

IDENTIFICACION DE UNA NUEVA RAZA DEL VIRUS DEL MOSAICO ENANIZANTE DEL MAIZ (MDMV) EN VENEZUELA

M.J. Garrido y G.E. Trujillo

Depto. de Química y Tecnología, Secc. de Microbiología y Depto. de Botánica Agrícola, Secc. de Fitopatología, respectivamente, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Apdo. 4579 Maracay 2101-A, Edo. Aragua.
La mención de productos químicos en este trabajo no implica su recomendación.

Recibido: 9 de Noviembre de 1988

RESUMEN

Garrido, M.J., y Trujillo, G.E. 1988. Identificación de una nueva raza del virus del mosaico enanizante del maíz (MDMV) en Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 1: 73 - 81

Una virosis que desde 1970 ha estado presente en sorgo (*Sorghum bicolor*) y maíz (*Zea mays*) en Venezuela, es actualmente considerada la enfermedad más importante del sorgo. Los síntomas producidos por este virus en maíz y sorgo son similares a los causados por el virus del mosaico enanizante del maíz raza A (MDMV-A). El rango de hospederos del virus, el cual se transmite mecánicamente, estuvo confinado a las gramíneas y resultó similar al descrito para MDMV-A, con la excepción que no infectó a la paja Johnson (*Sorghum halepense*) proveniente de USA, pero sí infectó a la venezolana. El sorgo cv 'Atlas' fue infectado produciendo lesiones locales y necrosis sistémica; también fueron infectados los cvs de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) 'CP-31294' y 'CP-31588'. El virus no infectó a la avena (*Avena sativa*). Las propiedades del virus en jugo crudo de sorgo cvs 'Atlas' y 'Sart' fueron: PFD de 10^{-3} - 10^{-4} , PIT de 55-60° C, y LIV de 24-30 h a 20° C. El virus fue transmitido de maíz a maíz en forma no persistente por los áfidos *Rhopalosiphum maidis* y *Aphis gossypii* y no se transmitió a través de la semilla en sorgo cv 'Rio'. El virus presentó partículas en forma de filamentos flexuosos y cuando se realizaron pruebas serológicas de microprecipitación con antiseros contra MDMV-A y MDMV-B, éste resultó más relacionado con MDMV-A y mucho menos con MDMV-B. Este virus fue considerado una nueva raza del MDMV y designado raza venezolana (MDMV-V).

Palabras claves adicionales: sorgo, maíz, paja Johnson, virus del mosaico de la caña de azúcar.

ABSTRACT

Garrido, M.J., y Trujillo, G.E. 1988. Identification of a new strain of maize dwarf mosaic virus (MDMV) in Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 1: 73 - 81

Since 1970 a virus disease has been present on sorghum (*Sorghum bicolor*) and maize (*Zea mays*) in Venezuela, and presently is considered the most important one that affects the sorghum crop in the country. The symptoms induced on maize and sorghum resembled those incited by maize dwarf mosaic virus strain A (MDMV-A). The host range of this mechanically transmitted virus was confined to the Gramineae and was similar to that of MDMV-A, except that it doesn't infect johnson grass (*Sorghum halepense*) from USA, but infects johnson grass from Venezuela. 'Atlas' sorghum was infected with local lesions and systemic necrosis. The virus also infected sugarcane (*Saccharum officinarum*) cvs 'CP-31294' and '31588' but not oats (*Avena sativa*). Properties of this virus in 'Atlas' and 'Sart' sorghum sap were: DEP 10^{-3} - 10^{-4} , LIV 24-30 h at 20° C, and TIP 55-60° C. This virus was transmitted non-persistently from maize to maize by aphids *Rhopalosiphum maidis* and *Aphis gossypii*. It was not seed transmissible in 'Rio' sorghum. The virus had flexuous, rod-shaped particles. It was distantly related to MDMV-B, but more closely to MDMV-A when tested with antisera to the two strains by microprecipitin tests. The isolate, considered a new strain of MDMV, was designated the Venezuelan strain (MDMV-V).

Additional key words: sorghum, maize, Johnson grass, sugarcane mosaic virus.

INTRODUCCION

El maíz (*Zea mays* L.) y el sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), son cultivos que revisten gran interés agrícola en nuestro país. Si se revisan las estadísticas del sector agrícola (45), se puede observar que la superficie por año dedicada a la siembra de maíz en los últimos 15 años, ha sido de unas 400.000 ha, con una producción de aproximadamente 550.000 toneladas métricas. Según la misma fuente (45), la superficie

dedicada al cultivo de sorgo ha aumentado considerablemente en los últimos 15 años. Así se tiene que para el año 1970, la superficie cosechada fue de 2.954 ha, con una producción de 6.532 toneladas métricas; mientras que para el año 1984, la superficie cosechada fue de 238.588 ha con una producción de 472.451 toneladas métricas.

Las cifras anteriormente expuestas, revelan que en los últimos 15 años la superficie cosechada de sorgo ha aumentado unas 80 veces aproximadamente. Este crecimiento acelerado en

la explotación de este cereal en Venezuela, obedece a que su cultivo ha tenido un gran impacto en la agricultura nacional y continuará jugando un papel muy importante en el futuro (34,35).

En la medida que las áreas dedicadas a la explotación del sorgo en Venezuela, se han venido incrementando, paralelamente se ha observado una mayor incidencia de enfermedades, algunas de ellas conocidas y otras de origen no muy definido (25). A partir de 1970, se ha venido observando en siembras experimentales y comerciales de sorgo y maíz, una enfermedad de tipo viral (29,30) que en los últimos años ha llegado a ser la más importante del sorgo en Venezuela (24,25). Algunos investigadores (8, 21, 30, 42) han determinado que se trata del virus del mosaico enanizante del maíz (maize dwarf mosaic virus), mientras que otros (22, 31, 35) sugieren la presencia de una nueva raza del virus del mosaico de la caña de azúcar (sugarcane mosaic virus). Vista la disparidad de opiniones existentes en cuanto a la etiología de la virosis en estudio que afecta a maíz y sorgo en Venezuela, el presente trabajo fue iniciado para tratar de aclarar esta situación. Un avance de los resultados del mismo fue presentado con anterioridad en forma de resumen (9).

El virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV), agente causal del mosaico de la caña de azúcar, es una partícula en forma de filamento flexuoso, de aproximadamente 750 nm de largo y 12-13 nm de ancho (15,33). Se han descrito por lo menos unas 13 razas del SCMV (3, 16, 40), las cuales van desde la A hasta la M. La mayoría de estas razas son fácilmente transmitidas a maíz y a sorgo, pero no a paja Johnson (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) (4,33). Sin embargo, SCMV-Jg infecta a la paja Johnson, razón por la cual muchos investigadores (4, 36, 43, 44) la consideran igual a la raza A del virus del mosaico enanizante del maíz (MDMV-A) y no una verdadera raza del SCMV.

