

VIRUS QUE INFECTAN AL SORGO*

Mario José Garrido ⁽¹⁾

RESUMEN

Los virus que afectan al sorgo están distribuidos mundialmente y causan daños económicos al hospedante. Estos virus invaden casi todas las células de la planta y generalmente son transmitidos mediante inoculación mecánica. Algunos son restringidos a las células del floema y son transmitidos principalmente por insectos. En sorgo han sido reportados unos 27 virus o razas virales capaces de causarle enfermedades. Sin embargo, sólo algunos de ellos son considerados importantes y otros han sido transmitidos en condiciones experimentales. Los síntomas que inducen los virus en sorgo son variados, y entre ellos se encuentran: mosaico, moteado, amarillamiento, enrojecimiento, necrosis de hojas, tallos y pedúnculos, achaparramiento, arrosetamiento, excesivo macollar o rebrotamiento y esterilidad. La primera enfermedad viral reportada en sorgo fue el mosaico de la caña de azúcar. Actualmente, por su distribución e importancia económica, el mosaico enanizante del maíz es la enfermedad viral del sorgo más importante en el mundo. En esta revisión se hace una descripción breve de los virus que infectan en condiciones naturales al sorgo en Venezuela y en el ámbito mundial. Además, se describen los fundamentos de las técnicas moleculares utilizadas en la detección e identificación de virus.

Palabras clave: sorgo, *Sorghum bicolor*, virus, identificación, técnicas moleculares, Venezuela.

SUMMARY

Sorghum viruses are distributed world-wide and cause economic damage to the host. These viruses invade nearly all plant cells and normally are transmissible by mechanical inoculation. Some are restricted to phloem cells and are transmitted mainly by insects. In sorghum, about 27 viruses or viral strains have been reported to cause

(*) Recibido:06-07-2000

Aceptado: 19-02-2001

(1) Instituto de Botánica Agrícola y Departamento de Química y Tecnología, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Apartado Postal 4579, Maracay 2101-A, Venezuela. E-mail: majoga@cantv.net

diseases throughout the world. However, some of them are only considered important and others have been transmitted under experimental conditions. Symptoms caused by viruses in sorghum are varied. They may cause mosaic, mottling, yellowing, reddening, necrosis of leaves, stems, and peduncles, stunting, rosetting, excessive tillering, and sterility. The first viral disease reported on sorghum was sugarcane mosaic. At present time, the most important viral disease of sorghum in the world, in regard to distribution and economic importance, is maize dwarf mosaic. In this revision, a brief description is made of the viruses that infect sorghum in natural conditions in Venezuela and the world. In addition, the fundamentals of the molecular techniques used in the detection and identification of sorghum viruses are described.

Key words: sorghum, *Sorghum bicolor*, virus, identification, molecular techniques, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

Los virus que afectan al sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] están distribuidos mundialmente y causan daños económicos al hospedante. Estos virus invaden casi todas las células de la planta y normalmente son transmitidos mediante inoculación mecánica. Algunos son restringidos a las células del floema y son transmitidos principalmente por insectos. Las plantas infectadas son generalmente más susceptibles que las sanas a estrés físico e infección por otros patógenos (Frederiksen 1986, Toler y Giorda 1992).

Los síntomas que inducen los virus en sorgo son muy variados. Pueden causar mosaico, moteado, diversos grados de amarillamiento y enrojecimiento, y necrosis de hojas, tallos y pedúnculos. Otros síntomas importantes de infección son achaparramiento, arrosetamiento, excesivo macollar o

rebrotamiento y esterilidad (Frederiksen 1986).

El objetivo de esta revisión es poner al alcance de los estudiantes de Agronomía, de pregrado y postgrado, técnicos e investigadores interesados en las enfermedades del sorgo, una descripción breve de los virus que afectan a este cereal en Venezuela y en el ámbito mundial. Además, se describen los fundamentos de las técnicas moleculares utilizadas para detección e identificación de virus en sorgo y en otros cultivos.

VIRUS QUE INFECTAN AL SORGO EN CONDICIONES NATURALES

En el ámbito mundial se han descrito unos 27 virus patógenos del sorgo, de los cuales 14 de ellos lo infectan en condiciones naturales y 13 sólo lo han infectado en condiciones experimentales (Toler 1980, Frederiksen

1986, Brunt *et al.* 1996). A continuación se describen brevemente los principales virus que infectan al sorgo en condiciones naturales en diferentes partes del mundo.

Virus del mosaico de la caña de azúcar (*Sugarcane mosaic virus*, SCMV)

El SCMV es probablemente el más cosmopolita de todos los virus que causan enfermedades en gramíneas, pudiéndose presentar en cualquier parte del mundo donde se encuentren especies susceptibles (Teakle *et al.* 1989). Fue el primer virus citado en el cultivo del sorgo y ha sido observado en Europa, India, Australia y Norte, Centro y Sur América, y causa pérdidas considerables en cultivares susceptibles (Toler 1980). En Venezuela, fue citado por primera vez como patógeno del sorgo en 1969 (Ordosgoitti y Malaguti 1969). Sin embargo, ya había sido señalado por Alamo (1927) en caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.).

Los síntomas causados por el SCMV en sorgo pueden ser muy variados, y dependen fundamentalmente del genotipo del cultivar, de la raza del virus y del ambiente (Frederiksen 1986). Síntomas de mosaico, moteado, estrías cloróticas y rojizas, necrosis y enanismo de las plantas son característicos del SCMV en sorgo (Toler 1980; Teakle *et al.* 1989). La variabilidad sintomatológica producida por el SCMV en genotipos de sorgo ha sido usada para la diferenciación de sus razas y las de otros virus con los cuales se encuentra estrechamente relacionado (Tosic *et al.* 1990).

