

VIROLOGIA VEGETAL



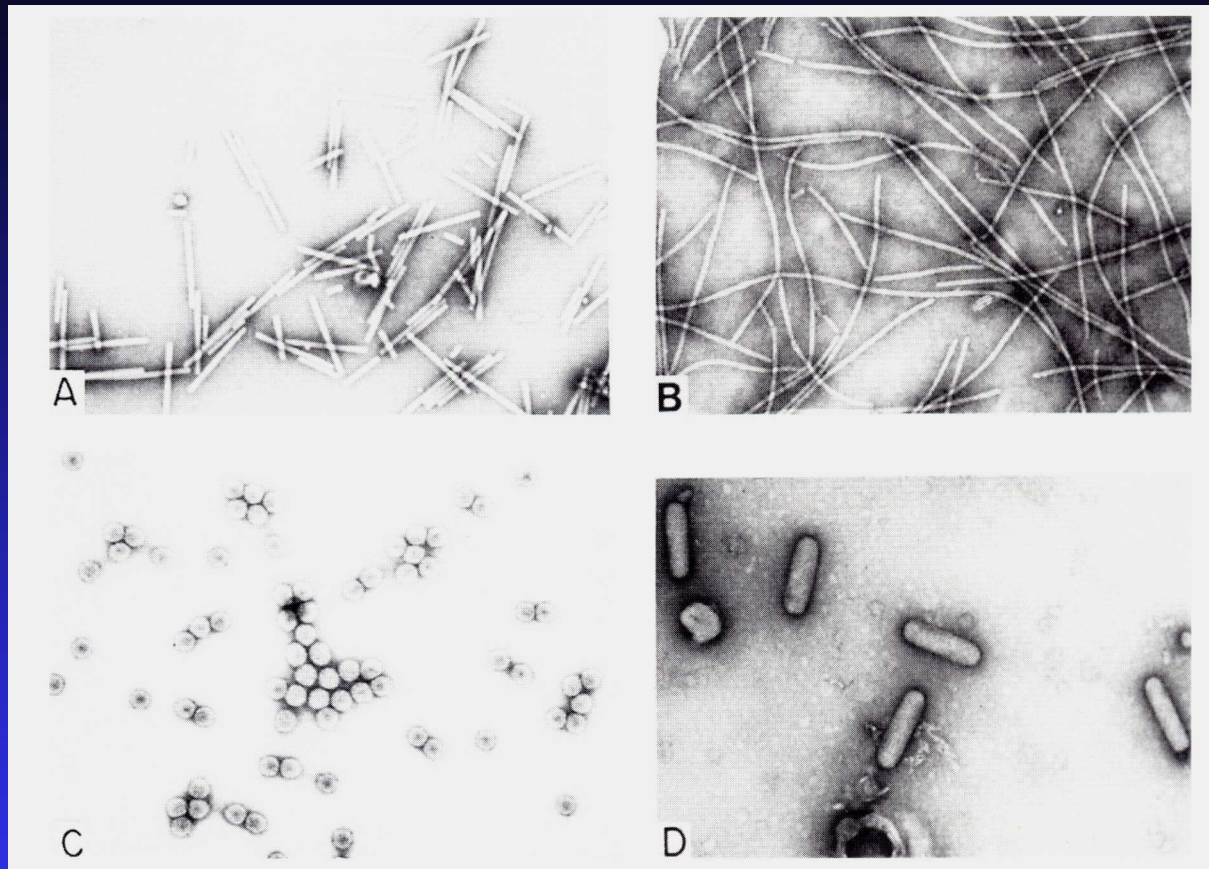
Tulipa variegada, infectada por um vírus

INTRODUÇÃO

- **vírus significa veneno;**
- **descoberta vírus: plantas de fumo com mosaico;**
- **1892: seiva permanecia infecciosa mesmo após a passagem em filtro capaz de reter bactérias;**
- **1937: constatação vírus é formado por proteína e ácido nucléico;**
- **1939: desenvolvimento do 1º Microscópio Eletrônico de Transmissão;**

