

OCURRENCIA DEL VIRUS DEL MOSAICO DE LA CAÑA DE AZÚCAR RAZA MB INFECTANDO CAÑA DE AZÚCAR EN YARITAGUA, VENEZUELA

Maximiliano Méndez¹, Mario José Garrido¹ y Alfonso Ordosgoitti²

¹Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Instituto de Botánica Agrícola, Laboratorio de Virología Vegetal, Apartado 4579, Maracay 2101, Venezuela. ²Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Departamento de Protección Vegetal, Apartado 4653, Maracay 2101.

Parte del Trabajo de Grado presentado por el primer autor para optar al Título de Ingeniero Agrónomo, Mención Fitotecnia, en la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, Maracay.

Recibido: 02 de mayo de 2005.

Aceptado: 15 de diciembre de 2005.

RESUMEN

Méndez, M., Garrido, M. J. y Ordosgoitti, A. 2005. Ocurrencia del virus del mosaico de la caña de azúcar raza MB infectando caña de azúcar en Yaritagua, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 18: 30-36.

Un aislamiento viral colectado en una parcela de caña de azúcar (*Saccharum* sp.) cv D 15841 en la Estación Experimental de Yaritagua, INIA-Yaracuy, fue transmitido mecánicamente a varios huéspedes flexuosos de ca 765 nm de longitud. En células de maíz (*Zea mays*) infectadas con el virus se observaron inclusiones citoplasmáticas del tipo aspas de molino, tubulares y agregados laminares. La estabilidad en savia coincidió con la de los potyvirus. Las pruebas de doble difusión en agar, inmunomicroscopía electrónica y DAS-ELISA evidenciaron que el virus está estrechamente relacionado con el virus del mosaico de la caña de azúcar raza MB (SCMV-MB). El virus fue transmitido de manera no persistente de sorgo (*Sorghum bicolor*) a maíz por el áfido *Schizaphis graminum*, pero no se transmitió a través de la semilla de sorgo. Sobre la base de estos resultados, el virus en estudio fue identificado como SCMV-MB. Este es el primer reporte de esta raza infectando caña de azúcar en condiciones naturales en Venezuela y, posiblemente, en el mundo. Las especies *Rottboellia exaltata*, *Sorghum halepense* y *Sorghum verticilliflorum* pueden ser de utilidad en la detección del SCMV-MB.

ABSTRACT

Méndez, M., Garrido, M. J. and Ordosgoitti, A. 2005. Occurrence of *Sugarcane mosaic virus* strain MB infecting sugarcane in Yaritagua, Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 18: 30-36.

A virus isolate collected in an experimental plot of sugarcane (*Saccharum* sp.) cv D 15841 in the Yaritagua Experimental Station, INIA-Yaracuy, was mechanically transmitted to some differential hosts for its identification. Electron microscopy revealed flexuous rods ca 765 nm long. Cytoplasmic inclusions of the pinwheel, scroll, and laminate aggregated type were observed in maize (*Zea mays*) cells infected with the virus. The stability in sap agreed with that of potyviruses. The agar double-diffusion, immunosorbent electron microscopy and DAS-ELISA tests evidenced that the virus was serologically closely related to *Sugarcane mosaic virus* strain MB (SCMV-MB). The virus was transmitted in a non-persistent manner from sorghum (*Sorghum bicolor*) to maize by the aphid *Schizaphis graminum*, but was not transmitted through sorghum seeds. On the basis of these results, the virus under study was identified as SCMV-MB. This is the first report of this strain infecting sugarcane in natural conditions in Venezuela and, possibly, in the world. The species *Rottboellia exaltata*, *Sorghum halepense*, and *Sorghum verticilliflorum* could be useful in the detection of SCMV-MB.

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar (*Saccharum* sp.) es afectada por numerosas enfermedades, las cuales representan uno de los factores que merman la producción de azúcar en el ámbito mundial. Han sido reportadas más de 126 enfermedades en 109 países y regiones cañeras donde se produce cerca del 60% del azúcar que se consume en el mundo. Por esta razón, se considera de suma importancia conocer la situación fitopatológica de las siembras de caña de azúcar, para estar en condiciones de prevenir o reducir las pérdidas de la cosecha que ocasionan las enfermedades (5).

De todas las enfermedades que afectan a la caña de azúcar, las de origen viral tienen un especial interés por las pérdidas que ocasionan en cultivares susceptibles y porque el control químico es poco eficaz, y por lo general no se posee suficiente material vegetal resistente a todos los virus y sus razas (25,28). Con relación a este tipo de enfermedades, en Venezuela han sido identificados el virus del mosaico de la caña de azúcar (*Sugarcane mosaic potyvirus*, SCMV) (24), el virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar (*Sugarcane yellow leaf virus*, ScYLV) (17) y el virus baciliforme de la caña de azúcar (*Sugarcane bacilliform badnavirus*, SCBV) (14), lo cual es de interés debido a las pérdidas que el primero puede ocasionar y a la reciente detección y diseminación de los últimos (14,22). Hasta el 2002, sólo el mosaico de la caña

de azúcar había sido identificado en Venezuela, y constituye la enfermedad viral más diseminada en las principales zonas productoras de caña de azúcar (10,24,25).

