

PRESENCIA DE RAZAS DEL VIRUS DEL ENANISMO AMARILLO DE LA CEBADA (VEAC) EN CHILE¹

Ocurrence of barley yellow dwarf virus (BYDV) isolates in Chile

Guido Herrera M.², Mireya Zerené Z.², Marcos Gerding P.³, Alfonso Aguilera P.⁴

SUMMARY

Barley Yellow Dwarf Virus (VEAC) was detected in samples examined of wheat, barley and oats from the main regions of cereal production in Chile. PAV related isolate was prevalent in all sites. The isolate RPV is the first mention to the country. The implications for epidemiology are discussed.

Key words: virus, Barley Yellow Dwarf Virus, BYDV, strains, cereals, wheat, barley, oats.

INTRODUCCION

La diferenciación e identificación de las razas de los virus permite evaluar el rol que juega cada una en las distintas manifestaciones del patógeno en condiciones de campo. En general, la importancia de las variaciones del Virus del Enanismo Amarillo de la Cebada (VEAC), en condiciones de campo, ha sido subestimada, debido, principalmente, a la distribución de las diferentes razas y a su variación en la predominancia de las mismas, entre regiones y temporadas.

La clasificación de las razas del VEAC ha estado basada en el rango de síntomas, rango de huéspedes, especificidad de especies vectoras (Rochow, 1969), serología (Rochow, 1970) y cambios a nivel citológico (Gill y Chong, 1976). Aunque la especificidad de las especies vectoras se ha utilizado tradicionalmente para clasificar razas, las pruebas serológicas desarrolladas en la última década han permitido estudiar las variantes del virus en forma rápida y a un menor costo. Por ejemplo, el uso de inmunoglobulinas monoclonales (Clark y Adams, 1977) permite diferenciar razas en menos de 48 horas, en tanto que se necesitan más de 15 días cuando se usa el método de transmisión por vectores.

Recientemente, se ha enfatizado la necesidad de evaluar la distribución y predominancia de las razas del virus en condiciones de campo (Qualset y otros, 1990).

Tal necesidad se ha originado de estudios en los cuales se ha demostrado la interacción entre niveles de tolerancia del huésped y razas del virus. Así, por ejemplo, el gen tolerante Yd₂ de la cebada, actúa frente a las variantes pertenecientes al grupo I o BYDV-MAV, pero su eficacia es mucho menor para variantes pertenecientes al grupo II o BYDV-RPV (Herrera y Plumb, 1989). Consecuentemente, se ha sugerido que los programas de mejoramiento deberían considerar, en forma importante, las razas prevalentes en el campo, para diseñar mejores estrategias de selección (Baltenbergen, Ohm y Foster, 1987; Herrera, 1990).

En Chile, se han determinado las razas PAV y MAV por reacción serológica (Herrera, 1984; Herrera y Quiroz, 1983) y otra, no específica, por transmisión con vectores (Celis y Apablaza, 1980). Sin embargo, su distribución y predominancia, es desconocida. El objetivo de esta investigación fue identificar y estudiar la distribución de las aislaciones tipo, presentes en las principales zonas productoras de cereales en Chile.

MATERIALES Y METODOS

Muestreo. Durante las temporadas 1986, 1987 y 1988 se muestrearon sementeras de cereales entre la III y IX Regiones del país. Cada muestra por localidad estuvo constituida por hojas provenientes de dos a cinco plantas. La mayoría de las muestras fueron colectadas al azar en cultivos de trigo, aun cuando también se incluyó avena y cebada. Las muestras fueron secadas en condiciones ambientales (20°C), colocadas en sobres de papel y enviadas a la Estación Experimental Rothamsted en Harpenden, Inglaterra, donde fueron analizadas mediante métodos inmunoserológicos por el autor principal de este trabajo.

Procedimiento ELISA. Los antígenos provenientes de las muestras chilenas, se compararon con sueros

¹Recepción de originales: 2 de mayo 1990.

