cinco cultivares apresentam diferentes níveis de suscetibilidade ao vírus.

4 CONCLUSÕES:

Nas condições em que a pesquisa foi desenvolvida, os resultados obtidos permitem concluir que:

- a) Todos os parâmetros agronômicos analisados (características agronômicas e componentes do rendimento) foram afetados pela infecção por BYDV-PAV;
- b) O parâmetro agronômico mais afetado pela infecção pelo BYDV-PAV foi o rendimento médio por hectare;
- c) O cultivar BRS 179 foi o mais afetado pela infecção, apresentando redução no peso médio da matéria seca, número médio de afilhos por planta, número médio de espigas por planta, número médio de grãos por planta e rendimento (kg/ha);

- d) Os resultados observados em relação ao cultivar BRS 179 permitem classificá-lo como altamente suscetível ao BYDV-PAV;
- e) Para o parâmetro peso de mil grãos o cultivar mais afetado pela infecção com o BYDV-PAV foi o BRS 194;
- f) Para o parâmetro estatura, o cultivar mais afetado pela infecção com o BYDV-PAV foi o cultivar BRS Camboatá.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista que os vetores testados reagiram sorologicamente como infectados por BYDV-PAV e BYDV-MAV, não ficou claro a razão pela transmissão apenas do BYDV-PAV pelas três espécies de pulgões em todas as plantas testadas. Esse fato merece sugerir estudos futuros visando um melhor entendimento dos mecanismos de transmissão de cada espécie do BYDV por cada vetor individualmente, e também elucidar o motivo pela qual houve a transmissão de uma espécie apenas, quando sabidamente as três espécies de pulgões têm maior ou menor habilidade a capacidade de transmitir BYDV-PAV e BYDV-MAV.

Contrariando trabalhos anteriores onde resistência ou tolerância ao BYDV tem sido atribuída a diferentes genótipos de trigo, sem identificar a espécie do BYDV e sua relação com um vetor específico, sugere-se que a classificação dos genótipos em diferentes níveis de resistência, tolerância ou suscetibilidade sejam atribuídos após a correta identificação do patógeno e respectivo vetor. Pois como vimos no presente estudo, os cultivares não reagiram da mesma maneira quando infectadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. *Plant pathology*. 4 ed. Califórnia: Academic Press, 1997.

ABU-JAWDAH, H.; KUMMERT, J. Effects of Aliette on AMV infection of bean leaves and on the resultant alterations in the patterns of proteins and peroxidases. *Phytopathology*. v. 108, p. 294-303, 1983.

ALMEIDA, A. M. R.; LIMA, J. A. A. *Princípios e técnicas de diagnose aplicados em fitovirologia*. Londrina: Embrapa Soja, 2001.

AYANDRU, D. K.; SHARMA, V. C. Effects of cassava mosaic disease on certain leaf parameters of field-grown cassava clones. *Phytopathology*. v. 78, n. 8, p.1057-9, 1982.

BANKS, P.M.; LARKIN, P. J.; BARIANA, H.S.; LAGUDAH, E.S.; APPELS, R., *et al.* The use of cell culture for subchromosomal introgressions of barley yellow dwarf virus resistance from *Thynopyrum intermedium* to wheat. *Genome*, v.38, p.395-405,1995.

BARBOSA-NETO, J. F. *Application of molecular markers to genetic diversity and quantitative trait loci detection studies in oat and wheat*. Ithaca: Cornell University, 1995. 87 p. PhD Thesis, Cornell University, 1995.

BARBOSA, M. M. *Controle genético da Resistência ao vírus do mosaico do trigo em Triticum aestivum L. Thell.* 1996 Dissertação (Mestrado em agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia.

BARRET, A. J. The classes of proteolytic enzymes. In:DALLING, M. J. *Plant Proteolytic-Enzymes*, Boca Raton, Fl: CRC Press, v.1, 1986 p.1-16

BEDENDO, I. P. Vírus. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.;

AMORIM, L. *Manual de Fitopatologia vol 1: Princípios e conceitos* –São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.132-139.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. *Manual de Fitopatologia vol 1: Princípios e conceitos* – 3 ed São Paulo: Agronômica Ceres, 1995.

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.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Analytical Biochemistry* v. 72, p. 248-54, 1976.

BURNETT, P. A. Preface. In: *Barley yellow dwarf – proceedings of the workshop*. Mexico: CIMMYT, p.6-13. 1983.