VÍRUS

- conjunto formado por uma ou mais moléculas de ácido nucléico (RNA ou DNA), de fita simples ou dupla, protegido por uma capa protéica ou lipoprotéica;
- replicação dependente do sistema de síntese de proteínas da célula do hospedeiro;
- **Tamanho e morfologia:**
 - 10^4 a 10^5 nucleotídeos;
 - 30 a 80 nm diâmetro (isométrico);
 - 500 a 2000 nm comprimento (alongados);



Partículas virais: (A) *Tobacco mosaic virus*, 36.000X; (B) *Maize dwarf mosaic virus*, 80.000X; (C) *Cowpea chlorotic mottle virus*, 100.000X; (D) *Broccoli necrotic yellow virus*, 28.000X. Lin & Campbell, 1972.

Conceitos importantes

CAPSÍDEO = capa protéica do vírus;

NUCLEOCAPSÍDEO = capsídeo + ácido nucléico
(terminologia usada para vírus que apresentam envelope);

ENVELOPE = camada dupla, lipoprotéica, que envolve o capsídeo de alguns vírus;

VÍRUS FITOPATOGÊNICOS

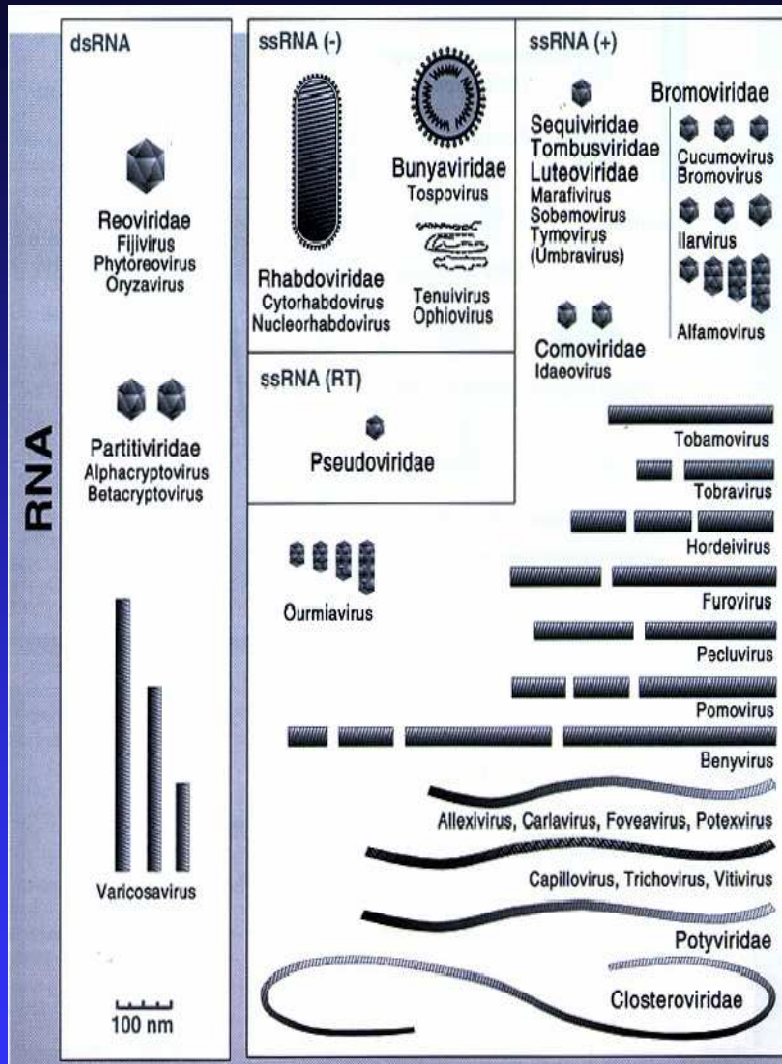
- predominam os de RNA fita simples, polaridade positiva = ssRNA (+), perfazendo 76% do total;
- mono, bi ou tripartidos (necessidade de todas as moléculas na célula hospedeira para causar infecção);
- tamanho: $10^4 - 10^5$ nucleotídeos (bactéria = $10^6 - 10^7$);