Investigación financiada, parcialmente, por CIMMYT (Proyecto Barley yellow dwarf) y Convenio Universidad de Laval (Canadá)-Chile-ICARDA. Proyecto 3-P-86-1020-3.

Los autores agradecen a la Estación Experimental Rothamsted de Harpenden, Inglaterra, por las facilidades otorgadas al primer autor en la determinación del virus.

²Estación Experimental La Platina (INIA), Casilla 439, Correo 3, Santiago, Chile.

³Estación Experimental Quillamapu (INIA), Casilla 426, Chillán, Chile.

⁴Estación Experimental Carillanca, Casilla 58-D, Temuco, Chile.

monoclonales mediante la técnica de "Indirect-ELISA" (Torrance y otros, 1986). La presencia de las razas PAV, MAV y RPV se realizó usando las inmunoglobulinas monoclonales MAC 91, MAC 92 y MAFF 2, respectivamente.

En cada placa ELISA (NUMC. Ind.) se incluyeron controles sanos y enfermos. Los enfermos correspondieron a las razas inglesas PAV, MAV y RPV, descritas por Herrera (1990) y Torrance y otros, (1986). Las placas fueron sensibilizadas con anti-VEAC Ky (Doupnik y otros, 1982) más anti-VEAC F (BIOREBA. AG). Ambos sueros policlonales cuando se usan combinados atrapan las razas PAV, MAV y RPV. Las inmunoglobulinas (Ig) monoclonales se usaron de acuerdo a lo descrito por Forde (1989) y Herrera (1990), con fosfatasa alcalina como enzima y p-nitrofenol fosfato como sustrato (Clark, Lister y Bar Joseph, 1986; Lister y Rochow, 1979). Cada muestra se duplicó en la placa y los resultados, expresados en valores de absorbencia (405 nm), se promediaron. Las muestras que excedieron dos veces al promedio de los controles sanos se consideraron infectadas.

RESULTADOS

Los resultados en la temporada 1986 (Cuadro 1), indicaron la presencia en Chile de las tres razas del virus más comunes a nivel mundial, PAV, MAV y RPV. La identificación de la raza RPV correspondería a la primera mención en nuestro país. En las localidades de

CUADRO 1. Reacción serológica de muestras colectadas en 1986 contra anticuerpos de tres razas del VEAC

TABLE 1. Serological reaction of samples collected in 1986 against three antiserum of BYDV

Nº Localidad	Reacción a inmunoglobulinas indicadas			Razas
	PAV	MAV	RPV	
1. La Serena	+	-	-	PAV
2. Ovalle	+	+	+	PAV, MAV, RPV
3. Salamanca	-	-	-	
4. Illapel	+	+	+	PAV, MAV, RPV
5. Santiago	-	-	-	
6. Santiago	-	+	-	MAV
Controles				
PAV	+	-	-	PAV
MAV	-	+	-	MAV
RPV	-	-	+	RPV
Sano	-	-	-	

Salamanca y Santiago, aun cuando las muestras presentaban los típicos síntomas de VEAC, ellas reaccionaron negativamente a los sueros utilizados. Proyecciones más extensas en la temporada 1987 (Cuadro 2), que incluyeron muestras colectadas desde Vallenar por el norte hasta Osorno por el sur, mostraron nuevamente la presencia de las tres razas detectadas en la temporada anterior. Asimismo, se demuestra la predominancia de la raza PAV. Tal predominancia fue confirmada en la temporada 1988 (Cuadro 3).