El SCMV se transmite por inoculación con savia o por varias especies de áfidos de manera no persistente (4,33). No existen evidencias de transmisión a través de la semilla para las verdaderas razas del SCMV (33). Sin embargo, algunos investigadores (37,47) citan bajos porcentajes de transmisión a través de la semilla para SCMV-J.

Las propiedades del SCMV en jugo crudo son: punto de inactividad térmica de 50 - 55° C, punto final de dilución de 10^{-2} - 10^{-4} y la longevidad *in vitro* a 20°C de 1-2 d (3,33). Estos valores pueden variar ligeramente, de acuerdo al hospedero, condiciones ambientales y a la raza en estudio. Por lo tanto, son de poca utilidad en la diferenciación de razas del virus (3,44).

A partir del trabajo realizado por Abbott y Tippett (3) en 1966, todas las razas del SCMV han sido identificadas sobre los cultivares de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) 'CP-31294' y 'CP-31588' (16, 41, 48, 49). No obstante, el cv 'Co.281' ha sido empleado para diferenciar la raza C (3,40). Los cultivares de sorgo 'Atlas' y 'Río' también se han venido utilizando como hospederos diferenciales de algunas razas del SCMV (10, 16, 41).

Por su parte, el virus del mosaico enanizante del maíz (MDMV) presenta una partícula en forma de filamento flexuoso de 700-755 nm de largo x 12-16 nm de ancho (11). Se transmite fácilmente por inoculación con savia (4) y de

manera no persistente por más de 20 especies de áfidos (27,38). El MDMV ha sido transmitido a través de la semilla, pero en proporciones muy bajas (4,47).

Las propiedades del MDMV en jugo crudo son: punto de inactivación térmica de 52-60° C; punto final de dilución entre 10^{-2} - 10^{-5} ; y la longevidad *in vitro* de 1-2 d a 20° C y de 3-5 d a 0-4° C (11,46).

Muchas similitudes entre el MDMV y el SCMV han sido señaladas (36, 39, 44). Sin embargo, la mayoría de las razas del MDMV se distinguen del SCMV porque infectan fácilmente a la paja Johnson (19).

Mackenzie *et al.* (20) identificaron dos razas del MDMV: la MDMV-A y la MDMV-B. Posteriormente, Louie y Knoke (19) identificaron cuatro nuevas razas, designadas como C, D, E y F. MDMV-A infecta fácilmente a la paja Johnson, mientras que MDMV-B no la infecta (20). Snazelle *et al.* (39), encontraron que MDMV-A y MDMV-B no infectaban los cultivares de caña de azúcar 'CP-31294' y 'CP-31588'. Tomic y Ford (43), lograron infectar el cv 'CP-31588' con MDMV-A. Gordon *et al.* (13), señalan que MDMV-A y MDMV-B han sido las razas más estudiadas y las restantes pueden ser consideradas subrazas de MDMV-A.

Recientemente, McDaniel y Gordon (23) identificaron una nueva raza del MDMV, la cual tiene la particularidad de infectar a la avena (*Avena sativa* L.) y fue denominada MDMV-0.

MATERIALES Y METODOS

Siembra y mantenimiento de plantas. Todos los hospederos empleados (con excepción de la caña de azúcar) fueron sembrados en vasos plásticos de 0,5 l de capacidad, los cuales contenían una mezcla estéril de tierra negra+arena, en la proporción 3:1, respectivamente. Para el caso de la caña de azúcar se usaron materos de 1 l de capacidad y se sembraron 2 yemas por cada envase. Cada vaso contenía 2-4 plántulas para el caso del maíz y 4-6 para el del sorgo.

Las plántulas sanas o inoculadas se colocaban en una jaula cubierta con tela metálica fina, la cual no permitía el paso de insectos. Todas las plantas se regaban semanalmente con una solución de Jardinol (fungicida, acaricida, insecticida) a razón de 2-3 cc/l de agua.

Aislamientos virales. Se utilizaron 14 aislamientos provenientes de plantas de sorgo, maíz, paja Johnson y falso Johnson (*Sorghum verticilliflorum* (Steud) Stapf.) con síntomas típicos de mosaico. Estos aislamientos fueron recolectados en el campo experimental de la Facultad de Agronomía, U.C.V., Maracay (Aragua) y en siembras comerciales de maíz y sorgo ubicadas en los Estados Guárico, Barinas, Portuguesa, Cojedes y Yaracuy.

Las muestras se recolectaron en bolsas plásticas y se colocaban en cavas con hielo mientras llegaban al laboratorio. Una vez en éste, se guardaban en un congelador a -4°C y posteriormente, cada aislamiento se inoculaba en maíz cv 'Ohio 28' o sorgo cv 'Sart'.

Además de los aislamientos mencionados, se utilizaron las razas A y H del virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV), así como un aislamiento no identificado de ese mismo virus (SCMV-NI). Las razas A y H del SCMV fueron suministradas gentilmente por el Dr. Alfonso Ordosgoitti

(FONAIAP-CENIAP, Maracay).

Todos los aislamientos probados y las razas del SCMV, fueron mantenidas en maíz cv 'Ohio 28' y sorgo cv 'Sart', por ser buenos hospederos para mantener aislamientos del SCMV y MDMV (33; R. Louie, comunicación personal).

Hospederos diferenciales. Se utilizaron los hospederos diferenciales señalados por Gingery y Gordon (12), para identificar los principales virus que se transmiten mecánicamente al maíz. Tales huéspedes eran los siguientes: Maíz cv 'Ohio 28', trigo (*Triticum aestivum* L.) cv 'Monon', paja Johnson, cebada (*Hordeum vulgare* L.) cv 'Pennrad', avena cv 'Garland' y sorgo cvs 'Atlas' y 'Río'. Las semillas de estos hospederos diferenciales fueron suministradas por los Drs. D.T. Gordon (Ohio Agric. Research & Dev. Center, Wooster, USA), R. Louie (U.S. Department of Agriculture, Ohio) y M. Riccelli (U.C.V., Fac. Agronomía, Inst. Genética, Maracay, Venezuela). Además de la paja Johnson procedente de USA, se utilizó paja Johnson venezolana, cuya semilla fue recolectada en el campo experimental del CENIAP-FONAIAP, Maracay.

También se utilizaron los cultivares de caña de azúcar 'CP-31294' y 'CP-31588', los cuales permiten la identificación de las distintas razas del SCMV (1, 3, 16). Estos cultivares fueron suministrados por el Dr. Alfonso Ordosgoitti (FONAIAP-CENIAP, Maracay).