VIRÓIDES

- **pequena molécula de RNA circular, sem capa protéica; promove a própria replicação;**
- **menores agentes infecciosos (< 400 nt);**
- **estruturas secundárias de pareamento bases: proteção contra RNAses da planta;**

**Ex.: viróide afilamento tubérculo da batata;
viróide da exocorte citros;**

Classificação dos vírus



Critérios para a classificação dos vírus

FAMÍLIAS:

- tipo ácido nucléico, número fitas;
- estratégia replicação;
- morfologia da partícula;
- presença ou ausência de envelope;

GÊNEROS:

- gama de hospedeiros;
- formas de transmissão;
- características físicas, químicas;

ESPÉCIE:

- homologia entre ácidos nucléicos;
- especificidade por uma espécie de vetor;

Exemplos:

Família *Bunyviridae*

- comporta todos os vírus com RNA de fita simples e polaridade negativa, (-) ss RNA, que são tripartidos e que apresentam envelope e morfologia isométrica;

Gêneros dentro dessa família:

a) *Bunyovírus*

b) *Hantavírus*

c) *Tospovírus*: hospedam plantas e são transmitidos por tripes;

Espécie-tipo dentro de *Tospovírus* = *Tomato spotted wilt virus*

Família *Potyviridae*:

- vírus RNA fita simples e com polaridade positiva, (+) ss RNA;
- sem envelope;

Gêneros:

- a) *Potyvirus*: vírus transmitidos por pulgões;
- b) *Ipomovirus*: vírus transmitidos por mosca-branca;
- c) *Rymovirus*: vírus transmitidos por ácaros;
- d) *Bymovirus*: vírus transmitidos por fungos;

Ortografia

International Committee on Virus Taxonomy

- o nome do vírus é dado em função do hospedeiro e de um sintoma importante provocado;
- o nome é escrito em inglês e em itálico (portanto, não segue a nomenclatura dos demais seres vivos);

Exemplos:

- *Tobacco mosaic virus* – TMV
- *Tomato spotted wilt virus* – TSWV
- *Citrus tristeza virus* – CTV
- *Potato virus Y* – PVY
- *Bean golden mosaic virus* – BGMV
- *Passionfruit woodiness virus* - PWV

SEQÜÊNCIA GERAL REPLICACÃO (ssRNA⁺)

- vírus penetra a célula (necessidade de um vetor);
- liberação ácido nucléico = desnudamento;
- síntese RNA polimerase e moléculas protéicas;
- RNA polimerase sintetizará fitas (–) e posteriormente fitas + de RNA;
- acoplamento dos componentes \Rightarrow novas partículas virais.