En la Estación Experimental de Yaritagua del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), ubicada en Yaritagua, Edo. Yaracuy, se observó que las plantas de una cepa de caña de azúcar cv D 15841 mostraban síntomas severos de mosaico, característicos de infección viral. Un aislamiento tomado de una de esas plantas fue inoculado mecánicamente a varios huéspedes diferenciales y se observó en ellos síntomas distintos a los causados por las razas del SCMV y por los otros virus que infectan a la caña de azúcar en Venezuela. Por esta razón, se consideró de interés realizar esta investigación, cuyo objetivo fue identificar el virus o raza viral presente en el cv D 15841.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento viral. El inóculo inicial provino de follaje de una planta de caña de azúcar cv D 15841 infectada en condiciones naturales y cultivada en el Banco de Germoplasma de la Estación Experimental de Yaritagua del INIA, estado Yaracuy, la cual exhibía síntomas de mosaico severo, característico de infección viral (Fig. 1). El aislamiento viral fue obtenido mediante inoculación mecánica

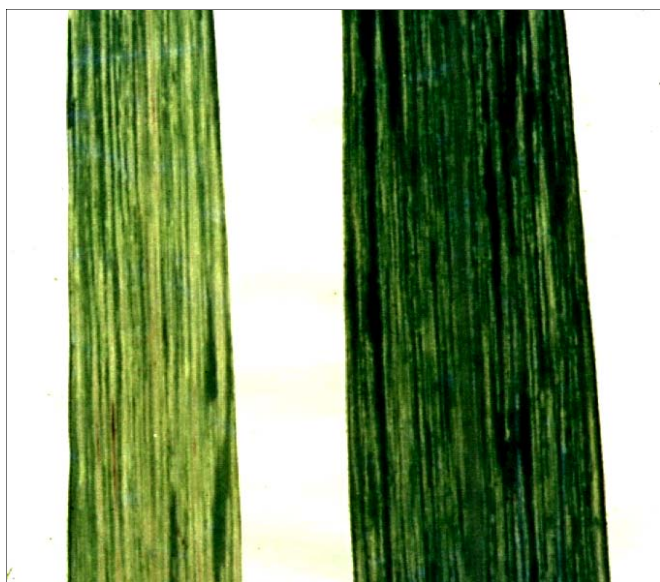


Fig. 1. Síntoma de mosaico severo ocasionado por el virus en estudio en caña de azúcar cv D 15841.

en plantas de caña de azúcar cv CP 29291 libres de virus; las plantas que resultaron infectadas fueron propagadas vegetativamente. Adicionalmente se inocularon plantas de maíz (*Zea mays* L.) y sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) para propagar el virus y realizar las pruebas tendientes a la identificación. Las plantas inoculadas de las diferentes especies fueron mantenidas en un umbráculo para plantas enfermas.

Siembra y mantenimiento de las plantas. Todas las semillas de los materiales utilizados se sembraron en materos plásticos de 470 ml de capacidad con una mezcla de tierra negra y arena en proporción de 3:1 (v/v), respectivamente, esterilizada mediante calor húmedo. Los cultivares de maíz y sorgo fueron sembrados mediante la colocación de 4 ó 5 semillas cubiertas con una capa de suelo (ca 1 cm de espesor). La caña de azúcar se propagó mediante esquejes de una yema viable; se sembró un esqueje por bolsa de polietileno de 3 Kg de capacidad. En el caso de las plantas indicadoras herbáceas se realizaron semilleros antes del transplante.

Las plantas fueron regadas diariamente y semanalmente se les aplicó una solución de un fertilizante comercial NPK (15-15-15) a razón de 10 g/L. Cuando las plantas alcanzaban el estado de 2-3 hojas se procedió a inocularlas, y luego fueron trasladadas a un umbráculo para plantas enfermas, libre de insectos y bajo condiciones parcialmente controladas de temperatura (26-28 °C) y humedad relativa (65-75 %), con una luminosidad promedio de 30.500 lux. Como medida preventiva adicional se efectuaron aplicaciones quincenales de insecticidas a todas las plantas utilizadas en los bioensayos, permitiendo mantenerlas en estado óptimo de crecimiento.

Inoculación mecánica. El aislamiento viral en estudio (AVEE) fue inoculado mecánicamente siguiendo la metodología comúnmente utilizada para transmitir virus de plantas (13). Después de la inoculación, a las plantas se les lavaron las hojas y se dejaron en el laboratorio a 20-23 °C y 65-75% hr por 18-24 h. Posteriormente, fueron colocadas en el invernadero, bajo las condiciones descritas en la sección siembra y mantenimiento de plantas.

De cada huésped diferencial fueron inoculadas 20-25 plantas. La última observación de los síntomas se realizó a los 30 d después de la inoculación. Como chequeo rutinario, follaje de los huéspedes que no mostraban síntomas al momento de la evaluación final fue reinoculado sobre plantas de maíz cv Bonanza, en estado de 3-4 hojas, para determinar si se trataba de algún portador asintomático.

Huéspedes diferenciales. Se utilizó el grupo de huéspedes propuestos por Gingery y Gordon (15) para identificar los principales virus que son transmisibles mecánicamente al maíz, ya que algunos de ellos también infectan a la caña de azúcar (Cuadro 1). Además, se utilizó el grupo de cultivares de sorgo propuesto por Tosic *et al.* (34), los cuales permiten diferenciar a los potyvirus SCMV, mosaico enanizante del maíz (*Maize dwarf mosaic potyvirus*, MDMV), mosaico del sorgo (*Sorghum mosaic potyvirus*, SrMV) y mosaico del pasto johnson (*Johnsongrass mosaic potyvirus*, JGMV) (Cuadro 2). Igualmente, se utilizaron los cultivares de caña de azúcar que han sido empleados tradicionalmente para diferenciar razas del SCMV y un grupo de plantas indicadoras de virus utilizadas rutinariamente en laboratorios de virología vegetal (1,4,33; Cuadro 3).