BURNETT, P. A., COMMEAU, A., QUALSET, C. O. Host plant tolerance or resistance for control of barley yellow dwarf. In: D'ARCY, C. J. and BURNETT, P. A. *Barley yellow dwarf: 40 years of progress*. Minnesota: The American Phytopathological Society, 1995. p. 321-343.

BURNETT, P. A., COMMEAU, A., QUALSET, C. O. *World perspectives on BYDV*. Italy: CIMMYT. 1987.

CAETANO, V. R. *Estudo sobre o vírus do nanismo amarelo da cevada, em trigo, no Rio Grande do Sul*. (Tese de Doutorado). Piracicaba, 1972. Universidade de São Paulo _ Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Piracicaba – SP. 75 p.

CAETANO, V. R. Doenças do trigo – O impacto das doenças do trigo transmitidas por vetores. *Revista Correio Agrícola*: 1ª ed, p. 16-18, 1998.

CAETANO, V. R. Situation report – Brazil, In: *Barley yellow dwarf – proceedings of the workshop*. México: CIMMYT, p.173-174. 1983

CHALHOUB, B. A.; SARRAFI, A.; LAPIERRE, H. D. Diallel analysis for partial resistance of five barley (*Hordeum vulgares*) genotypes to a PAV-like isolate of barley yellow dwarf virus. *Journal of Genetics and Breeding*, v.4, p.9-31-36, 1995.

CLARK, M. F.; ADAMS, A. N. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal General Virology*, v.34, p. 475-483, 1997.

CLIFFORD, B. C. Diseases, pests and disorders of oats. In: *The oat crop production and utilization*. Edited by Robert W. Welch. Chapman e Hall, p.252-278. 1995.

COLOMBO, C. R. *Efeito do tratamento de sementes com o inseticida imidacloprid sobre a virose do nanismo amarelo da cevada em aveia*. 2002. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2002.

COMEAU, A. Geographic distribution of resistance to barley yellow dwarf virus in *Avena sterilis*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v.4, p. 147-151, 1982.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. “Disponível em:” <http://www.conab.gov.br> “Acessado em:” 03 março. 2006.

COURNET, P. *Elementos de Virologia Vegetal*. Edicionaes Mundi-Prensa. INRA. Madrid, 1992.

DAMSTEEGT, V. D.; BRUELH, G.W. Inheritance of resistance in barley to Barley yellow dwarf. *Phytopatology*, v.54, p.219-224, 1964.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analitic Chemistry*. v. 8, p. 350-6, 1956.

FRASE, R. S. S. The genetics of plant-virus interactions: implications for plant breeding. *Euphytica*, v. 63, p. 175-185. 1992.

GALANGAU, F.; DANIEL-VEDELE, F.; MOUREAUX, T.; DORBE, M. F.; LEYDECKER, M. T.; CABOCHE, M. Expression of leaf Nitrate reductase genes from tomato and tobacco in relation to light-dark regimes and nitrate supply. *Plant Physiology*, v. 88, p. 383-388. 1988.

GALLO, D. et al. *Entomologia agrícola*. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GASSEN, D. N. *Insetos associados a cultura do trigo no Brasil*. 3 ed. Passo Fundo: Embrapa – CNPT, 1984. 39 p. (Embrapa - CNPT. Circular técnica 3).

GASSEN, D. N. *Controle Biológico de pulgões do trigo*. Passo Fundo: Embrapa – CNPT, 1988. 13 p. (Embrapa – CNPT. Documentos, 3).

GASSEN, D. N. Manejo de pragas em trigo. In: *Novas tecnologias em trigo*. Cascavel – PR: COODETEC/ BAYER CropScience. 2003. p. 42 – 61.

GILDOW, F. E. Biology of aphid vectors of Barley yellow dwarf virus and the effect of BYDV on aphids. In: *Barley yellow dwarf – a proceedings of the workshop*. México: CIMMYT, p. 28-33. 1983.

GONÇALVES, M. C; VEGA, J., OLIVEIRA, J. G. & GOMES, M.M. A. *Sugarcane yellow leaf virus* infection leads to alterations in photosynthetic efficiency and carbohydrate accumulation in sugarcane leaves. *Fitopatologia brasileira*. v. 30 n.1, p.10-16. 2005.

HOLLOWAY, P.J.; HEATH, R. Identification of polypeptide markers of Barley yellow dwarf virus resistance and susceptibility genes in non-infected barley (*Hordeum vulgare*) plants. *Theoretical and Applied Genetics*, v.85, p.346-352,1992.