Movimento e distribuição na planta

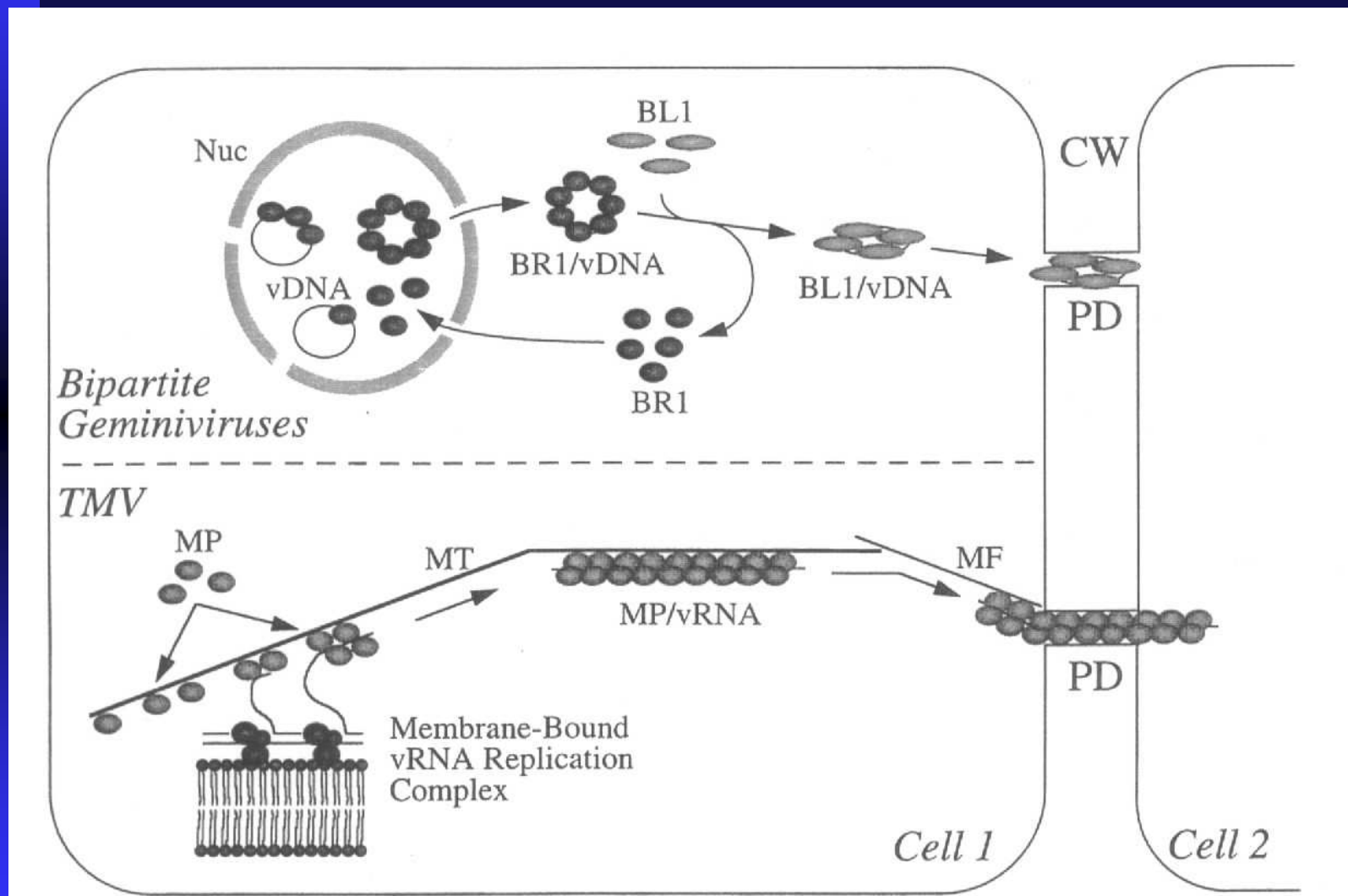
a) Célula a célula

- Movimento lento;
- Passagem para as células vizinhas através dos plasmodesmas;
- Proteínas de Movimento virais: aumentam o limite de exclusão de tamanho dos plasmodesmas;

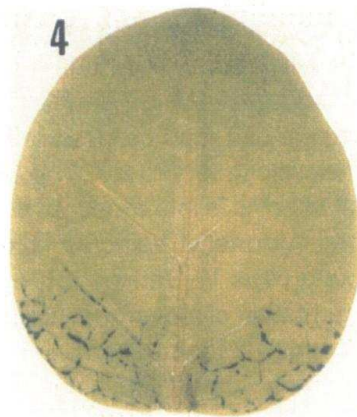
b) Movimento a longas distâncias

- Tecido vascular (floema);
- Percurso viral:
ponto de infecção \Rightarrow raízes \Rightarrow folhas jovens \Rightarrow planta toda
- 10 a 100 vezes mais rápido;

Movimento célula-a-célula (plasmodesmas)