Transmisión por áfidos. Se utilizaron adultos ápteros de las especies *Rhopalosiphum maidis* (Fitch), *Schizaphis graminum* (Rondani) y *Pentalonia nigronervosa* Coquerel provenientes de crías sanas. Para las pruebas de transmisión se siguió la metodología citada por Garrido y Cermeli (9) y fueron repetidas tres veces en distintas ocasiones. Como fuente de inóculo se utilizó plantas de sorgo cv Río infectadas con el AVEE de 20-25 d de edad. A los insectos se les permitió el periodo de acceso a la inoculación en plantas de maíz cvs Bonanza, Golden Beauty o Golden Cross Bantam. Después de la inoculación, los áfidos fueron eliminados con un insecticida comercial y las plantas se llevaron a umbráculo para plantas enfermas bajo las condiciones antes mencionadas.

Estabilidad en savia. Las propiedades físicas del jugo crudo se determinaron de acuerdo a la metodología comúnmente utilizada en laboratorios de virología vegetal (36). Estas pruebas fueron repetidas dos veces en ocasiones distintas. Se utilizaron 15-20 plantas de sorgo cv Río por cada tratamiento. La savia infectiva para estas pruebas provenía de plantas de sorgo cv Río de 21-30 d de edad infectadas con el AVEE.

Transmisión por semilla. Plantas jóvenes de sorgo cv Río, exhibiendo síntomas típicos de la enfermedad, fueron mantenidas en crecimiento en un umbráculo libre de insectos y bajo condiciones parcialmente controladas hasta la floración y posterior cosecha de las panojas. Estas plantas habían sido infectadas con el AVEE en estado de 2-3 hojas. Una vez madura la semilla se cosechó y se le dio un tratamiento de secado al aire libre en umbráculo durante 15 d. Después de este acondicionamiento, se sembraron lotes de 100 semillas en materos de 2,5 L de capacidad para determinar si las plántulas provenientes del material sembrado desarrollaban los síntomas de la enfermedad. Las evaluaciones se efectuaron a los 2, 21 y 27 días después de la germinación.

Microscopía electrónica. Se utilizaron las técnicas de enjuague y de microscopía electrónica inmunoadsorbente

para determinar la forma y tamaño de las partículas virales, así como la relación serológica del AVEE con otros virus.

a) Enjuagues (*dipping*). En 1-2 gotas de agua destilada se colocaron pequeñas secciones de tejido de maíz cv Bonanza infectado con el AVEE. Una muestra de esas gotas se depositó en una rejilla cubierta con colodión y reforzada con carbón. Luego, fueron coloreadas por tinción negativa con ácido fosfotungstato al 2% neutralizado a pH 7,0 y observada en un microscopio electrónico (18).

b) Microscopía electrónica inmunoabsorbente. Se utilizó un extracto del AVEE parcialmente purificado de acuerdo con Christie *et al.* (6) y antisuero específico contra el SCMV-MB suministrado por B.E.L. Lockhart (University of Minnesota, EE.UU.). Una rejilla del microscopio electrónico recubierta con carbón se colocó sobre una gota del antisuero diluido 1:1000 en 10 mM Tris-HCl, pH 7,4, durante 15 min. Luego, se lavó la rejilla con 20 gotas de 10 mM Tris-HCl, pH 7,4 y se colocó sobre una gota de la suspensión viral parcialmente purificada (AVEE) durante 1 h. La rejilla se enjuagó con 15 gotas de 10 mM Tris-HCl, luego 15 gotas de agua destilada y por último 15 gotas de 2% fosfotungstato sódico conteniendo 100 mg/ml de baccitracina, pH 7, y se examinó al microscopio electrónico (2,21).

Pruebas serológicas

a) Doble difusión en agar. Se utilizó el método de Ouchterlony siguiendo las indicaciones de Purcifull (27). En la ejecución de estas pruebas se utilizó antisuero contra la raza MB del SCMV (SCMV-MB), el cual fue suministrado por R. W. Toler (Texas A & M University, EE.UU.). Como antígenos se incluyeron el AVEE, MDMV-A y SCMV-D, y para su preparación se utilizaron hojas de plantas de sorgo cv Río de 28-30 d de edad inoculadas en estado de 2-3 hojas.

b) DAS-ELISA. Se usó un estuche comercial (Agdia, EE.UU.) con antisuero policlonal contra el SCMV-MB; además, se utilizó otro antisuero contra el SCMV-MB, el cual fue suministrado por R. Louie (Ohio State University, EE.UU.). Al anticuerpo de cobertura suministrado por la empresa Agdia se le realizó una modificación, debido a que en inmunoensayos previos no se obtuvo reacción siguiendo el protocolo recomendado por la empresa. La modificación consistió en diluir el anticuerpo concentrado 1X en el *buffer* general de extracción (sulfato de sodio + PVP + azida de sodio + albúmina de huevo + tween 20) y no en el *buffer* de cobertura (carbonato de sodio + bicarbonato de sodio + azida de sodio). Para sensibilizar la placa se usaron diluciones 1:100 y 1:200; el resto del procedimiento seguido fue el sugerido por Agdia. La reacción (absorbancia) se midió en un lector de placas de microtitulación, marca Bio-Rad, modelo 550. Se consideró una muestra positiva cuando presentaba una absorbancia dos veces superior a la absorbancia del control sano.