HOPKINS, W. G. *Introduction to plant physiology*. New York:

John Wiley & Sonns, 1995. 464 p.

INDICAÇÕES TÉCNICAS DA COMISSÃO SUL-BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO - 2002, Porto Alegre: Comissão Sul Brasileira de Pesquisa em Trigo, 79 p.

INDICAÇÕES TÉCNICAS DA COMISSÃO SUL-BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO - 2005, Cruz Alta: Comissão Sul Brasileira de Pesquisa em Trigo, 157 p.

JENSEN, S. G.; D'ARCY, C. L. Effects of Barley yellow dwarf on host plants. In: D'Arcy, C. J.; Burnett, P. A. (eds). *Barley yellow dwarf: 40 years of progress*. American Phytopathology Society, St Paul, MN. P.55-74. 1995.

JEDLINSKY, H. The genetics of resistance to barley yellow dwarf virus in oate. In: *Barley yellow dwarf - a proceedings of the workshop*. México: CIMMYT, p. 101.105,1983.

KOEV, G.; MOHAN, B.R.; DINESH-KUMAR, S.P.; TOERBERT, K. A.; SOMERS, D. A.; MILLER, W. A. Extreme reduction of disease in oat transformed whit the 5' half of the Barley yellow dwarf virus – PAV. *Genome*. v. 88, n.10, p. 1013-1019. 1998.

LANDRY, B.; COMEAU, A.; MINVIELLE, F.; ST-PIERRE, C.A. Genetic analysis of resistance to Barley yellow dwarf virus in hybrids between *Avena sativa* cv. 1-amar and virus resistant tines of *Avena sterilis*. *Crop Science*, v.24, p.337-340,1984.

LARKIN, P.; BANKS, P. M.; LAGUDAH, E. S.; APPEL-S, R.; XIAO, C. Disomic *Thynopyrum intermedium* addition lines in wheat with Barley yellow dwarf virus resistance and with rust resistances. *Genome*, v.38, p.385-394,1995.

LEAL, N.; LASTRA, R. Altered metabolism of tomato plants infected with tomato yellow virus. *Physiology Plant Pathology*, p1-7, 1984.

LEOPARDI, F.; PERES DE COSTA, D. Efectos del virus del mosaico de la cana de azúcar raza / Bem el sorgo. II Aspectos metabólicos. *Turrialba*, v. 42, p. 459-65. 1992.

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*. American Phytopathology Society, St Paul, MN. p.55-74. 1995.

MATTHEWS, R. E. F. *Plant Virology*. 2 ed. New York. Academic Press. P. 12-17. 1981.

MATZENBACHER, R. G. *A cultura da aveia no sistema plantio direto*. Cruz Alta: Fundacep Fecotrigo, 1999. 200p.

McKENZIE, R.I.H.; BURNETT, P. A.; GILL, C. C.; COMMEAU, A.; BROWN, P.D. Inheritance of tolerance to Barley yellow dwarf virus in oats. *Euphytica*, v.34, p. 681-687, 1985.

MEDEIROS, C. A., REIS, E. M.; BABRIEL, N. Danos causados pelo vírus do nanismo amarelo da cevada (VNAC) em cultivares de aveia em Passo Fundo, RS, em 1996. *Fitopatologia Brasileira* 22:338, 1996.

MEHTA, Y.R., Doenças do trigo e seu controle. São Paulo: *Agronômica Ceres & Summa Phytopathologica*. 1978.

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

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

NEURATH, H. Evolution of proteolytic enzymes. *Science*, v.224, p.350, 1984

NEURATH, H. The Diversity of Proteolytic Enzymes. In: BEYMONR, J.; BOND, J. S. (ed), *Proteolytic Enzymes: A practical Approach*, 1996. New York: Oxford University Press, v.1, p.1

NICOLINI, F. *Incidência, severidade e danos causados pela virose do nanismo amarelo da cevada em aveia*. 2002. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2002.

NUTTER, F. W., TENG, S. P. & ROYER, M. H. Terms and concept for yield, crop and diseases thresholds. *Plant Disease* v. 77, 211-215, 1993.

OSWALDF, J. W., HOUSTON, B. R. A new virus diseases as cereals transmissible by aphids. *Plant Disease*. v. 35, p. 471-475, 1951.

PALM, E. W. *Virus disease of wheat*. Agricultural publication. 1993.