Inoculación mecánica. Hojas jóvenes de plantas de maíz o sorgo con síntomas, se cortaban finamente y se maceraban en un mortero frío, estéril, al cual se le agregaba una pequeña cantidad de buffer fosfato 0,01 M, pH 7,2 (1: 5-10 p/v). Luego, el macerado se filtraba a través de dos capas de gasa fina para obtener el jugo infectivo, el cual se aplicaba con el dedo índice sobre las hojas más nuevas de plantas sanas de 3-4 hojas (8-10 d de edad), previamente espolvoreadas con carborundum 600. A las plántulas inoculadas se les lavaban las hojas con agua destilada y permanecían en el laboratorio a 20-25° C por 24-30 h. Posteriormente, eran colocadas en jaulas a prueba de insectos mantenidas en un ambiente a una temperatura de 20-35° C y una humedad relativa de 50-95%, hasta la aparición de los síntomas.

Cuando un hospedero era inoculado mecánicamente y no desarrollaba síntomas, se le hacía una prueba para verificar si se trataba de un portador sin síntomas. Para ello, se tomaban hojas de esas plantas como inóculo y se procedía a inocular mecánicamente plántulas de un cultivar susceptible (maíz cv 'Ohio 28').

De cada uno de los hospederos diferenciales utilizados, se inoculaban mecánicamente 20-30 plántulas por cada aislamiento probado, además de las plántulas utilizadas como testigos en cada caso.

Transmisión por áfidos. Se usaron los áfidos *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) y *Aphis gossypii* Glover, identificados por el Dr. M. Cermeli (FONAIAP-CENIAP, Maracay). Apterós de estas especies eran sometidos a un período de ayuno de 1 h y luego se les permitía un período de adquisición de 5 min sobre plantas de maíz cv 'Ohio 28' de 25 d de edad infectadas con el virus. Posteriormente, se les colocaban sobre plantas de maíz sanas de 10 d de edad, del mismo cultivar durante 8 h. Después se eliminaban los áfidos mediante aspersión con un insecticida (Jardinol) y las plantas eran colocadas en jaulas similares a las ya descritas y

mantenidas en las mismas condiciones hasta la aparición de los síntomas. Se utilizaron 5 áfidos por cada planta y 10 plantas por cada especie de áfido.

Serología. Para establecer las relaciones serológicas, se utilizó el método de microprecipitación (5,17), frecuentemente empleado para estudios serológicos con MDMV y SCMV (12, 39, 44). Se probaron antisueros contra MDMV-A y MDMV-B, que fueron suministrados por R.W. Toler (Texas A&M University, Texas, USA). Como antígenos se usaron SCMV-A, SCMV-H y el virus en estudio.

En la preparación de los antígenos se utilizaron plantas de maíz cv 'Ohio 28', de tres semanas de edad, infectadas con cada una de las cepas usadas. Las hojas más jóvenes se trituraban en un mortero frío, estéril y luego se filtraba a través de tres capas de gasa fina. Este filtrado se centrifugaba a 12.000 g por 20 min en una centrífuga Sorvall, RC2-B a 10°C y el sobrenadante se utilizaba en las pruebas. Plantas sanas eran sometidas a idéntico tratamiento para usar el sobrenadante como control.

Para la ejecución de las pruebas de microprecipitación se procedió como sigue: de cada uno de los antisueros se prepararon diluciones utilizando como diluyente buffer fosfato salino, pH 7,2; luego, se mezclaban dos gotas de cada dilución de antisuero con dos gotas similares de antígeno sobre una placa de prueba. Estas placas se colocaban en una cámara húmeda para evitar la evaporación del líquido. Al cabo de 2 1/2 - 3 h se observaban las gotas al microscopio estereoscópico, para determinar la presencia de precipitado. Las placas de prueba en las cámaras húmedas se dejaban en una nevera a 4° C y eran revisadas nuevamente al día siguiente (14).

Estabilidad en savia. Estas propiedades se determinaron por duplicado de acuerdo a la metodología comúnmente utilizada en Virología Vegetal (7). En la primera prueba se utilizaron como plantas indicadoras sorgo cv 'Atlas', mientras que en la segunda se utilizó el cv 'Sart'. El jugo infectivo utilizado provenía de plantas de maíz cv 'Ohio 28' de 18-20 d de edad.

Transmisión por semilla. Para la realización de esta prueba se utilizaron semillas provenientes de plantas de sorgo cv 'Rio', las cuales habían sido inoculadas mecánicamente con el virus en estudio a los 10 d de edad y manifestaban síntomas típicos de la enfermedad (mosaico). Las semillas fueron sembradas y mantenidas tal como se explicó al inicio de esta sección, hasta los 45 d después de la siembra, cuando se realizó la última observación.

Microscopía electrónica. Enjuagues: se colocaron pequeñas secciones de tejido provenientes de hojas de sorgo enfermo en una gota de agua destilada. Una muestra de esta gota se colocó sobre una rejilla de microscopio electrónico, previamente cubierta con colodión y reforzada con una capa de carbón evaporado. Una vez seca, la rejilla se coloreó con ácido fosfotúngstico y se observó en un microscopio electrónico Jeol 100B.

Histología: para examinar los virus "in vivo" se tomaron pequeños fragmentos de hojas de sorgo enfermas (1-2 mm) que fueron fijados sucesivamente en cada una de las siguientes sustancias: Glutaraldehído al 2% en buffer fosfato 0,01M (pH 7,1) por 3 h, tetraóxido de osmio en buffer fosfato 0,1M (pH 7,1) por 1 h y acetato de uranilo al 1% por 16 h. Después de

la fijación, los tejidos fueron deshidratados en una serie de etanol, colocados en acetona y embebidos en plástico Epon. El material se seccionó con un ultramicrotomo Sorvall MT-2 y se coloreó con acetato de uranilo y citrato de plomo. Después los cortes fueron examinados al microscopio electrónico.

RESULTADOS

Reacción de los hospederos diferenciales. Todos los aislamientos de comportaron de manera muy similar en cada uno de los hospederos diferenciales utilizados. Por lo tanto, se tomó sólo un aislamiento para continuar con todas las demás pruebas tendientes a la identificación del virus. El aislamiento seleccionado provenía del campo experimental de la Facultad de Agronomía, U.C.V., Maracay. En lo sucesivo y para efectos de la presentación de los resultados y su discusión, este aislamiento será denominado virus en estudio (VEE).