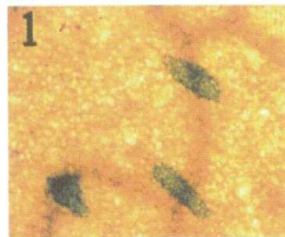
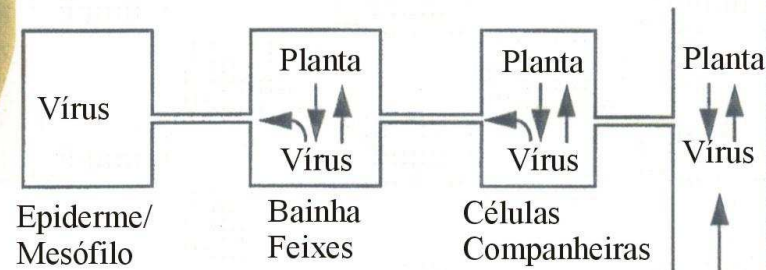


ESQUEMA MOVIMENTAÇÃO VIRAL

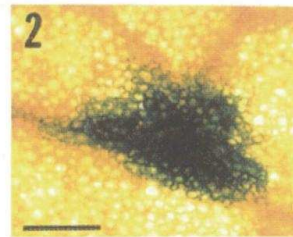


4

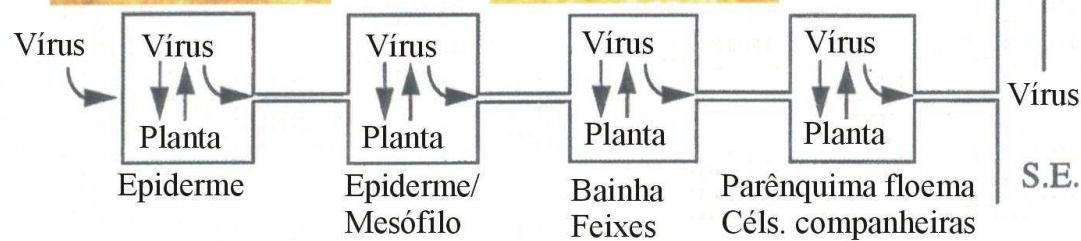
Movimento célula-a-célula -
Folha infectada sistemicamente