RESULTADOS

Reacción de los huéspedes diferenciales. La respuesta de los huéspedes diferenciales inoculados con el AVEE aparece registrada en los Cuadros 1, 2 y 3.

La sintomatología manifestada por las diferentes especies fue muy similar en las tres repeticiones. De los huéspedes propuestos por Gingery y Gordon (15) sólo fueron infectados por el AVEE el maíz cv Bonanza y los cultivares de sorgo Atlas y Río (Cuadro 1). Asimismo, de los huéspedes diferenciales señalados por Tosic *et al.* (34) el AVEE infectó solamente a los cultivares NM-31, Río y Atlas, y no infectó al resto de los cultivares de sorgo ni a la avena (Cuadro 2). En el caso de los cultivares de maíz y sorgo que resultaron susceptibles los síntomas sistémicos aparecieron a los 5-6 d después de la inoculación. El AVEE no infectó a un grupo de plantas indicadoras de virus usadas rutinariamente en laboratorios de virología vegetal ni a los cultivares de caña de azúcar CP 31294 y CP 31588. Sin embargo, infectó a la maleza paja peluda y al cultivar de caña de azúcar CP 29291 (Cuadro 3).

Transmisión por insectos. El virus fue transmitido de manera no persistente de sorgo a maíz por el áfido *S. graminum*. Sólo en el experimento donde se utilizó maíz cv Bonanza como indicador, el 20 % de las plantas (2/10) mostró síntomas de mosaico, típico de la enfermedad. *P. nigronervosa* y *R. maidis* no fueron capaces de transmitir el AVEE bajo las condiciones en las cuales se realizó el ensayo.

Estabilidad en savia. Los resultados correspondientes a este criterio fueron el producto de tres repeticiones en distintos periodos del año. El AVEE presentó un punto de inactivación térmica entre 50 y 55 °C, un punto final de dilución entre 10⁻¹ y 10⁻² y una longevidad in vitro de 24-48 h a 25-30 °C.

Transmisión a través de la semilla. Fueron evaluadas un total de 3057 plantas provenientes de semillas de sorgo cv Río infectado con el AVEE. Ninguna de estas plantas presentó síntomas característicos de infección viral.

Microscopía electrónica (*dipping*). Las preparaciones de enjuague realizadas a partir de tejidos de plantas de maíz infectadas mecánicamente con el AVEE revelaron la presencia de partículas virales en forma de filamentos flexuosos con un tamaño que oscilaba entre 750 y 780 nm, con un promedio de 765 nm (Fig. 2). El examen al microscopio electrónico de los cortes ultrafinos de tejido foliar de maíz infectado con el AVEE mostró la presencia de inclusiones

Cuadro 1. Reacción de los huéspedes diferenciales propuestos por Gingery y Gordon (15) a la inoculación mecánica con el aislamiento viral en estudio⁽¹⁾.

Huésped	Síntomas
Maíz (<i>Zea mays</i> L.) cv Bonanza	Mosaico
Trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.) cv Monon	Sin síntomas
Pasto johnson (<i>Sorghum halepense</i> (L.) Pers.)	Sin síntomas
Cebada (<i>Hordeum vulgare</i> L.) cv Pennrad	Sin síntomas
Avena (<i>Avena sativa</i> L.) cv Garland	Sin síntomas
Sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench) cv Atlas	Lesiones locales necróticas
Sorgo (<i>S. bicolor</i>) cv Río	Lesiones locales necróticas, mosaico

⁽¹⁾ La última evaluación se realizó a los 30 d después de la inoculación mecánica.

Cuadro 2. Reacción de algunos de los cultivares de sorgo diferenciales propuestos por Tomic *et al.* (34) a la inoculación mecánica con el aislamiento viral en estudio⁽¹⁾.

Cultivar	Síntomas
Tx-430	Sin síntomas
NM-31	Lesiones locales necróticas
SA-8735	Sin síntomas
OKY8	Sin síntomas
BTx-398	Sin síntomas
Atlas	Lesiones locales necróticas
Río	Lesiones locales necróticas, mosaico
QL-11	Sin síntomas
Tx-2786	Sin síntomas
Q7539	Sin síntomas

⁽¹⁾ La última evaluación se realizó a los 30 d después de la inoculación mecánica.

citoplasmáticas del tipo aspas de molino, tubulares y laminares. En algunas rejillas no se observaron molinetes o tubulares; sin embargo, las inclusiones laminares siempre estaban presentes (Fig. 4). No se realizaron observaciones sobre otras alteraciones citológicas inducidas por el AVEE.

Microscopía electrónica inmunoabsorbente. En las rejillas sensibilizadas se observaron las partículas parcialmente purificadas, con forma de filamentos flexuosos, atrapadas por el antisuero contra el SCMV-MB que recubría las rejillas del microscopio electrónico. Esto evidenció una estrecha relación serológica entre el AVEE y el SCMV-MB. Muchas partículas se observaron fragmentadas como consecuencia del proceso de purificación parcial al que fueron sometidas previamente.