De los siete hospederos diferenciales probados, propuestos por Gingery y Gordon (12), sólo el maíz cv 'Ohio 28', el sorgo cvs 'Río' y 'Atlas' y la paja Johnson, proveniente de la semilla recolectada en el país, fueron infectadas por los distintos aislamientos utilizados.

Maíz cv 'Ohio 28': los primeros síntomas aparecían entre los 4-6 d después de la inoculación, en forma de pequeñas manchas cloróticas que usualmente se iniciaban en la base de las hojas jóvenes y originaban posteriormente síntomas típicos de mosaico. Este mosaico se presentaba en las nervaduras y áreas internervales, pero en algunos casos, sólo estaba limitado a las áreas internervales y producía estrías cloróticas, las cuales podían ser continuas o interrumpidas.

Sorgo cv 'Río': los síntomas iniciales aparecían entre los 5-6 d después de la inoculación y en su etapa inicial no diferían de los presentados en maíz. Sin embargo, el mosaico que se originaba era mucho más evidente que en el caso del maíz. Generalmente se presentaban pequeñas estrías cloróticas paralelas a las nervaduras, las cuales en muchos casos coalescían y formaban grandes áreas cloróticas (Fig. 1b). Cuando plantas de este mismo cultivar eran inoculadas con SCMV-A y SCMV-H, sólo se observaban síntomas de mosaico.

Sorgo cv 'Atlas': los síntomas iniciales aparecían entre los 4-5 d después de la inoculación, en forma de pequeñas lesiones locales necróticas, alargadas y de color rojizo. Luego, el virus se hacía sistémico y en las hojas más jóvenes empezaban a aparecer pequeños puntos y estrías cloróticas que luego se tornaban necróticas. Cuando varias estrías coalescían, se formaban grandes áreas necróticas rojizas (Fig. 1a). Es de hacer notar que en este cultivar nunca se presentaron síntomas de mosaico. En muchos casos, plantas inoculadas muy jóvenes podían morir, debido a la necrosis violenta que causaba el virus.

Plántulas de este mismo cultivar inoculadas con SCMV-A y SCMV-H, mostraban síntomas de mosaico, necrosis sistémica y enanismo. Sin embargo, en el caso de las plantas inoculadas con SCMV-H el síntoma predominante era el mosaico.

Paja Johnson: todos los aislamientos probados manifestaron síntomas cuando se inoculaban plántulas de paja Johnson provenientes de semillas recolectadas en el país. Los

porcentajes de infección de este hospedero cuando se inoculaba con los 14 aislamientos probados, oscilaban entre 58,33 y 87,50%. Cuando se inoculaban plántulas de paja Johnson que provenían de semillas procedentes de U.S.A. (Ohio y Louisiana), ninguno de los aislamientos probados indujo síntomas en este huésped. Es de hacer notar que se tuvo especial cuidado con el manejo de este material, destruyéndose todas las plantas al terminar los experimentos, para evitar su propagación.

Los síntomas en plantas de paja Johnson venezolana empezaban a evidenciarse a los 4-6 d después de la inoculación. El síntoma predominante era un mosaico que se limitaba principalmente a las áreas internervales y producía estrías o bandas cloróticas que contrastaban con el color verde de las nervaduras. En otros casos, el mosaico se extendía a través de las nervaduras y áreas internervales en forma de anillos o pequeñas estrías cloróticas (Fig. 1d).

Además de las pruebas realizadas con los 14 aislamientos sobre paja Johnson venezolana, se efectuó otro experimento para evaluar la reacción de este hospedero cuando se le inoculaba SCMV-A, SCMV-H, un aislamiento no identificado del SCMV (SCMV-NI) y el VEE. Los resultados de esta prueba aparecen señalados en el Cuadro 1. Las plantas inoculadas con SCMV-A, SCMV-H y SMCV-NI, empezaban a mostrar síntomas a los 8-10 d después de la inoculación, mientras que las inoculadas con el VEE lo hacían a los 4-6 d después de inoculadas.

Caña de azúcar cvs 'CP-31294' y 'CP-31588': En el cv 'CP-31294' los síntomas tempranos eran estrías cloróticas discretas que posteriormente iban ocupando casi toda la superficie de la hoja. Cuando estas estrías se hacen numerosas, muchas de ellas coalescen y le comunican un color verde pálido a la hoja. Muchas de estas estrías se unen formando bandas cloróticas a lo largo de la hoja (Fig. 1c). A medida que la planta envejece, los síntomas empiezan a tornarse difusos, aunque ocasionalmente se hacen evidentes bandas cloróticas similares a las descritas. Se presenta poca o ninguna reducción del tamaño de la planta. Por su parte, en el cv 'CP-31588' se observaron numerosas estrías cloróticas que coalescían o se extendían para dar a las hojas un efecto amarillento, particularmente hacia la base de las hojas (Fig. 1e). En algunos casos, los extremos de algunas

Cuadro 1. Reacción de la paja Johnson (*Sorghum halepense*) venezolana a la inoculación mecánica con cuatro aislamientos virales.

Aislamientos	Plantas inoculadas	Plantas ⁽¹⁾ infectadas	% de infección
SCMV-A (2)	108	5	4,62
SCMV-H	105	9	8,57
SCMV-NI	101	5	4,95
VEE	110	88	80,00

(1) Plantas con síntomas de mosaico. Evaluación realizada a los 15 d después de la inoculación.

(2) SCMV-A, SCMV-H y SCMV-NI: razas A, H y aislamiento no identificado del virus del mosaico de la caña de azúcar respectivamente; VEE: Virus en estudio.

Cuadro 2. Resultados de las pruebas de microprecipitación usando antisuero contra la raza A del virus del mosaico enanizante del maíz (MDMV-A).

Antígenos (1)	Diluciones del antisuero								
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
VEE	+(2)	+	+	+	+	+	+	-	-
SCMV-A	+	+	+	+	-	-	-	-	-
SCMV-H	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Jugo de plantas sanas	+	+	-	-	-	-	-	-	-

(1) SCMV-A y SCMV-H : razas A y H del virus del mosaico de la caña de azúcar, respectivamente; VEE: Virus en estudio. Todos los antígenos fueron propagados en maíz cv 'Ohio'.

(2) + presencia de precipitado; - ausencia de precipitado

Cuadro 3. Resultados de las pruebas de microprecipitación usando antisuero contra la raza B del virus del mosaico enanizante del maíz (MDMV-B).

Antígenos (1)	Diluciones del antisuero								
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
VEE	+(2)	+	+	+	-	-	-	-	-
SCMV-A	+	+	+	+	-	-	-	-	-
SCMV-H	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Jugo de plantas sanas	+	+	-	-	-	-	-	-	-

(1) SCMV-A y SCMV-H : razas A y H del virus del mosaico de la caña de azúcar, respectivamente; VEE: Virus en estudio. Todos los antígenos fueron propagados en maíz cv 'Ohio'.