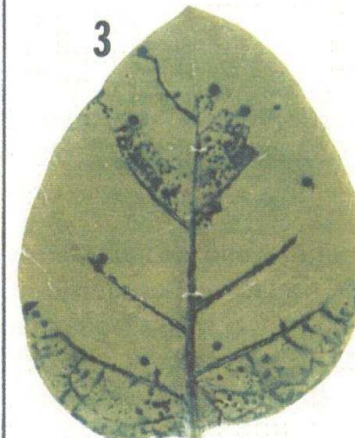
1



2



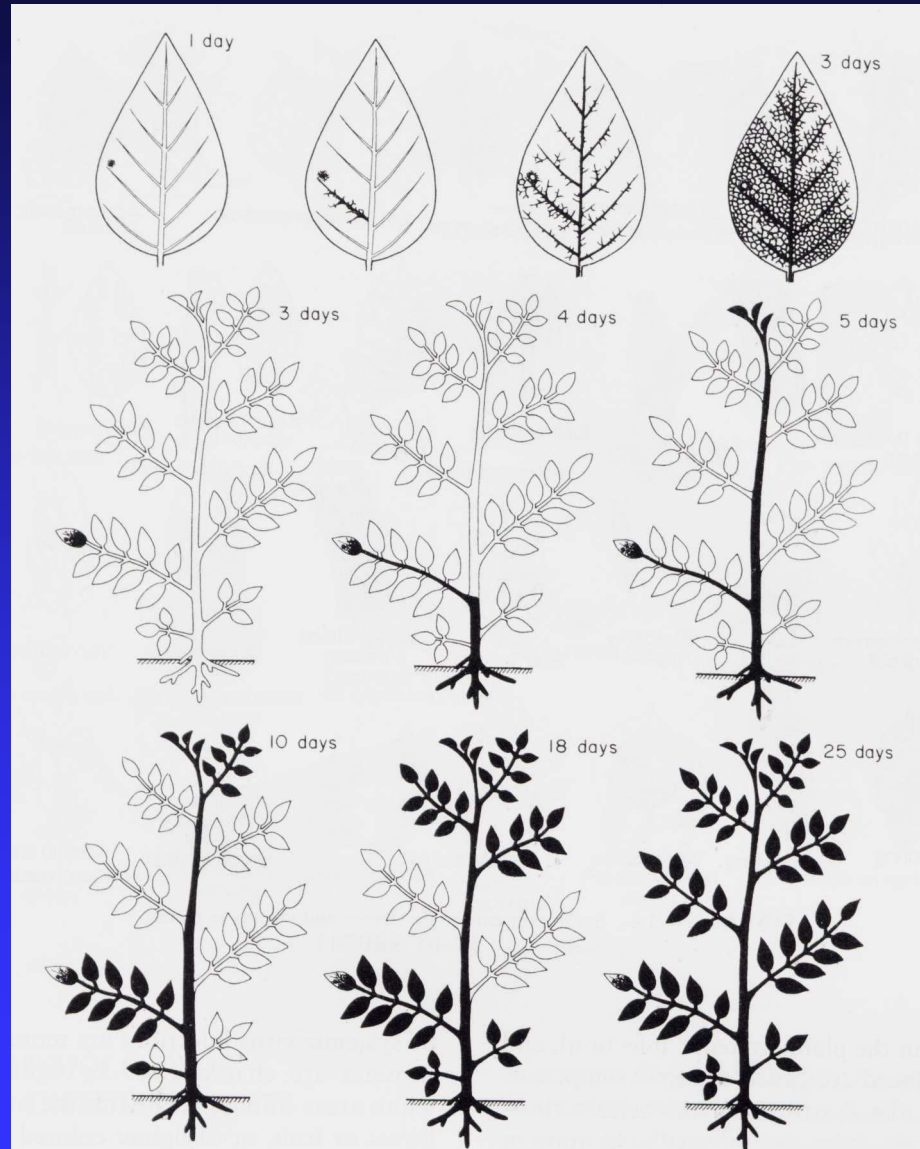
Movimento a
longas distâncias



3

Movimento célula-a-célula - Folha inoculada

ESQUEMA MOVIMENTAÇÃO VIRAL



DIAGNOSE EM VIROLOGIA VEGETAL

1) Sintomatologia



SINTOMAS PROVOCADOS NAS PLANTAS

- Mosaico = o mais comum, acompanhado por bolhas, amarelecimento internerval;
- clareamento nervuras;
- clorose, deformação foliar;
- endurecimento, deformação em frutos; nanismo; sintomas em anéis;





Bolhosidade



Bronzeamento
(vírus do enrolamento da folha – videira)



Clareamento de nervuras

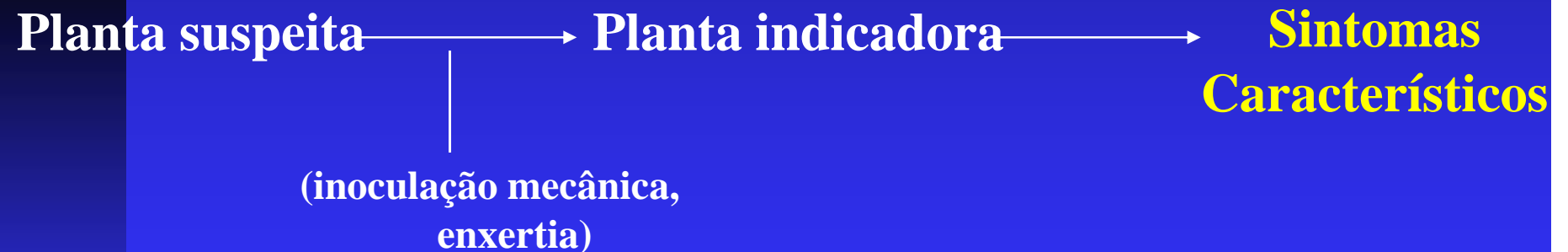
CUIDADO !!!