CUADRO 2. Reacción serológica de muestras colectadas en 1987 contra anticuerpos de tres razas del VEAC

TABLE 2. Serological reaction of samples collected in 1987 against three antiserum of BYDV

Nº Localidad	Reacción a inmunoglobulinas indicadas			Razas
	PAV	MAV	RPV	
1. Vallenar	-	-	-	
2. Vallenar	+	-	-	PAV
3. Vallenar	+	-	-	PAV
4. Coquimbo	+	+	-	PAV, MAV
5. Coquimbo	-	-	-	
6. Coquimbo	+	+	-	PAV, MAV
7. Coquimbo	+	+	-	PAV, MAV
8. Ovalle	+	-	-	PAV
9. Ovalle	+	-	-	PAV
10. Llay-Llay	+	-	-	PAV
11. San Felipe	-	-	-	
12. Los Andes	+	+	-	PAV, MAV
13. Cuesta Zapata	+	-	-	PAV
14. Leyda	+	-	-	PAV
15. Santo Domingo	+	-	-	PAV
16. Santo Domingo	+	+	-	PAV, MAV
17. Santo Domingo	+	-	-	PAV
18. Santo Domingo	+	-	-	PAV
19. Melipilla	+	+	-	PAV, MAV
20. Colina	+	+	-	PAV, MAV
21. Santiago	+	+	-	PAV, MAV
22. Santa Cruz	+	+	-	PAV, MAV
23. Litueche	+	-	-	PAV
24. Litueche	-	-	-	
25. Chillan	+	+	-	PAV, MAV
26. Chillan	+	+	-	PAV, MAV
27. Temuco	+	-	+	PAV, RPV
28. Osorno	+	-	-	PAV
Controles				
PAV	+	-	-	PAV
MAV	-	+	-	MAV
RPV	-	-	+	RPV
Sano	-	-	-	

CUADRO 3. Reacción serológica de muestras colectadas en 1988 contra anticuerpos de tres razas del VEAC

TABLE 3. Serological reaction of samples collected in 1988 against three antiserum of BYDV

Nº	Localidad	Reacción a Inmunoglobulinas Indicadas			Razas
		PAV	MAV	RPV	
1.	Vallenar	-	+	-	MAV
2.	Vallenar	+	-	-	PAV
3.	Ovalle	+	-	-	PAV
4.	La Serena	+	+	-	PAV, MAV
5.	La Serena	+	-	-	PAV
6.	Coquimbo	+	+	-	PAV, MAV
7.	Casablanca	+	+	+	PAV, MAV, RPV
8.	Santo Domingo	-	+	-	MAV
9.	Leyda	+	-	-	PAV
10.	Melipilla	+	-	-	PAV
11.	San Fernando	+	-	-	PAV
12.	Chimbarongo	+	+	+	PAV, MAV, RPV
13.	Lolol	+	+	-	PAV, MAV
14.	Nancagua	+	-	-	PAV
15.	Litueche	+	-	-	PAV
16.	Talca	+	-	-	PAV
17.	Pencahue	+	-	-	PAV
18.	San Clemente	+	-	-	PAV
19.	Cañete	+	+	+	PAV, MAV, RPV
20.	Rucamanqui	+	+	+	PAV, MAV, RPV
21.	San Ignacio	+	-	-	PAV
22.	Los Angeles	+	-	-	PAV
23.	Chillán	+	-	-	PAV
24.	Chillán	+	-	-	PAV
25.	Chillán	+	-	-	PAV
26.	Chillán	+	-	-	PAV
27.	Traiguén	+	-	-	PAV
28.	Curacautín	+	-	-	PAV
29.	Quitratue	+	-	-	PAV
30.	Freire	+	-	-	PAV
31.	Barros Arana	+	+	-	PAV, MAV
32.	Hualpín	+	+	-	PAV, MAV
33.	Almagro	+	-	-	PAV
34.	Temuco	+	-	-	PAV
35.	Vilcún	+	-	-	PAV
36.	Purranque	+	-	-	PAV
Controles					
	PAV	+	-	-	PAV
	MAV	-	+	-	MAV
	RPV	-	-	+	RPV
	Sano	-	-	-	

DISCUSION

De los resultados expuestos en la presente investigación es posible concluir que dentro de las zonas prospectadas por el presente estudio, PAV sería la raza prevalente, existiendo además en condiciones campo las razas MAV y RPV. Otros estudios también han

sugerido que la raza prevalente en Chile es PAV (Herrera y Quiroz, 1983; Webby, Lister y Burnett, 1990).