(2) + presencia de precipitado; - ausencia de precipitado

estrías se tornaban necróticas, dando la apariencia de puntos o pequeñas estrías necróticas de color rojizo. Ocasionalmente suelen presentarse algunas estrías bien definidas de color blanco o crema, que contrastan con el color amarillento de las hojas. Las plantas presentan cierto grado de enanismo y tendencia al macollamiento. En general, los síntomas en este cultivar son mas severos que en el cv 'CP-31294'.

Pruebas de microprecipitación. Los resultados de las pruebas serológicas utilizando el método de la microprecipitación y antisueros contra MDMV-A y MDMV-B, aparecen escritos en los Cuadros 2 y 3.

Cuando se utilizó antisuero contra MDMV-A, el antígeno correspondiente al VEE dio un título de 1/128, mientras que los correspondientes a SCMV-A y SCMV-H dieron títulos de

1/16 y 1/8 respectivamente. En el control (jugo de plantas sanas) se observó un título de 1/4 (Cuadro 2).

Cuando se usó antisuero contra MDMV-B, el antígeno correspondiente al VEE dio un título de 1/16, mientras que los correspondientes a SCMV-A y SCMV-H dieron títulos de 1/16 y 1/8 respectivamente. El control dio un título de 1/4 (Cuadro 3).

Estabilidad en savia. La determinación de estas propiedades se realizó por duplicado, utilizando como plantas indicadoras sorgo cvs 'Atlas' y 'Sart'. En el primer cultivar, el virus causa lesiones locales y necrosis sistémica, mientras que en el segundo, causa mosaico sistémico. En las dos repeticiones se obtuvieron iguales resultados, los cuales se presentan a continuación: punto de inactivación térmica de 50-

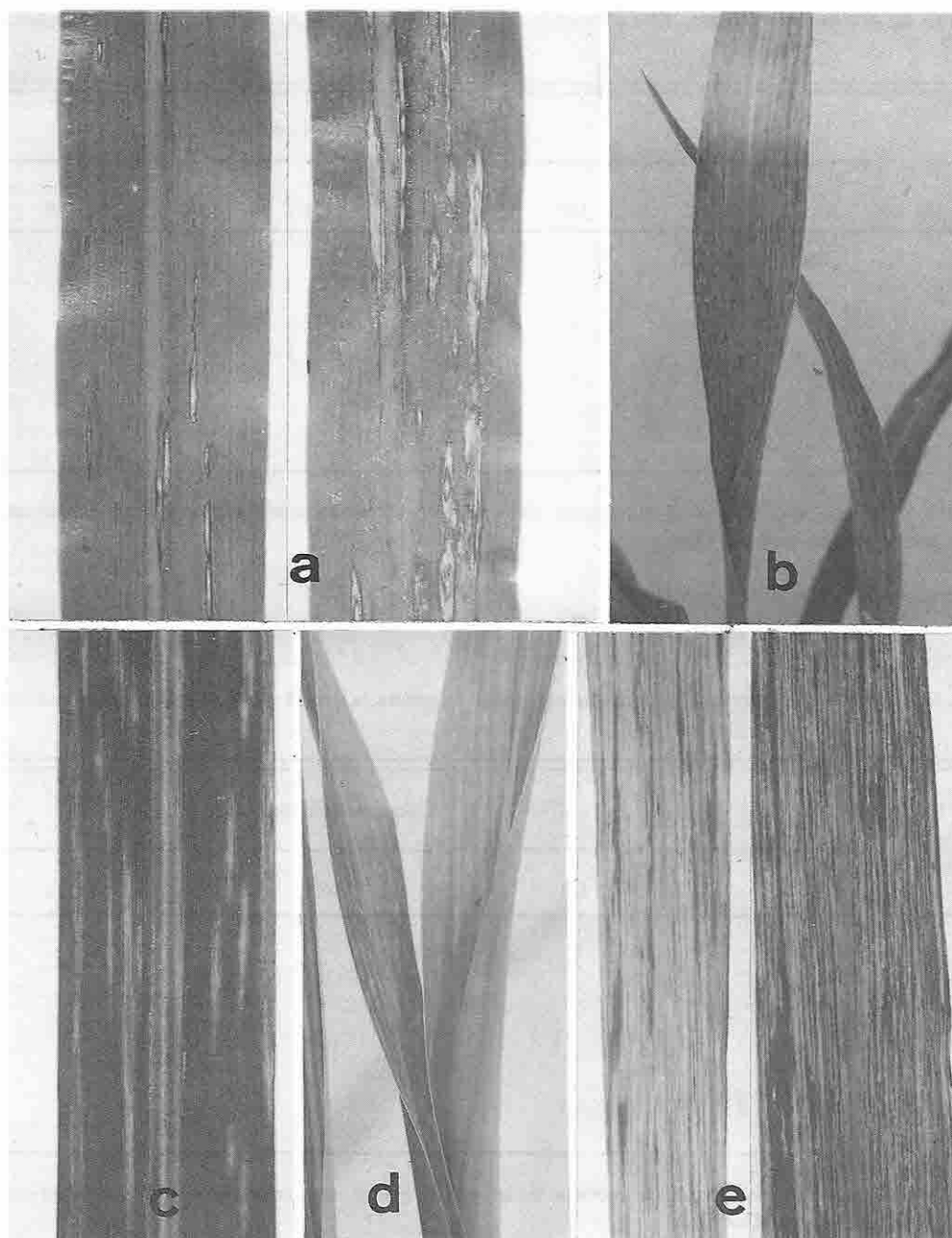


Fig. 1. Síntomas producidos por MDMV-V en diferentes hospederos: a. sorgo cv 'Atlas'; b. sorgo cv 'Río'; c. caña de azúcar cv 'CP-31294'; d. paja johnson venezolana; e. caña de azúcar cv 'CP-31588'.

55°C, punto final de dilución de 10^{-3} - 10^{-4} y una longevidad in vitro de 24-30 h a 20° C.

Transmisión por áfidos. El VEE fue transmitido de manera no persistente por los áfidos *Rhopalosiphum maidis* y *Aphis gossypii*. Con *R. maidis* se logró transmitir el virus en un 33,33%, mientras que con *A. gossypii* sólo se logró 10% de infección.

Transmisión por semilla. Se probaron 1040 semillas provenientes de plantas de sorgo cv 'Río' que habían sido infectadas con el VEE a temprana edad. Ninguna de las plantas originadas de estas semillas mostró síntomas de la enfermedad (mosaico).