- deficiências ou toxidez nutricionais, toxemias por insetos, toxidez por herbicidas, características genéticas da planta podem resultar em sintomas semelhantes;

DIAGNOSE EM VIROLOGIA VEGETAL

2) INDEXAÇÃO

Utilização de plantas indicadoras para se detectar um vírus vegetal.



INDEXAÇÃO - Exemplos

a) Em *Datura stramonium*, o vírus do vira-cabeça do tomateiro provoca sintomas de anéis;

b) *Chenopodium quinoa* mostra lesões locais quando inoculada com PWV (vírus que causa doença no maracujazeiro);



DIAGNOSE EM VIROLOGIA VEGETAL

3) **Círculo hospedeiros: avaliação do quadro geral;**

4) **Estudo do modo transmissão (mecanicamente, sementes, insetos);**



DIAGNOSE EM VIROLOGIA VEGETAL

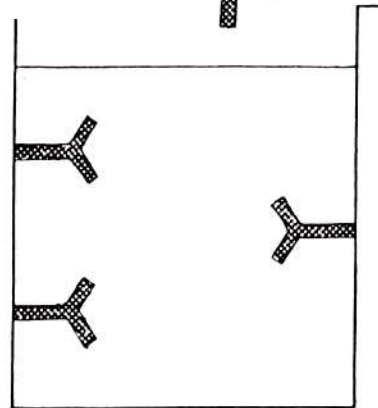
5) Efeitos citopáticos (microscopia eletrônica):
alterações organelas;
aparecimento inclusões = agregados virais;

Ex.: inclusão citoplasmática do tipo cata-vento
é típica de *Potyvirus*.

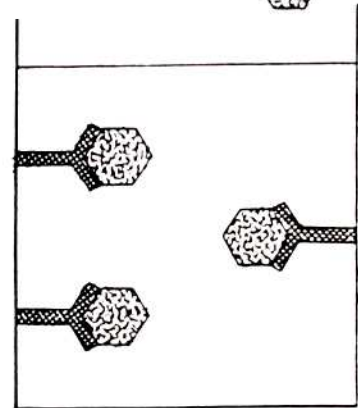


6) Testes serológicos DAS-ELISA

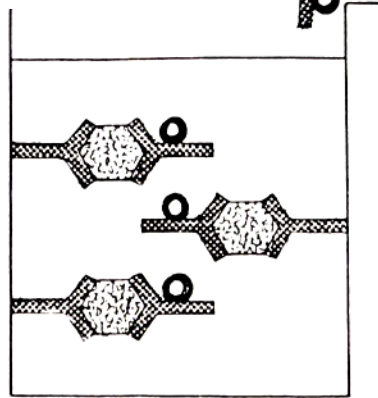
ANTICORPO 



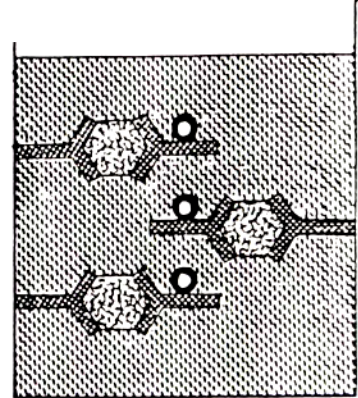
AMOSTRA 



CONJUGADO 



SUBSTRATO



6) Testes serológicos: ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)



Placa de ELISA

Vantagens do teste ELISA

- **boa sensibilidade: detecta 1 ng vírus/ml;**
- **rapidez na obtenção dos resultados (6 a 24 h);**
- **análise de várias amostras de cada vez;**
- **possibilidade de quantificar os resultados;**
- **custo relativamente baixo (reagentes estáveis, baratos, utilizados em pequenas quantidades);**
- **não exige mão-de-obra altamente especializada;**

7) Testes moleculares – PCR (Polymerase Chain Reaction)

Reação: (termociclador)