La prevalencia de las razas depende, en gran medida, de la abundancia de los diferentes especies de vectores en el campo (Jonhstone y Guy, 1986). Se sabe que las razas PAV y MAV son más eficientemente transmitidas por *R. padi* y *S. avenae*, especies de vectores que fueron usadas por Rochow (1969) para distinguir una raza de otra. Sin embargo, otras especies también parecen ser importantes en la dispersión de variantes de virus en condiciones de campo. Por ejemplo, el áfido *Metopolophium dirhodum* es abundante en países como Chile (Herrera y Quiroz, 1983) y México (Mezzalama y Burnett, 1987). Su importancia como transmisor de las distintas razas del virus, no se ha estudiado extensamente. Herrera (1990) indica que este vector es muy eficiente en la transmisión de las razas PAV y MAV existentes en Europa. Considerando que *M. dirhodum* es el áfido más abundante en trigo, en la IV Región y valle central de riego (Carlos Quiroz E., INIA, comunicación personal), es posible que sea uno de los principales factores en la dispersión de ambas razas. Más al sur de Santiago, se observa un predominio de *S. avenae* y *R. padi* (INIA, 1986). Generalmente, la especie más abundante durante la época de crecimiento del cultivo es *S. avenae*.

La especie vectora de la raza RPV es en forma específica, *R. padi*. Esta especie, en general, tiene menos movilidad en el campo que, por ejemplo, *S. avenae*. Como consecuencia de ello, la dispersión de raza RPV se vería desfavorecida en relación a otras razas transmitidas por vectores más móviles. Esta especie presenta importantes poblaciones en maíz durante los meses estivales, cultivo que a menudo presenta VEAC (Guido Herrera M., INIA, datos no publicados), existiendo la posibilidad de trasladarse a cultivos de cereales sembrados temprano. Consecuentemente, no parece extraña la presencia de razas tipo RPV y RMV determinada en aislaciones chilenas por Webby, Lister y Burnett (1990), las cuales son específicamente transmitidas por esta especie de áfido.

La presente investigación mostró que una gran parte de las localidades prospectadas estaban infectadas por más de una raza, siendo la más común la combinación de PAV y MAV. Aún cuando en algunos casos se presentaron PAV, MAV y RPV juntas. Las razas RPV y RMV pueden actuar como "Helper virus", es decir ayudar a transmitir razas por especies de áfidos que bajo condiciones normales no las transmiten. Este fenómeno permite incrementar las posibilidades de dispersión de la enfermedad.

Generalmente, los programas de mejoramiento, para obtener tolerancia al VEAC, han usado mezclas o razas no identificadas del virus. Si genes resistentes al VEAC,

como el Yd₂ en cebada, son específicos para algunas razas y no para otras (Herrera y Plumb, 1989), entonces comportamientos atípicos de cultivares a la infección con el virus, podrían ser causados por inoculaciones con razas para las cuales no existe protección en el

cultivar. La información disponible sugiere que programas de mejoramiento en nuestro país deberían centrarse en selecciones contra las razas más frecuentes. Los presentes resultados y otros (Herrera y Quiroz, 1983) indican que ella sería PAV.

RESUMEN

El Virus del Enanismo Amarillo de la Cebada (VEAC) fue detectado en cultivos de trigo, avena y cebada, en las principales áreas productoras de cereales en Chile. La raza PAV fue la más frecuente en toda la zona. La raza RPV constituye la primera mención en Chile. Las

implicaciones epidemiológicas de la enfermedad son discutidas.

Palabras claves: virus, Virus del Enanismo Amarillo de la Cebada, VEAC, razas, cereales, trigo.