Microscopia electrónica. El VEE fue detectado fácilmente al microscopio electrónico utilizando preparaciones de "enjuague" y cortes histológicos. Con ambas técnicas se observaron partículas virales en forma de filamentos flexuosos. Las observaciones realizadas a partir de cortes histológicos mostraban las partículas virales en el citoplasma de la célula y no se observaron inclusiones.

DISCUSION

Todos los aislamientos probados reaccionaron de manera muy similar, lo que sugiere que pertenecen a un mismo virus o

raza, el cual se encuentra diseminado en los Estados Aragua, Barinas, Cojedes, Guárico, Portuguesa y Yaracuy, ya que tales aislamientos procedían de estos Estados.

Si se comparan las respuestas de los huéspedes diferenciales propuestos por Gingery y Gordon (12) a los principales virus del maíz que se transmiten mecánicamente, con las respuestas de dichos huéspedes ante el virus en estudio (VEE), se evidencia que éste está muy relacionado con el virus del mosaico enano del maíz (MDMV). Por otra parte, nos permite descartar al virus del moteado clorótico del maíz (MCMV), virus del mosaico estriado del trigo (WSMV), foxtail mosaic virus (FMV) y brome mosaic virus (BMV), como posibles agentes causales de esta enfermedad del sorgo y del maíz. De igual manera quedarían descartados el guinea grass mosaic virus (GGMV) y barley stripe mosaic virus (BSMV), aunque no aparecen en la Tabla de respuestas propuestas por Gingery y Gordon (12). GGMV infecta a la avena y BSMV infecta al trigo, avena y cebada (6), mientras que el VEE no infecta ninguna de esas gramíneas.

Muestras del VEE observadas al microscopio electrónico, muestran partículas virales en forma de hilos o filamentos flexuosos. Aunque no se realizaron mediciones de las partículas virales, otros trabajos realizados en el país con este virus (18,31) reportan partículas de igual forma con un tamaño de 750 x 13 nm. Este tipo de partícula es característico de los Potyvirus, entre los cuales se encuentran el virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV) y el virus del mosaico enano del maíz (MDMV) (11).

Si consideramos la forma y el tamaño de la partícula viral como carácter diferencial, nos permite descartar al panicum mosaic virus (PMV) (28) y al virus del mosaico del pepino (CMV) (6); de igual manera, al MCMV, BMV, FMV, WSMV, BSMV y GGMV, (4, 6, 12, 32, 38), previamente descartados por hospederos diferenciales.

De acuerdo a las consideraciones antes expuestas, el VEE debe tratarse de una raza perteneciente al MDMV o al SCMV, quedando descartados todos los demás virus que se transmiten mecánicamente al sorgo y al maíz.

En las pruebas serológicas de microprecipitación el VEE daba reacción positiva hasta la dilución 1/128 del antisuero contra MDMV-A, mientras que SCMV-A y SCMV-H, sólo reaccionaban hasta las diluciones 1/16 y 1/8 respectivamente (Cuadro 2). Es evidente la diferencia en títulos del VEE (1/128) en relación a los antígenos SCMV-A (1/16) y SCMV-H (1/8), lo que demuestra una mayor afinidad del VEE con MDMV-A. Lamentablemente no teníamos el homólogo para realizar una comparación más exacta. Cuando se utilizaba antisuero contra MDMV-B, el comportamiento del VEE, SCMV-A y SCMV-H era muy similar y sólo daban reacción positiva hasta las diluciones 1/16 para el VEE y SCMV-A y 1/8 para SCMV-H (Cuadro 3). En ambos casos (antisueros contra MDMV-A y MDMV-B), hubo reacción con el jugo de plantas sanas, obteniéndose un título bastante bajo (1/4), lo que demuestra que los sueros no eran completamente específicos. Esto nos indica que una reacción de 1/4 no significa ningún tipo de relación. De acuerdo a estos resultados, el VEE está más relacionado con MDMV-A que con SCMV-A, SCMV-H y MDMV-B.

Aunque el VEE está muy relacionado con el MDMV, los

síntomas en los hospederos diferenciales no corresponden exactamente a ninguna de las razas del MDMV conocidas hasta el presente, por las siguientes razones:

MDMV-A infecta fácilmente a la paja Johnson procedente de USA (paja Johnson-USA) y al sorgo cv 'Atlas', causándoles síntomas de mosaico (12,43), aunque en algunos casos esta raza provoca necrosis en el sorgo cv 'Atlas' (10). Las razas C, D, E y F del MDMV también infectan a la paja Johnson-USA (13,19). En cambio el VEE no infecta a la paja Johnson-USA, causa lesiones locales y necrosis sistémica en sorgo cv 'Atlas' e infecta a la paja Johnson venezolana (paja Johnson-VZA).

MDMV-B no infecta a la paja Johnson-USA y causa lesiones locales en sorgo cv 'Atlas' (12). Esta sintomatología es muy parecida a la causada por el VEE en esos hospederos. Sin embargo, difiere en que el VEE además de las lesiones locales causa una necrosis sistémica. Por otra parte, MDMV-B no infecta a los cultivares de caña de azúcar 'CP-31294' y 'CP-31588' (39), mientras que el VEE sí los infecta.

MDMV-O infecta a la avena y a la paja Johnson-USA (23); mientras que el VEE no las infecta.

Los cultivares de caña de azúcar 'CP-31294' y 'CP-31588' inoculados con el VEE manifestaban una sintomatología distinta a la causada por las razas descritas del SCMV. También se consideró la reacción de los cultivares de sorgo 'Río' y 'Atlas', ya que junto con la de los cultivares de caña de azúcar antes mencionados, es utilizada en la diferenciación de razas del SCMV (10, 16, 41). De acuerdo a estos resultados, el VEE podría tratarse de una nueva raza del SCMV o de una raza relacionada con MDMV-A, ya que ésta infecta al cultivar de caña de azúcar 'CP-31588' (43).

Cuando paja Johnson-VZA se inoculaba con el VEE se obtenía 80% de infección y un período de incubación de 4-6 d, mientras que cuando se inoculaba con SCMV-A, SCMV-H y SCMV-NI, se obtenía entre 4,62 y 8,57% de infección y un período de incubación de 8-10 d (Cuadro 1). Estas respuestas sugieren que el VEE es diferente a los aislamientos del SCMV probados y probablemente a otras razas de ese virus, ya que SCMV-H es la raza del SCMV con la cual se han logrado los mayores porcentajes de infección (5-13%) en paja Johnson-USA (2,10) y en este caso sólo presentó el 8,57%. En cambio, los niveles de infección del VEE sólo son comparables con MDMV-A, la cual infecta fácilmente a la paja Johnson (20). Esta respuesta diferencial de la paja Johnson-VZA ante el VEE y el SCMV, indica que podría ser utilizada como hospedero diferencial para estos virus.