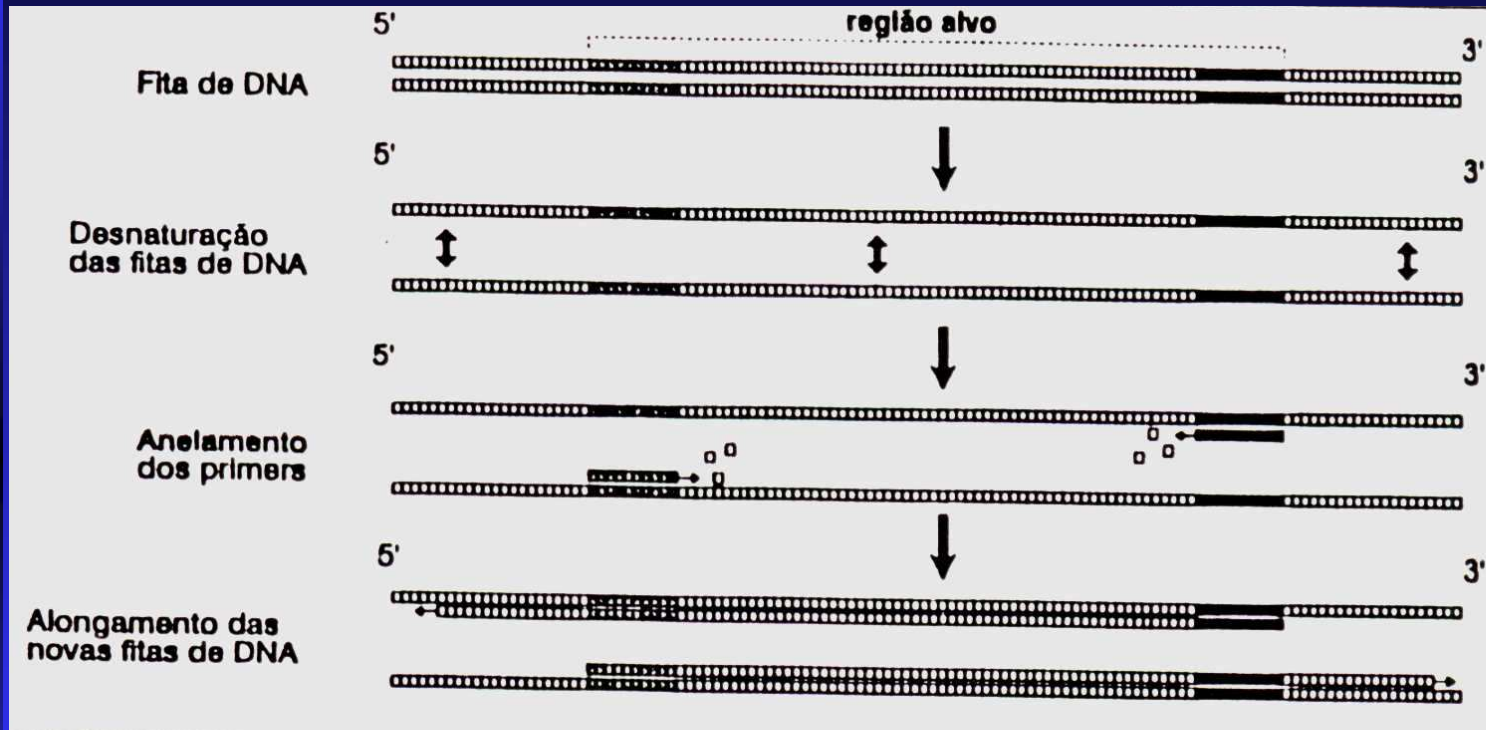
- amostra ácido nucléico (planta suspeita)
- primers específicos
- nucleotídeos
- polimerase
- tampão

(30 – 40 ciclos)

↓
Produtos amplificados

↓
Eletroforese em gel agarose

7) Testes moleculares – RT PCR



Etapas da PCR

Cada
ciclo

- denaturação das fitas
- anelamento primers
- alongamento das fitas de DNA

Eletroforese em gel de agarose dos produtos amplificados por PCR



- Eletroforese = separação fragmentos DNA amplificados
- Visualização em transiluminador de U.V.