LITERATURA CITADA

- BALTENBERGER, D.E., OHM, H.M., and FOSTER, J.E. 1987. Reaction of oats, barley and wheat to infection with barley yellow dwarf virus isolates. *Crop Sci.* 27: 195-198.
- CELIS, M y APABLAZA, G. 1980. Eficiencia de transmisión de una cepa del BYDV por cinco especies de áfidos vectores en los cvs. de Avena Coast Black y Clintland 60. Sociedad Agronómica de Chile (SACH), XXXI Jornadas Agronómicas. 1980. Santiago, 28 de julio al 1º de agosto. p.: 43.
- CLARK, M.F. and ADAMS, A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-483.
- CLARK, M.F., LISTER, R.M., and BAR-JOSEPH, M. 1986. ELISA Techniques. *Methods in Enzymology* 118: 742-766.
- DOUPNIK, B.E., STUKEY, R.E., BRYAN, G.R., and PIRONE, T.P. 1982. Enzyme-linked immunosorbent assay for barley yellow dwarf virus using antiserum produced to virus from field-infected plants. *Pl. Dis.* 66: 812-815.
- FORDE, S.M.D. 1989. Strain differentiation of barley yellow dwarf virus using specific monoclonal antibodies in immunosorbent electron microscopy. *J. Virol. Methods* 23: 313-320.
- GILL, C.C and CHONG, J. 1976. Differences in cellular ultrastructural alterations between variants of barley yellow dwarf virus. *Virology* 75: 33-47.
- HERRERA M., GUIDO. 1984. Purificación e identificación de un aislamiento Chileno del VEAC por Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Agricultura Técnica* 44(3): 283-286.
- HERRERA M., GUIDO. 1990. Interactions between host plants and British isolates of barley yellow dwarf virus. University of London. 232p. (Tesis para optar al título de Ph.D.).
- HERRERA M., G. and PLUMB, R., T. 1989. The response of winter and spring barleys with and without the Yd₂ gene to 3 British isolates of barley yellow dwarf virus. *Barley yellow dwarf Newsletter* 2: 38-40.
- HERRERA M., GUIDO y QUIROZ E., CARLOS. 1983. Distribución y factores epidemiológicos del virus del enanismo amarillo de la cebada (BYDV) en Chile. *Agricultura Técnica* 43: 121-126.
- INIA-INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS. 1986. Informe de la reunión sobre virología y entomología de cereales de invierno. Est. Exp. Pergamino. Argentina. BID-IICA-Cono Sur. 31 p.
- JONHSTONE, G.R. and GUY, P.L. 1986. Epidemiology of viruses transmitted persistently by aphids. In: *Proceedings of workshop on epidemiology of plant viruses.* Orlando Florida. USA.
- LISTER, R.M. and ROCHOW, W.F. 1979. Detection of barley yellow dwarf by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Phytopathology* 69: 649-654.
- MEZZALAMA, M. y BURNETT, P.A. 1987. Vector relationship of isolates of BYDV in México. P.A. Burnett (ed.). CIMMYT. México. 511 p.
- QUALSET, C.O., LORENS, G.F., ULLMAN, D.E., and McGUIRE, D.E. 1990. Genetics of host plant resistance to barley yellow dwarf virus. In: *World perspective of barley yellow dwarf.* P.A. Burnett (ed.). CIMMYT. México. p.: 368-382.
- ROCHOW, W.F. 1969. Biological properties of four isolates of barley yellow dwarf virus. *Phytopathology* 59: 1580-1589.
- ROCHOW, W.F. 1970. Barley yellow dwarf virus. CMI/AAB. *Descriptions of Plant viruses.* Nº 32. p.: 4.
- TORRANCE, L., PEAD, M.T., LARKINS, A.P., and BUTCHER, G.W. 1986. Characterization of monoclonal antibodies to a UK isolate of barley yellow dwarf virus. *J. Gen. Virol.* 67: 549-556.
- WEBBY, G.N., LISTER, R.M., and BURNETT, P.A. 1990. Survey of barley yellow dwarf viruses in bread wheat nurseries in South America during 1988 and 1989. *BYDV Newsletter* 3: 20-22.