Serología (doble difusión en agar). En las pruebas de doble difusión en agar, utilizando antisuero contra el SCMV-MB y como antígenos el AVEE y aislamientos del MDMV-A y SCMV-D, se observaron bandas de precipitación sólo con el AVEE y SCMV-D. Sin embargo, la reacción más evidente fue con el AVEE. El antisuero no reaccionó con proteína de planta sana (Fig. 3).

DAS-ELISA. Utilizando el antisuero de Agdia el control sano presentó un valor promedio de absorbancia de 0,154 nm y el control enfermo mostró un valor promedio de 0,340 nm. El AVEE exhibió un valor promedio de 0,387 nm de absorbancia, superando en casi tres veces el valor del control sano y superando levemente al control positivo. Con el antisuero proveniente de la Universidad de Ohio, EE.UU., el control sano presentó un valor promedio de absorbancia de 0,052 nm y el control enfermo un valor promedio de 0,178 nm. El AVEE tuvo una lectura promedio de 0,108 nm de absorbancia, duplicando el valor promedio del control sano.

DISCUSIÓN

La reacción de los huéspedes diferenciales inoculados con el AVEE evidencia que se trata de un virus con un rango

Cuadro 3. Reacción de algunas plantas indicadoras inoculadas mecánicamente con el aislamiento viral en estudio⁽¹⁾.

Especie	Síntomas
<i>Chenopodium album</i> L.	Sin síntomas
<i>Chenopodium amaranticolor</i> Coste & Reyn.	Sin síntomas
<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	Sin síntomas
<i>Cucumis sativus</i> L.	Sin síntomas
<i>Datura metel</i> L.	Sin síntomas
<i>Datura stramonium</i> L.	Sin síntomas
<i>Gomphrena globosa</i> L.	Sin síntomas
<i>Nicotiana glutinosa</i> L.	Sin síntomas
<i>Nicotiana tabacum</i> L. cv Burley	Sin síntomas
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. cv Tacarigua	Sin síntomas
<i>Rottboellia exaltata</i> L.	Mosaico
<i>Saccharum</i> sp.	
cv CP 31294	Sin síntomas
cv CP 31588	Sin síntomas
cv CP 29291	Mosaico
cv Co-281	Sin síntomas
<i>Sorghum halepense</i> (L.) Pers.	Sin síntomas
<i>Sorghum verticilliflorum</i> (Steud.) Stapf	Sin síntomas
<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp. cv Tuy	Sin síntomas
<i>Zea mays</i> L. cv Ohio-28	Mosaico

⁽¹⁾ La última evaluación se realizó a los 30 d después de la inoculación mecánica.

de huéspedes limitado a miembros de la familia Gramineae (Poaceae), ya que infectó a maíz, sorgo, caña de azúcar y paja peluda, y no infectó a las especies de dicotiledóneas utilizadas.

Tomando en consideración la transmisión mecánica como carácter para diferenciar los distintos virus que infectan a la caña de azúcar, se puede descartar al ScYLV (virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar) (29), al virus de la enfermedad de Fiji (*Fiji disease virus*, FDV) y al virus del estriado de la caña de azúcar (*Sugarcane streak virus*, SSV) (46), ya que no se transmiten mecánicamente y el AVEE si se transmitió. De acuerdo a esta consideración, el agente causal de la enfermedad en estudio podría tratarse de alguno de los siguientes virus: SCMV, SrMV, JGMV, SCBV o virus del mosaico suave de la caña de azúcar (*Sugarcane mild mosaic virus*, SCMMV) (20,21,32).

Al comparar la reacción de los cultivares propuestos por Gingery y Gordon (15) y Tomic *et al.* (34) con relación a los principales virus que afectan al sorgo y al maíz, y que son transmitidos mecánicamente, se observa que existe una estrecha relación entre el AVEE y el SCMV, debido a la similitud de la sintomatología exhibida por los materiales evaluados con los inducidos por el SCMV. Estos mismos resultados permiten descartar al JGMV, debido a que este virus infecta a la avena (*Avena sativa*) y al pasto johnson y el AVEE no los infecta. Además, el AVEE no infectó al sorgo cv OKY8, el cual permite diferenciar al SCMV del JGMV, ya que este último induce en el mencionado cultivar estrías necróticas rojizas, mosaico severo y achaparramiento como

Fig. 2. Microfotografía electrónica de la partícula del virus en estudio a partir de un preparado de enjuague. La barra representa 100 nm.

carácter diferencial (34). Por otra parte, el AVEE no infectó al pasto johnson, mientras que el MDMV si lo infecta. Esto descarta al MDMV como agente causal de esta enfermedad en caña de azúcar. El SCMV no infecta al pasto johnson (33).

La reacción obtenida en los cultivares de caña de azúcar CP 31294 y CP 31588 (Cuadro 3) permiten descartar al SrMV como agente causal de la enfermedad, debido a que las razas de este virus producen mosaico suave, clorosis, necrosis y en algunos casos achaparramiento severo en estos cultivares (1,30), mientras que el AVEE no los infectó.