Diferencias entre el SCMV y el VEE se observaron también en el sorgo cv 'Atlas'. SCMV-A y SCMV-H, además de la necrosis sistémica y el enanismo, causaban generalmente un mosaico muy evidente, el cual nunca se presentaba en plantas inoculadas con el VEE.

Es importante mencionar una vez más, que aunque el VEE infecta fácilmente a la paja Johnson-VZA, no infecta a la paja Johnson-USA, lo cual pudiera deberse a que fueran ecotipos diferentes. Monaghan (26), cita la existencia de ecotipos dentro de esta especie con características genéticas distintas, lo cual le confiere diferencias en el comportamiento.

Si consideramos los resultados de las pruebas serológicas y las reacciones de los huéspedes diferenciales, se puede concluir que el VEE corresponde a una nueva raza del MDMV. Esta

nueva raza para la cual se sugiere el nombre de raza venezolana (MDMV-V) está muy relacionada serológicamente con MDMV-A. Estos resultados concuerdan en cierto modo con lo expuesto por Toler *et al.* (42), los cuales sugieren que el VEE es una variante de MDMV-A y no una nueva raza del SCMV. Sin embargo, para ser considerada una variante de MDMV-A, debería infectar a la paja Johnson-USA y en nuestras pruebas no se logró infectar a esta gramínea cuando la semilla provenía de Ohio y Louisiana (USA). Por lo tanto, sugerimos que debe tratarse más bien de una nueva raza del MDMV y no una variante de MDMV-A.

Los valores obtenidos en la determinación de las propiedades físicas (estabilidad en savia), coinciden con lo reportado por William & Alexander (46) y Gingery (11) para el MDMV. De igual manera coinciden con los valores reportados para el SCMV (3,33), ya que entre el MDMV y el SCMV existen muchas similitudes (36, 39, 44).

El VEE fue transmitido de manera no persistente por los áfidos *Rhopalosiphum maidis* y *Aphis gossypii*, resultando *R. maidis* más eficiente en la transmisión del virus. Este tipo de transmisión es característico del MDMV y SCMV, y juega un papel muy importante en la diseminación de estos virus (27,33).

Las pruebas de transmisión a través de la semilla revelan que el VEE no se transmite a través de la semilla o lo hace en proporciones muy bajas. Resultados similares han sido reportados para el MDMV (4,47) y SCMV (33,37).

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Dr. F. Gil y al Téc. A. Piñero, Centro de Microbiología y Biología Celular, IVIC, Caracas, por el trabajo de microscopía electrónica. Asimismo, a todas las personas mencionadas en el texto quienes gentilmente nos suministraron semillas, aislamientos virales, antisueros e identificaron las especies de áfidos.

LITERATURA CITADA

- Abbott, E.V. and Stokes, I.E. 1966. A world survey of sugarcane mosaic virus strains. *Sugar y Azúcar* 61: 27-29.
- Abbott, E.V. and Tippett, R.L. 1964. Additional host of sugarcane mosaic virus. *Plant Dis. Rep.* 48: 443-445.
- Abbott, E.V. and Tippett, R.L. 1966. Strains of sugarcane mosaic virus. *U.S. Dep. Agric. Techn. Bull.* 1340. 25 pp.
- Boothroyd, C.W. 1981. Virus diseases of sweet corn. In: D.T. Gordon, J.K. Knoke, and G.E. Scott (eds.). *Virus and viruslike diseases of maize in the United States*, pp. 103-109. *Southern Cooperative Series Bulletin* 247.
- Carpenter, P.L. 1965. *Immunology and serology*, 2nd. ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 456 pp.
- Damsteegt, V.D. 1981. Exotic virus and viruslike diseases of maize. In: D.T. Gordon, J.K. Knoke, and G.E. Scott (eds.). *Virus and viruslike diseases of maize in the United States*, pp. 110-123. *Southern Cooperative Series Bulletin* 247.
- French, E.R. y Hebert, T.T. 1980. *Métodos de investigación fitopatológica*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Costa Rica. 289 pp.
- Garrido, M.J. y Malaguti, G. 1980. Comportamiento de cultivares comerciales de maíz y sorgo al mosaico enanizante del maíz (MDMV). *Rev. Fac. Agron. (Maracay)* 11 (1-4): 49-62.
- Garrido, M.J. y Trujillo, G.E. 1983. Nueva raza del virus del mosaico enano del maíz (MDMV) en Venezuela. *Memorias VII Congreso Venezolano de Botánica*. Caracas. p. 123.
- Gillaspie, A.G., Jr. and Koike, H. 1973. Sugarcane mosaic virus and maize dwarf mosaic virus in mixed infections of sugarcane and other grasses. *Phytopathology* 63: 1300-1307.
- Gingery, R.E. 1981. Chemical and physical properties of maize viruses. In: D.T. Gordon, J.K. Knoke, and G.E. Scott (eds.). *Virus and viruslike diseases of maize in the United States*, pp. 38-39. *Southern Cooperative Series Bulletin* 247.
- Gingery, R.E. and Gordon, D.T. 1981. Assays for viruses and micoplasmas infecting maize. In: D.T. Gordon, J.K. Knoke, and G.E. Scott (eds.). *Virus and viruslike diseases of maize in the United States*, pp. 19-24. *Southern Cooperative Series Bulletin* 247.
- Gordon, D.T. Bradfute, O.E. Gingery, R.E. Knoke, J.K. Louie, R., Nault, L.R., and Scott, G.E. 1981. Introduction: History, geographical distribution, pathogen characteristics, and economic importance. In: D.T. Gordon, J.K. Knoke, and G.E. Scott (eds.). *Virus and viruslike diseases of maize in the United States*, pp. 1-12. *Southern Cooperative Series Bulletin* 247.
- Gordon, D.T. and Gingery, R.E. 1973. Purification of maize dwarf mosaic virus by continuous-flow centrifugation. *Phytopathology* 63: 1386-1392.
- 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.
- Koike, H. and Gillaspie, A.G., Jr. 1976. Strain M., a new strain of sugarcane mosaic virus. *Plant Dis. Rep.* 60: 50-54.
- Kwapinski, J.B.G. 1974. *Methodology of immunochemical and immunological research*. Wiley Interscience, New York. 820 pp.
- Lastra, R.J. 1977. Maize mosaic and other maize virus and viruslike diseases in Venezuela. In: L.E. Williams, D.T. Gordon, and L.R. Nault (eds.). *Proc. Int. Maize Virus Dis. Colloq. and Workshop*, pp. 30-39. OARDC, Wooster, Ohio.
- Louie, R. and Knoke, J.K. 1975. Strains of maize dwarf mosaic virus. *Plant Dis. Rep.* 59: 518-522.
- Mackenzie, D.R., Wernham, C.C., and Ford, R.E. 1966. Differences in maize dwarf mosaic isolates of the northeastern United States. *Plant Dis. Rep.* 50: 814-818.
- Malaguti, G. 1978. Sintomatología del mosaico enano del maíz (MDMV) en siembras comerciales de sorgo. *Resúmenes V Congreso Venezolano de Botánica*. Barquisimeto. pp. 73-74.
- Malaguti, G., Gaskin, D. y Tellechea, V. 1979. Observaciones sobre el mosaico de la caña de azúcar en siembras de sorgo y posible presencia en Venezuela de una nueva raza del virus. *Resúmenes I Congreso Latinoamericano de Fitopatología*. Maracaibo. pp. VI-II.
- McDaniel, L.L. and Gordon, D.T. 1985. Identification of a new strain of maize dwarf mosaic virus. *Plant Disease* 69: 602-607.
- Mena, H. 1978. Informe especial sobre presencia de enfermedades de sorgo en la región de los Llanos Centrales.