PASCHOLATI, F. S.; LEITE, B. Hospedeiro: Alterações fisiológicas induzidas por fitopatógenos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. *Manual de Fitopatologia vol 1: Princípios e conceitos* –São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 393-417.

PEDERSEN, M. K.; HANSEN, M.; ERBS, G. *Barley yellow dwarf virus*. [artigo científico]. Disponível em: <<http://www.dias.kvl.dk/plantvirology/BYDV.htm>>. Acesso em: 22 jun. 2003.

PENNINGTON, R.E.; SHERWOOD, J.L.; HUNGER, R.M. A PCR-based assay for wheat soilborne mosaic virus in hard red winter wheat. *Plant Disease*, v.77, n.12, p.1202-1205, 1993.

PLUMB, R. T. Chemicals in the control of cereal virus disease. In: *Strategies for the control o cereal disease*. Jenkyn, J. F. & Plumb, R. T. Oxford. 1981. p.135-145.

PRATES, L. G.; FERNANDES, J. M. C. Determinação da taxa de crescimento micelial de *Bipolaris sorokiniana*. *Fitopatologia Brasileira* v. 18, 481-485. 1999.

QUALSET, C.O. Evaluation and breeding methods for barley yellow dwarf resistance. In: *Barley Yellow Dwarf - a proceedings of the workshop*. México: CIMMYT, p. 72-80. 1983.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. *Biologia vegetal*. Guanabara, 6º edição. Koogan S. A. Rio de Janeiro. 2001.

RASMUSSEN, D.C.; SCHALLER, C.W. The inheritance of resistance in barley to Barley yellow dwarf virus. *Agronomy Journal*, v.51, 661-664,1959.

RINES, H.W.; STUTHMAN, D.D.; BRIGGLE, L.W.; YOUNG, V.L.; JEDLINSKI, H.; SMITH, D.H.; WEBSTER, 3.A.; ROTHMAN, P.G. Colection and evaluation of *Avena fatua* for use in oat improvement. *Crop Science*, v.20,63-68,1980.

ROBERTSON, N. I.; FRENCH, R.; GRAY, S. M. Use of group-specific primers and the polymerase chain reaction for the detection and identification of Luteoviruses. *Journal of General Virology*, v.72, 1473-1477, 1991.

ROCHOW, W. F. Biological properties four isolates of barley yellow dwarf virus. *Phytopathology*. v. 59, 1580-1589, 1969.

ROHLF, F.S. NTSYS-PC. *Numerical taxonomy and multivariate analysis system*. Exeter Software, Setauket, New York, 1992.

SALVADORI, J. R.; SALLES, L. A. B. de. Controle Biológico dos pulgões do trigo. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHJO, P. S. M.; CORRÊA – FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Org.). *Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores*. São Paulo: Manole, 2002. p. 427 – 447.

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

SALVADORI, J. R. *Pragas da cultura da cevada*. Passo Fundo: Embrapa – CNPT, 2000a. 48p. (Embrapa Trigo. Documento 23).

SALVADORI, J. R. 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. p. 267 – 287. (Série Culturas, 2).

SANTOS, H. P; TINÉ, M. A. S. & FAJARDO, T. V. M. Níveis de carboidratos em folhas de videiras infectadas por *Grapevine virus A*, *Grapevine virus B* e *Grapevine leafroll-associated virus 3*. *Fitopatologia brasileira* v. 30 n.1, jan-fev 2005. p.93.

SCHONS, J.; DALBOSCO, M. Identificação de estirpes do vírus do nanismo amarelo da cevada. *Fitopatologia brasileira* n. 24, p. 359. 1999.

SCHONS, J.; DALBOSCO, M. Effects of SBWMV on the levels of protein and activity of peroxidase in wheat. *Virus Reviews Supplement I*, v. 5, n. 2, p. 88-88. 2000.

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

SCHONS, J.; PAVAN, M. A; BRASIL, O. G. Efeito do PRSV-W sobre níveis de proteínas solúveis e atividade da peroxidase em melancia (*Citrullus lanatus* Thurb Mansf.). *Fitopatologia Brasileira*, v. 20, 1995 suplemento.

SCHONS, J. *Efeito do vírus do enrolamento da folha da batata sobre teores de poliaminas, proteínas, açúcares e atividade da peroxidase em cultivares de batata (Solanum tuberosum L.) com diferentes níveis de resistência*. Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Botucatu – UNESP, 1997. 100 p.

