

Determinación del virus del enanismo amarillo de la cebada, en la zona central de Chile, por transmisión y microscopia electrónica¹

Milán Caglević D.² y Cecilia Urbina de Vidal³

ANTECEDENTES

Más de 200 muestras recibidas y/o recolectadas en visitas de campo, procedentes de 57 localidades diferentes de la zona central, fueron analizadas en el Laboratorio de Fitopatología de la Estación Experimental La Platina, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias, desde septiembre de 1975 a enero de 1976. El mayor número de muestras correspondió a trigo y un porcentaje mucho menor a cebada.

Como resultado de las observaciones realizadas se encontró que muchas de las muestras analizadas presentaban síntomas semejantes a los descritos para el "virus del enanismo amarillo de la cebada". Sin embargo, ésa no era la única anomalía presente. En diferentes muestras se detectó, también, porcentajes variables de fusariosis, mal del pie, oidio, septorios de la hoja (*Septoria tritici*), polvillo amarillo de la hoja y de la gluma, necrosis café ("brown necrosis"), presencia de pulgones de la hoja y de la espiga, etc.

En la recopilación de antecedentes se evidenció, en varios casos, el empleo de prácticas culturales inadecuadas, o de condiciones adversas, tales como: siembras tardías, insuficiente aplicación de abonos, uso inadecuado de pesticidas (herbicidas e insecticidas), insuficiente atención al requerimiento de agua del cultivo, heladas, sequía, etc.

El virus del "enanismo amarillo de la cebada" ("Barley Yellow Dwarf Virus", BYDV) afecta a los cereales: cebada, avena, trigo y diversas gramíneas malezas y cultivadas y es transmitido sólo por áfidos; no por semilla ni mecánicamente. Las especies de áfidos —o pul-

gones— descritas en Chile, que atacan a los cereales se encuentran incluidas entre los vectores de este virus. El áfido que se alimenta en una planta infectada adquiere las partículas del virus en pocos minutos y después de un período de latencia de varias horas puede inyectar el virus en las células del floema de una planta sana sobre la cual se ubica. El virus se multiplica en la planta y los síntomas empiezan a aparecer en 7 a 15 días. Una vez que el áfido adquiere el virus, será capaz de transmitirlo hasta su muerte.

SÍNTOMAS

En avena, las hojas se tornan rojas o naranja-rojizas y es común observar esterilidad de espiguillas y reducción de rendimiento. En cebada, el síntoma es una coloración amarillo brillante del follaje (con tonalidades rojizas en algunas variedades), enanismo —especialmente en las siembras de primavera— y esterilidad. En trigo, se puede presentar una amarillez leve a severa, comenzando en las puntas de las hojas y progresando hacia la base. Tonalidades rojizas o purpúreas también pueden estar presentes. Puede no evidenciarse enanismo, no obstante, puede haber reducción de rendimiento. La reducción puede ser mayor cuando la infección ocurre en plantas pequeñas. En algunas variedades las glumas pueden oscurecerse. Las variaciones dependen del "strain" del virus o de las diferencias genéticas entre las plantas.

No sólo la presencia del virus sino, también, diversos de los factores enumerados anteriormente pueden haber tomado parte en la baja de rendimiento de las diferentes sementeras de la zona central, que se ha estado apreciando recientemente. Ello hace más complejo aún el poder determinar cuánto de reducción se debe a qué causa.

¹Recepción originales: 29 de enero de 1976.

²Ing. Agr., M. S., Fitopatólogo, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Casilla 5427, Santiago, Chile.

³Biólogo Celular, Jefe del Grupo de Fitocitología, Departamento de Biología y Genética, Sede Norte, Universidad de Chile, Casilla 6556, Santiago 4, Chile.

DETERMINACIÓN ANTERIOR DEL VIRUS

Con anterioridad, la presencia del virus habría pasado desapercibida en la zona central. No obstante, en la zona centro-sur (Chillán), ya en 1972, el Dr. Huib Tollenaar y el Ing. Agr. Ruperto Hepp publicaron en *Agricultura Técnica* (Vol. 32 (3): 137-142) la determinación del virus y demostraron su transmisión con dos especies de áfidos.

De la revisión que realizamos de muestras de la zona central, antes mencionadas, postulamos la presencia del virus en esta zona, en base a sintomatología primero y luego en base a experimentos de transmisión del virus en condiciones de invernadero (sombreadero).

El Dr. Jesse Dubin, fitopatólogo del CIMMYT, presidiendo la Comisión designada por el Ministerio de Agricultura —integrada por personeros de diferentes instituciones— para realizar una prospección de las zonas trigueras (10-17 de enero de 1976), confirmó, en base a sintomatología, en trigo, cebada y avena, la presencia del “virus del enanismo amarillo de la cebada”, reiterando su posición de recomendar llevar a cabo estudios controlados exhaustivos, en cada zona (transmisión, serología, microscopia electrónica), antes de involucrar al virus como causante del síndrome observado en plantas de trigo.

DETERMINACIÓN DEL VIRUS EN LA ZONA CENTRAL

— Experimentos de transmisión.