- CENIAP, Maracay, Venezuela. 8 pp. (Mimeografiado).
25. Mena, H., Manzano, A. y Ordosgoitti, A. 1980. Reacción de cultivares comerciales de sorgo al virus del mosaico de la caña de azúcar. FONAIAP, CENIAP, Inst. Inv. Agron. Venezuela. Serie A, N° 1. 24 pp.
 26. Monaghan, N. 1979. The biology of Johnson grass (*Sorghum halpense*). *Weed Research* 19: 261-267.
 27. Nault, L.R. and Knoke, J.K. 1981. Maize vectors. In: D.T. Gordon, J.K. Knoke, and G.E. Scott (eds.). *Virus and viruslike diseases of maize in the United States*, pp. 77-84. Southern Cooperative Series Bulletin 247.
 28. Niblett, C.L., Paulsen, A.Q., and Toler, R.W. 1977. Panicum mosaic virus. *Descriptions of Plant Viruses* N° 177. Commonw. Mycol. Inst. Kew, Surrey, England. 4 pp.
 29. Ordosgoitti, A. 1973. Situación fitopatológica del cultivo del maíz en Venezuela. Ministerio de Agricultura y Cría. Dirección de Investigación, Maracay. 19 pp. (Mimeografiado).
 30. Ordosgoitti, A. y Viera, J. 1973. Una nueva enfermedad viral en maíz y sorgo en la zona central de Venezuela. *Dinámica Empresarial* 9: 12-13.
 31. Ordosgoitti, A., Viera, J. y Mena, H. 1979. Nueva raza del mosaico de la caña de azúcar en sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) detectada en Venezuela. Resúmenes X Reunión de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Agrícolas. México. p. 44.
 32. Paulsen, A.Q. and Niblett, C.L. 1977. Purification and properties of foxtail mosaic virus. *Phytopathology* 67: 1346-1351.
 33. Pirone, T.P. 1972. Sugarcane mosaic virus. *Descriptions of Plant Viruses* N° 88. Commonw. Mycol. Inst. Kew, Surrey, England. 4 pp.
 34. Riccelli, M. 1974. Capacidad combinatoria, heterosis y correlación en cruzamientos de cultivares tropicales con líneas androestériles de sorgo granífero (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Rev. Fac. Agron. (Maracay)* 8: 5-97.
 35. Riccelli, M. 1980. Current strategies and progress in breeding disease resistant sorghum in Venezuela. In: *Sorghum Diseases, A World Review*. Proc. Int. Workshop on Sorghum Diseases, pp. 434-453. ICRISAT, Hyderabad, India.
 36. Sheperd, R. J. 1965. Properties of a mosaic virus of corn and Johnson grass and its relation to the sugarcane mosaic virus. *Phytopathology* 55: 1250-1256.
 37. Shepherd, R.J. and Holdeman, Q.L. 1965. Seed transmission of Johnson grass strain of the sugarcane mosaic virus in corn. *Plant Dis. Rep.* 49: 468-469.
 38. Shurtleff, M.C., (ed.) 1980. *Compendium of corn diseases*, 2nd. ed. American Phytopathological Society, Minnesota. 105 pp.
 39. Snazelle, T.E., Bancroft, J.B., and Ullstrup, A.J. 1971. Purification and serology of maize dwarf mosaic and sugarcane mosaic viruses. *Phytopathology* 61: 1059-1063.
 40. Summers, E.M., Brandes, E.W., and Rands, R.D. 1948. Mosaic of sugarcane in the United States, with special reference to strains of the virus. U.S. Dept. Agric. Techn. Bull. 955. 124 pp.
 41. Tippett, R.L. and Abbott, E.V. 1968. A new strain of sugarcane mosaic virus in Louisiana. *Plant Dis. Rep.* 52: 449-451.
 42. Toler, R.W., Rosenow, D.T., Riccelli, M., and Mena, H.A. 1982. Variability of venezuelan isolate of maize dwarf mosaic virus in sorghum. *Plant Disease* 66: 849-850.
 43. Tomic, M. and Ford, R.E. 1972. Grasses differentiating sugarcane mosaic and maize dwarf mosaic viruses. *Phytopathology* 62: 1466-1470.
 44. Tomic, M. and Ford, R.E. 1974. Physical and serological properties of maize dwarf mosaic and sugarcane mosaic viruses. *Phytopathology* 64: 312-317.
 45. Venezuela. Ministerio de Agricultura y Cría. 1986. Anuario Estadístico Agropecuario 1984. Dirección General Sectorial de la Oficina de Planificación del Sector Agrícola. Dirección de Estadística. Caracas. p. 29.
 46. Williams, L.E. and Alexander, L.J. 1965. Maize dwarf mosaic, a new corn disease. *Phytopathology* 55: 802-804.
 47. Williams, L.E., Findley, W.R., Dollinger, E.J., and Ritter, R.M. 1968. Seed transmission studies of maize dwarf mosaic virus in corn. *Plant Dis. Rep.* 52: 863-864.
 48. Zummo, N. 1974. Sugarcane mosaic virus strain L: a new virulent strain of sugarcane mosaic virus from Meigs, Georgia. *Proc. Int. Soc. Sugarcane Technol.* 15: 305-309.
 49. Zummo, N. and Stokes, I.E. 1973. Sugarcane mosaic strain K: a new strain of sugarcane mosaic virus in Meridian, Mississippi. *Sugarcane Pathologists' Newsl.* 10: 16-17.