Al observar al microscopio electrónico partículas del AVEE en forma de filamentos flexuosos de *ca* 765x12 nm (Fig. 2), típicas de los potyvirus, permitió descartar a los siguientes virus: ScYLV, presenta partículas isométricas de 25-29 nm de diám (35); SCBV, posee partículas baciliformes de 131x31 nm (20); SCMMV, con partículas de 1500-1600 nm de longitud x 12 nm de ancho (21); FDV, que exhibe partículas isométricas de 71 nm (4); SSV, con partículas geminadas de 20x30 nm (4). Considerando la morfología de la partícula, sólo uno de los potyvirus SrMV, SCMV y JGMV podría ser el agente causal de la enfermedad en estudio. No obstante, el SrMV y el JGMV ya habían sido descartados por huéspedes diferenciales (30,33), quedando sólo el SCMV como posible agente causal.

El AVEE indujo en las células de maíz infectadas inclusiones citoplasmáticas del tipo molinetes, laminares y tubulares (Fig. 4). Lesemann *et al.* (19) encontraron que de los potyvirus SrMV, SCMV, MDMV y JGMV solamente el SCMV produce simultáneamente en tejido de maíz infectado inclusiones del tipo molinetes, laminares y tubulares. De acuerdo a las consideraciones antes expuestas, el AVEE debe tratarse de una raza perteneciente al SCMV, quedando descartados todos los demás virus que se transmiten mecánicamente a la caña de azúcar.

Los valores de la estabilidad en savia (propiedades físicas del jugo crudo) del AVEE coinciden con los valores mencionados por Shukla *et al.* (31) para la familia Potyviridae y concuerdan con los señalados por otros investigadores para el SCMV (10,33).

El AVEE al ser transmitido mediante el áfido *Schizaphis graminum* de manera no persistente permitió descartar



Fig. 3. Prueba de doble inmunodifusión en agar utilizando antisuero (AS) contra el virus del mosaico de la caña de azúcar raza MB (SCMV-MB). Los orificios laterales contenían extractos de plantas infectadas con el virus en estudio (1), virus del mosaico enanizante del maíz raza A (MDMV-A) (2), SCMV-D (3) y savia de planta sana (4).

nuevamente a los virus FDV, SCBV, SCMMV y SSV que tienen por vectores a otros insectos. Esta forma de transmisión es característica del SCMV y clave en la epidemiología de esta enfermedad (33). El AVEE no se transmitió a través de la semilla, lo cual coincide con los resultados citados por otros investigadores para el SCMV y otros potyvirus relacionados (31,33).

La fuerte reacción entre el AVEE y el antisuero contra el SCMV-MB en pruebas de doble difusión en agar evidencia una mayor afinidad entre éstos que con el SCMV-D. La reacción leve entre el antisuero contra el SCMV-MB y el SCMV-D es normal, ya que estas razas pertenecen al mismo virus y se ubican en el mismo grupo (potyvirus). Esta reacción, por lo general, es debida a la presencia en los antisueros



Fig. 4. Cortes ultrafinos de tejido de maíz cv Bonanza infectado con el virus en estudio mostrando inclusiones citoplasmáticas del tipo molinetes (M), laminares (L) y tubulares (T). La barra representa 500 nm.

policlonales de anticuerpos contra epitopes de la región central conservada de la capa proteica, la cual presenta una alta homología en la secuencia de todos los integrantes de la familia potyviridae. Por lo tanto, estos anticuerpos reconocen a la mayoría de los virus incluidos en esta familia (31,33).

Sobre la base de los criterios antes expuestos (transmisión mecánica, huéspedes diferenciales, microscopía electrónica, serología, propiedades físicas y transmisión por vectores) la enfermedad en estudio es causada por el SCMV. Los síntomas ocasionados por este virus fueron descritos por primera vez en Venezuela en 1927 (3). Lozada (23) propuso la existencia de varias razas, aunque no sabía cuales. Posteriormente, Herold y Weibel (16) observaron la partícula del SCMV en tejidos de caña de azúcar, y Ordosgoitti y Malaguti (26) detectaron el virus en siembras comerciales de maíz y sorgo. Hasta el momento han sido identificadas en el país cuatro razas del SCMV: A, B, H y D (10,24).

Las razas del SCMV han sido identificadas tradicionalmente por la sintomatología que inducen en un grupo de cultivares de caña de azúcar (1,33). Las razas A, B, D, E y F se diferencian por la sintomatología inducida en el cultivar de caña de azúcar CP 31294. La raza C infecta el cultivar Co-281, mientras que las razas A y H son diferenciadas fácilmente en el cultivar CP 31588 (1). La raza SCMV-MB no infecta a los cvs de caña de azúcar CP 31294 y CP 31588 (33). Una reacción similar indujo el AVEE, ya que no infectó a los cultivares de caña de azúcar CP 31294, CP 31588 y Co-281. Estos resultados permiten inferir que el AVEE se trata de un aislamiento muy similar al SCMV-MB, descartándose las demás razas del SCMV.

La reacción de los huéspedes diferenciales propuestos por Tomic *et al.* (34) inoculados con el AVEE coincide con lo propuesto por esos investigadores para el SCMV-MB. Este resultado refuerza lo mencionado en el punto anterior. Es decir, el aislamiento viral en estudio corresponde a un aislamiento del SCMV-MB.