Se realizaron las experiencias de transmisión en condiciones de invernadero (sombreadero), utilizando ejemplares ápteros del pulgón verde-oscuro de la espiga, *Macrosiphum (Sitobion) avenae* Fabr.

Los áfidos se obtuvieron de muestras de plantas enfermas procedentes de semillas comerciales de trigo (Rengo) y de cebada (San Fernando) y con ayuda de un pincel humedecido, de pelo de camello, fueron trasladados (19-XII-1975) a plantas sanas de trigo Quilafén y cebada Unión (sembradas el 28-XI-1975) al estado 1-2 de la escala modificada de Feekes — E. C. Large. Se colocaron 6 áfidos por planta, manteniéndose las plantas en jaulas herméticas, separadas las con áfidos y las testigo, sin áfidos. A los 3 días de haber depositado los áfidos sobre las plantas, se extrajeron éstas y, tanto, éstas como las jaulas fueron pul-

verizadas con Metasystox (metil-demeton) 1‰, para eliminar los áfidos. Las plantas se volvieron a colocar dentro de las jaulas limpias.

Trece días después de haber iniciado el experimento, se comenzó a vislumbrar clorosis apical en hojas de trigo y cebada, siendo más categórica la reacción en plantas de cebada. A medida que avanzaba el tiempo, la clorosis fue progresando comprometiendo a casi la totalidad de las hojas e incluso algunas hojas presentaban una coloración semejante al fenómeno de albinismo. En cebada, las plantas presentaban un menor tamaño que las testigo, con algunas hojas dobladas y algunas con sus extremos secos.

Posteriormente, se sacaron las plantas de las jaulas (5-I-1976) y se dejaron sobre los mesones del sombreadero donde, espontáneamente, con el tiempo se volvieron a colonizar con ejemplares alados de *Macrosiphum avenae*.

Del material experimental de nuestro ensayo (trigo Quilafén y cebada Unión, infectado, presuntamente por BYDV, a través de la transmisión), se obtuvo el material requerido para ser observado al microscopio electrónico.

— Microscopia electrónica.

El virus del “enanismo amarillo de la cebada” presenta al microscopio electrónico una localización y características estructurales que permiten identificarlo con propiedad. Se localiza, solamente, en las células del floema en las que alcanza una gran concentración, llenando casi en su totalidad el citoplasma (Figura 1); no se desarrolla en las células del parenquima ni en las de la epidermis, concordando con las características de transmisión de este virus.

En las muestras procesadas se observa la presencia de estructuras esféricas de 24-27 nm de diámetro, en los elementos celulares del floema de tallos y hojas (Figura 1). Estas estructuras presentan una alta densidad electrónica, distinguiéndose un punto central más oscuro rodeado de un halo de menor densidad (Figura 2). Estas imágenes se complementan, perfectamente, con las obtenidas mediante la aplicación de Tinción Negativa en jugo de plantas infectadas (Figura 3). Los trabajos de Gill y Chong (Virology 66: 440-453, 1975) y Jensen (Virology 38: 83-91, 1969), han demos-

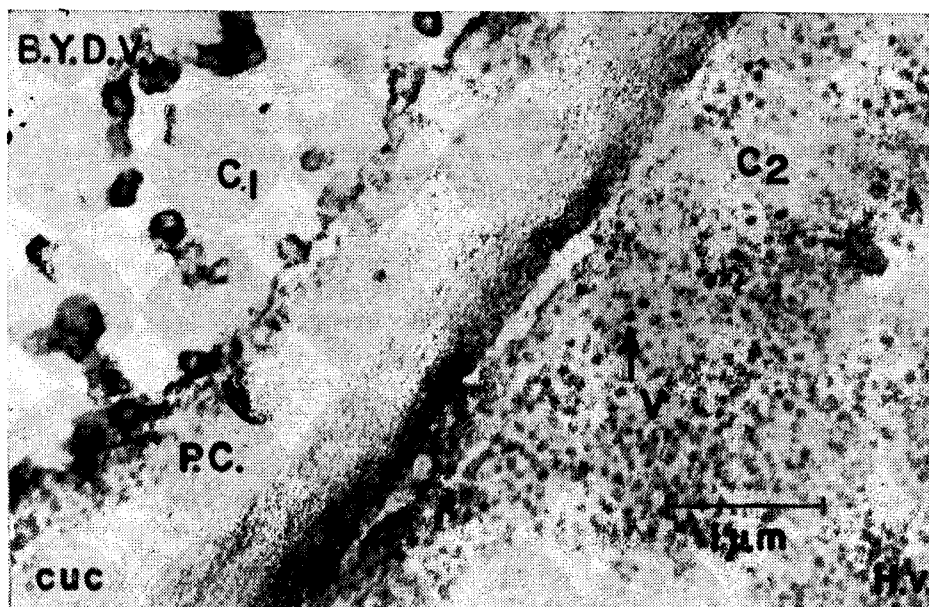


Figura 1 — Micrografía electrónica de corte fino de floema de cebada infectada con BYDV. C_1 = célula acompañante; C_2 = vaso conductor; P. C. = pared celular; v = partículas virales de BYDV. Aumento: 21.000 x.

trado que la presencia de estructuras con estas características tan específicas, corresponden a viriones del "virus del enanismo amarillo de la cebada" (BYDV).