SHARMA, H.; OHM, H.; GOULART, L; LISTER, R.; APPELS, R.; BENLHABIB, O. Introgression and characterization of Barley yellow dwarf virus resistance from *Thynopyrum intermedium* into

wheat. *Genome*, v.38, p.406-413,1995.

SINGH, R.P. Genetic association of gene *Bdvl* for tolerance to barley yellow dwarf virus with genes *Lr34* and *Yrl8* for adult plant resistance to rusts in bread wheat. *Plant Disease*, v.77, p. 1103-1106,1993.

SKARIA, M.; LISTER, R. M.; PÓSTER, J. E.; SHANER, G. Virus content as an index of symptomatic resistance to Barley yellow dwarf virus in cereais. *Phytopathology*, v.75, 212-216,1985.

SOUZA, R.; SCHONS, J.; BRAMMER, S.; PRESTES, A.; SCEREN, P.; NICOLINI-TEIXEIRA, F.; CECCHETTI, D.; LANZARINI, A. C., Efeito do *Soil-borne wheat mosaic virus* sobre o metabolismo de cinco genótipos de trigo com diferentes níveis de resistência á doença. *Fitopatologia brasileira*. v. 30, n. 4, 400-403, 2005.

SOUZA, R. *Caracterização bioquímica e molecular do plantas de trigo infectadas com o vírus do mosaico de trigo (Soil-borne wheat mosaic virus)* 2004. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2004.

STARLING, J.; PASCHOLATI, S. F.. Atividade de ribulose –1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase (rubisco), clorofilase, B-1,3 glucanase e quitinase e conteúdo de clorofila em cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) infectadas com *Uromyces appendiculatus*. *Suma Phytopathol.* v. 26, p. 34-42. 2000.

TELES. F. F. F., BARBOSA, F. F.; PINHEIRO, P.A.P. A simple technique for industrial analysis of total chlorophyl. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 24, p.338-340, 1977.

TOLA , J.E.; KRONSTAD, W.E. The genetics of resistance to Barley yellow dwarf virus in wheat. In: *Barley Yellow Dwarf - a proceedings of the workshop*. México: CIMMYT, p.83-92. 1983.

VAN LOON, L. C.; VAN KAMMEN, A. Polyacrylamide gel disc eletrophoresis of the soluble leaf protein from *Nicotiniana tabacum*

var. "Sansum" and "Sansum NN". Changes in protein constitution after infection with tobacco mosaic virus. *Virology*, v. 4, 199-211, 1970.

VAN REGENMORTEL et al. *Virus taxonomy – Classification and Nomenclature of Virus*. San Diego: Academic Press, 2000.

WATKINS, J. E.; LANE, L. C. *Barley yellow dwarf disease of barley, oats, and wheat*. Disponível em: <<http://www.ianr.unl.edu/pubs/plantdisease/g906.htm>>. Acesso em: 21 jun.2003.

WIESE, M. V. *Compendium of wheat diseases*. 2 ed. St. Paul: APS Press, 1991.

WILSON, T. M. V. Strategies to protect crop plants against viruses: pathogen-derived resistance blossoms. *Proceedings of National Academy of Science*, v. 90, 3134-3141, 1993.

YOSHIKAWA, M. YAMAOKA, N., TAKEUCHI, Y. Elicitors: Their significance and primary modes of action in the induction of plants defense reactions. *Plant Cell Physiology*. v. 34, p.1163-1173, 1993.

ZADOKS, J. C., CHANG, T. T.; KONZAC, C. F. A. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*. v.14, p. 415-421. 1974.

ZAHA, A., FERREIRA, B.; PASSAGLIA, L.M.P. (Org.) *Biologia molecular básica*. 3º ed. Porto Alegre: Mercado Aberto, 2003.

ZERBINI, F. M.; AMBROZEVÍCIUS, L. P.; NAGATA, A. K. I. Diagnose molecular de fitoviroses. In: ALMEIDA, A. M. R.; LIMA, J. A. A. *Princípios e técnicas de diagnose aplicados em fitovirologia*. Londrina: Embrapa Soja, 2001. p. 95-124.

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

**ALTERAÇÕES METABÓLICAS, EFICIÊNCIA DE
TRANSMISSÃO E DANOS PROMOVIDOS PELO
Barley yellow dwarf virus (BYDV-PAV) EM CINCO
CULTIVARES DE TRIGO**

ARIANE CLAUDETE LANZARINI

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

Passo Fundo, abril de 2006.