Por otra parte, las pruebas de microscopía electrónica inmunoabsorbente y ELISA evidenciaron una estrecha afinidad entre el AVEE y el SCMV-MB. Todos estos resultados permiten concluir que la sintomatología observada en el cv D 15841 en la Estación Experimental de Yaritagua del INIA es producida por un aislamiento del SCMV-MB. Este es el primer reporte de esta raza infectando caña de azúcar en condiciones naturales en Venezuela, y posiblemente en el mundo, ya que en la literatura consultada no se encontraron referencias vinculadas con la identificación de esta raza en caña de azúcar. Si bien esta es la primera cita del SCMV-MB infectando caña de azúcar en Venezuela, ya había sido señalada infectando maíz en San Javier, estado Yaracuy (7) y sorgo en Maracay, estado Aragua (8).

Aunque la paja peluda (*R. exaltata*) no es considerada un huésped diferencial para razas del SCMV, en esta investigación mostró un comportamiento que podría ser de utilidad en la detección del SCMV-MB. Al inocular *R. exaltata*, pasto johnson (*S. halepense*) y falso johnson (*S. verticilliflorum*) con SCMV-MB se encontró que esta raza sólo infectó a *R. exaltata*, induciéndole un mosaico severo. Tres aislamientos tomados de esta maleza fueron identificados como SCMV-MB mediante huéspedes diferenciales.

Sobre la base de estos resultados, las especies *R. exaltata*, *S. halepense* y *S. verticilliflorum* pueden ser de utilidad en la identificación del SCMV-MB. En condiciones de campo *R. exaltata* constituye una fuente de inóculo y sirve de huésped de insectos vectores (áfidos). En Venezuela esta gramínea ha sido citada como huésped natural del MDMV y SCMV-MB (11,12).

La identificación de esta raza infectando caña de azúcar plantea la necesidad de evaluar los materiales comerciales y experimentales cultivados actualmente en el país, para así seleccionar los genotipos con mayor resistencia. Asimismo, se considera de interés realizar estudios tendentes a conocer la distribución de esta raza en las principales zonas productoras de caña de azúcar en Venezuela.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Dr. B. E. L. Lockhart (University of Minnesota, EE.UU.) y al TSU, M.Sc. A. González (Fundación DANAC, San Felipe, Yaracuy) por su ayuda en las pruebas de inmunomicroscopía electrónica y Elisa, respectivamente. Asimismo, a la Ing. Agr. Rosaura Briceño y a la TAI Milagros Niño (INIA-Yaracuy) por permitir realizar el muestreo en el Banco de Germoplasma de caña de azúcar de la Estación Experimental Yaritagua. Al Dr. M. Cermeli y al Téc. F. Centeno (INIA-CENIAP, Maracay) por la identificación de los áfidos y colaboración en el trabajo de microscopía electrónica, respectivamente.

LITERATURA CITADA

1. Abbott, E.V. and Tippett, R.L. 1966. Strains of sugarcane mosaic virus. U.S. Dept. Agric. Techn. Bull. N° 1340. 25 pp.
2. Ahlawat, Y.S., Pant, R.P., Lockhart, B.E.L., Srivastana, M., Chakraborty, N.K. and Varma, A. 1996. Association of a badnavirus with citrus mosaic disease in India. Plant Dis. 80: 590-592.
3. Álamo, L. 1927. El mosaico, matizado o rayas amarillas de la caña de azúcar. Caracas, Ministerio de Fomento. 55 pp.
4. Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J. and Watson, L. 1996. Viruses of plants: Descriptions and lists from the VIDE Database. CAB Internacional, New York. 1484 pp.
5. China, M., Nass, H., Daboín, C. y Díez, M.D. 2000. Enfermedades y daños de la caña de azúcar en Latinoamérica. Imprecolor, C.A., Venezuela. 108 pp.
6. Christie, S.R., Purcifull, D.E., Crawford, W. and Hamed, N.A. 1987. Electron microscopy of negative stained clarified viral concentrates obtained from small tissue samples with appendices on negative staining techniques. IFAS, University of Florida, Gainesville. Bulletin 872. 45 pp.
7. D'Lima, C.M. and Garrido, M.J. 1995. First report of sugarcane mosaic virus strain MB in Venezuela. Plant Dis. 79:212.
8. Garrido, M.J. 2000. First report of sugarcane mosaic virus strain MB infecting sorghum in Venezuela. Journal of Plant Pathology 82:65.
9. Garrido, M.J. y Cermeli, M. 1994. Transmisión del virus del mosaico enanizante del maíz raza Venezolana por dos especies de áfidos. Bol. Entomol. Venez. 9: 123-124.
10. Garrido, M.J. y Cuello de Uzcátegui, R. 2000. Primer reporte de la raza D del virus del mosaico de la caña de azúcar infectando caña de azúcar en Venezuela. Fitopatología 35: 59-65.1.
11. Garrido, M.J. y Trujillo, G.E. 1989. Algunos hospederos naturales del virus del mosaico enanizante del maíz-raza venezolana (MDMV-V). Fitopatol. Venez. 2: 45, 1989.
12. Garrido, M.J., Trujillo, G.E. y Méndez, M. 1996. *Rottboellia exaltata*: huésped natural de la raza MB del virus del mosaico de la caña de azúcar en Venezuela. Fitopatol. Venez. 9: 17.