Nuestros resultados indican, claramente,

la presencia del BYDV en las muestras analizadas y excluye, totalmente, la posibilidad de que sea otro de los virus que atacan a cereales, ya que ninguno de ellos posee ni su morfología ni una distribución tan específica en los tejidos de la planta.

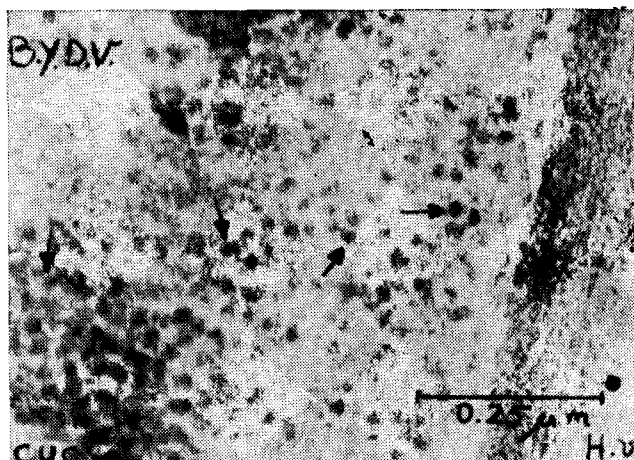


Figura 2 — Corte fino de célula conductora de cebada mostrando viriones de BYDV (flechas). Aumento: 96.000 x.



Figura 3 — Microfotografía electrónica de Tinción Negativa de jugo de planta de trigo infectada con BYDV. v = virión. Aumento: 193.500 x.

RESUMEN

Más de 200 muestras de plantas de trigo y cebada, de 57 localidades diferentes, fueron analizadas durante la temporada 1975-76. Muchas de las muestras presentaban síntomas similares al "virus del enanismo amarillo de la cebada".

El diagnóstico de la anomalía se basó en experimentos de transmisión y microscopía electrónica.

— Experimentos de transmisión con áfidos virulíferos de la especie *Macrosiphum (Sitobion) avenae* Fabr. incitaron, a los 13 días, clorosis de las hojas de plantas de trigo y cebada e incipiente enanismo en cebada (mantenidas en jaulas).

M. avenae es una de las especies de áfidos que constituye problema en los cereales en Chile.

— Microscopía electrónica (corte fino y tinción negativa). Se reveló la presencia del virus en células del floema de hojas de trigo y cebada, presentando partículas esféricas de 24-27 nm de diámetro.

SUMMARY

DIAGNOSIS OF BARLEY YELLOW DWARF VIRUS, IN THE CENTRAL ZONE OF CHILE, BY TRANSMISSION AND ELECTRON MICROSCOPY

More than 200 samples of wheat and barley plants, from 57 different places, were studied during the season 1975-76. Many samples showed symptoms very similar to BYDV.

Diagnosis of the disease was based on transmission experiment and electron microscopy.

— Transmission experiment with the viruliferous aphid species *Macrosiphum (Sitobion) avenae* Fabr. incited, after 13 days, chlorosis of the leaves, on caged wheat and barley plants (and some stunting on barley).

M. avenae is one of the aphid species important as pests of cereals in Chile.

— Electron microscopy (thin cutting and negative staining). The virus (BYDV) presence was revealed in the leaf phloem-cells of wheat and barley, showing spherical particles about 24-27 nm in diameter.

LITERATURA CITADA Y CONSULTADA

- BRUEHL, G. W. 1961. Barley yellow dwarf. The American Phytopathological Society. Monograph 1. 52 p.
- CARRILLO, R., OLALQUIAGA, G., ROMOLI, M. *et al.* 1974. Los pulgones de los cereales y sus enemigos naturales en Chile. Ministerio de Agricultura, Boletín Técnico, SAG Nº 66. 21 p.
- GILL, C. C. and CHONG, J. 1975. Development of the infection in oat leaves inoculated with Barley yellow dwarf virus. *Virology*, 66: 440-453.
- JENSEN, S. G. 1969. Occurrence of virus particles in the phloem tissue of BYDV-infected barley. *Virology* 38: 83-91.
- OSWALD, J. W. and HOUSTON, B. R. 1953. The yellow-dwarf virus disease of cereal crops. *Phytopathology* 43: 128-136.
- PALMER, L. T. 1974. Barley yellow dwarf. Neb Guide G 74-158, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska, Lincoln. 2 p.
- ROCHOW, W. F. 1958. The role of aphids in vector specificity of barley yellow dwarf virus. *Plant Disease Reporter*. Vol. 42 (8): 905-908.
- TOLLENAAR, H. y HEPP, R. 1972. Presencia del virus causante del enanismo amarillo de la cebada ("Barley yellow dwarf virus") en Chile. *Agricultura Técnica (Chile)*. 32 (3): 137-142.
- ZÚÑIGA, S. E. 1967. Cuatro áfidos nuevos para Chile (Homoptera: Aphididae). *Agricultura Técnica (Chile)*. 27 (2): 87-91.