13. Garrido, M.J., Trujillo, G.E. y Uzcátegui, R. C. 1996. Identificación de la raza A del virus del mosaico enanizante del maíz infectando sorgo en Venezuela. *Interciencia* 21: 166-170.
14. Garrido, M.J., Ordosgoitti, A. y Lockhart, B.E.L. 2004. Presencia del virus baciliforme de la caña de azúcar en Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 17: 38-42.
15. Gingery, R.E. and Gordon, D.T. 1981. Assays for viruses and micoplasmas infecting maize. *In* Virus and viruslike diseases of maize in the United States. D.T. Gordon, J.K. 16. Knoke, and G.E. Scott (eds.). Ohio, EE.UU. Southern Cooperative Series Bulletin 247. pp 19-24.
16. Herold, F. and Weibel, J. 1963. Electron microscopic demonstration of sugarcane mosaic virus particles in cells of *Saccharum officinarum* and *Zea mays*. *Phytopathology* 53: 469-471
17. Izaguirre-Mayoral, M. L., Carballo, O., Alceste, C., Romano, M. and Nass, H.A. 2002. Physiological performance of asymptomatic and yellow leaf syndrome-affected sugarcane in Venezuela. *J. Phytopathology* 150: 13-19.
18. Klomparens, K.L., Gillet, J.M., and Ramsdell, D.C. 1988. Electrón microscopy. *In* Laboratory exercises in plant pathology: And instructional kit. A.B.A.M. Baudoin (ed.). Minnesota, APS Press. pp. 130-133.
19. Lesemann, D.E., Shukla, D.D., Tomic, M., and Huth, W. 1992. Differentiation of the four viruses of the sugarcane mosaic virus complex based on cytopathology. *Potyvirus Taxonomy*. O. W. Barnett (ed.). Archives of Virology, Supp. 5.
20. Lockhart, B.E.L. and Autrey, L.J.C. 1988. Occurrence in sugarcane of a bacilliform virus related serologically to banana streak virus. *Plant Dis.* 72: 230-233.
21. Lockhart, B.E.L., Autrey, L.J.C., and Comstock, J.C. 1992. Partial purification and serology of sugarcane mild mosaic virus, a mealybug-transmitted closterolike virus. *Phytopathology* 82: 691-695.
22. López, M., Hidalgo, W., Simosa, N., Briceño, R. y Párraga, C. 2004. Incidencia del virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar y del síndrome del amarillamiento foliar en la región centrooccidental de Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 17: 43-48.
23. Lozada, T. 1955. El mosaico de la caña de azúcar. *El Agricultor Venezolano* 19: 21-23.
24. Ordosgoitti, A. y Aponte, A. 1987. Enfermedades de la caña de azúcar detectadas en Venezuela. *Fonaiaip Divulga* 5(25): 38-40.
25. Ordosgoitti, A., Aponte, A. y González, V. 1982. Resultados sobre investigaciones de las enfermedades de caña de azúcar en Venezuela. *Fonaiaip Divulga* 1(2): 21-24.
26. Ordosgoitti, A. y Malaguti, G. 1969. El mosaico de la caña de azúcar en siembras comerciales de maíz y sorgo. *Agronomía Trop.* 19: 189-196.
27. Purcifull, D.E. 1990. Ouchterlony double-diffusion test in the presence of sodium dodecyl sulfate for detection of virion protein and virus induced inclusions body proteins. *In* Serological methods for identification of viral and bacterial plant pathogens. R. Hampton, E. Ball, and S. De Boer (eds.). Minnesota. APS Press. pp 121-127.
28. Rea, R.A., González, V. y Ordosgoitti, A. 1994. Reacción de genotipos de caña de azúcar (*Saccharum* sp. hibrid) a la raza B del virus del mosaico de la caña de azúcar. *Fitopatol. Venez.* 7:18-21.
29. Scagliusi, S.M. y Lockhart, B.E.L. 2000. Transmission, characterization, and serology of a luteovirus associated with yellow leaf syndrome of sugarcane. *Phytopathology* 90: 120-124.
30. Shukla, D.D., Toler, R.W. and Jensen, S.G. 1992. Sorghum mosaic virus. Descriptions of plant viruses. N° 359. AAB, Institute of Horticultural Research, Wellesbourne, Warwick, U.K. 7 pp.
31. Shukla, D.D., Ward, C.W. and Brunt, A.A. 1994. The Potyviridae. CAB Internacional, Wallingford, UK. 516 pp.
32. Shukla, D.D., Tomic, M., Jilka, J., Ford, R.E., Toler, R.W. and Langham, M.A.C. 1989. Taxonomy of potyviruses infecting maize, sorghum and sugarcane in Australia and the United States as determined by reactivities of polyclonal antibodies direct towards virus-specific N-termini of coat protein. *Phytopathology* 79: 223-229.
33. Teakle, D.S., Shukla, D.D. and Ford, R.E. 1989. Sugarcane mosaic virus. Descriptions of plant viruses N° 342. AAB, Institute of Horticultural Research, Wellesbourne, Warwick, U.K. 5 pp.
34. Tomic, M., Ford, R.E., Shukla, D.D. and Jilka, J. 1990. Differentiation of sugarcane, maize dwarf, johnson grass and sorghum mosaic viruses based on reactions of oat and some sorghum cultivars. *Plant Dis.* 74:549-552.
35. Vega, J., Scagliusi, S.M. and Ulian, E.C. 1997. Sugarcane yellow leaf disease in Brazil: Evidence of association with a Luteovirus. *Plant Dis.* 81:21-26
36. Walkey, D.G. 1985. Applied Plant Virology. New York, John Wiley & Sons. 329 pp.