El SCMV es un miembro del grupo potyvirus; presenta una partícula filamentosa, flexuosa, de aproximadamente 750 nm de largo y 12-13 nm de ancho (Teakle *et al.* 1989). Se han descrito por lo menos unas 13 razas del SCMV, las cuales van desde la A hasta la M (Abbott y Tippett 1966; Koike y Gillaspie 1976) y todas infectan al sorgo (Toler 1980). Estas razas han sido descritas sobre la base de sus características biológicas en diferentes partes del mundo, y se creía que pertenecían a un mismo virus, debido a que la mayoría induce síntomas similares en caña de azúcar, sorgo y maíz (*Zea mays* L.).

Sobre la base de estudios bioquímicos y serológicos, las razas del SCMV, junto con otras razas pertenecientes al virus del mosaico enanizante del maíz, fueron reagrupadas en cuatro potyvirus diferentes: virus del mosaico de la caña de azúcar, virus del mosaico enanizante del maíz, virus del mosaico del pasto johnson y virus del mosaico del sorgo (Shukla *et al.* 1989, McKern *et al.* 1991).

En Venezuela han sido identificadas las razas A (SCMV-A), B (SCMV-B), H (SCMV-H) (Ordosgoitti y González 1977; Ordosgoitti *et al.* 1985), D (SCMV-D) (Blanco y Garrido 1996; Garrido *et al.* 1998) y MB (SCMV-MB) (D'Lima y Garrido 1995; Garrido 2000). De estas razas, sólo SCMV-D y SCMV-MB han sido detectadas infectando sorgo en condiciones naturales. Las demás razas han sido encontradas afectando caña de azúcar. Reciente-

mente se obtuvo un aislamiento viral de caña de azúcar que fue identificado como SCMV-D (Garrido y Cuello 2000).

Este virus se transmite con facilidad por inoculación con savia (mecánicamente) y por varias especies de áfidos de manera no persistente. No existen evidencias de transmisión a través de la semilla para las verdaderas razas del SCMV. Sin embargo, el SCMV-MB (anteriormente MDMV-B) se ha transmitido en baja proporción a través de semilla de maíz (Teakle *et al.* 1989).

Las propiedades del SCMV en jugo crudo son: punto de inactivación térmica (PIT), 50-55 °C; punto final de dilución (PFD), 10^2 - 10^4 , y la longevidad in vitro (LIV) a 20 °C de 1-2 días (Abbott y Tippett 1966; Teakle *et al.* 1989). Estos valores pueden variar ligeramente de acuerdo con el huésped, condiciones ambientales y raza. Por lo tanto, son de poca utilidad para la diferenciación de razas del virus (Abbott y Tippett 1966).

El SCMV infecta al sorgo, maíz, caña de azúcar y numerosas gramíneas silvestres. Cereales cultivados como trigo (*Triticum aestivum* L.), cebada (*Hordeum vulgare* L.), arroz (*Oryza sativa* L.) y centeno (*Secale cereale* L.), raramente son infectados en forma natural (Teakle *et al.* 1989). En Venezuela se le ha encontrado infectando grama San Agustín [*Stenotaphrum secundatum* (Walt.) Kuntze] en condiciones naturales de infección (Garrido *et al.* 1998). Rosenkranz (1980) mencionó que se conocen 194 especies de gramíneas

(pertenecientes a 72 géneros) hospedantes de por lo menos una de las razas del virus.

Con relación al control de esta enfermedad, la regulación de vectores no ha sido efectiva y es antieconómica. La mejor medida es el uso de híbridos o variedades resistentes o tolerantes. El rendimiento total en granos de sorgo es significativamente reducido cuando las plantas son infectadas con el virus (Frederiksen 1986).

Virus del mosaico enanizante del maíz (*Maize dwarf mosaic virus*, MDMV)

El MDMV causa la enfermedad viral más importante del sorgo en todo el mundo. Fue reconocido como patógeno del sorgo en 1964 y posteriormente ha causado graves epidemias en el cultivo en diferentes países (Toler 1985; Frederiksen 1986). Posiblemente este virus se presenta en cualquier parte del mundo donde crece maíz y sorgo. Sin embargo, no ha sido reportado de Australia (Ford *et al.* 1989). Los síntomas inducidos por el MDMV incluyen achaparramiento, mosaico, enrojecimiento foliar, estrías cloróticas, retardo de la floración, amarillamiento, moteado, reducción del tamaño y calidad de la semilla, reducción del rendimiento y muerte de algunos genotipos (Toler 1980).

En cultivares susceptibles puede causar hasta 100% de pérdidas, si la infección ocurre en los primeros estados de crecimiento de la planta (Toler 1985). En Venezuela, Rangel *et al.* (1996)

encontraron que las plantas de sorgo inoculadas con MDMV-V a los once días después de la siembra sufrieron retraso en la floración, disminución del tamaño y peso de la planta, reducción de la longitud y peso de la panícula y menor acumulación de materia seca. El peso de la panícula fue el componente del rendimiento más afectado por la infección viral, reduciéndose en más de 50%.

El MDMV pertenece al grupo potyvirus; presenta una partícula con forma de filamento flexuoso de 750 nm de largo y 12-15 nm de ancho. Presenta un PIT de 55 °C, un PFD de 10^{-5} , y una LIV de 192 horas a 2-3 °C (Ford *et al.* 1989). Las razas que se conocen actualmente de este virus son: MDMV-A, MDMV-D, MDMV-E, MDMV-F (Ford *et al.* 1989; Shukla *et al.* 1989) y MDMV-V (Garrido y Trujillo 1988). En Venezuela han sido señaladas MDMV-A (Rangel *et al.* 1995; Garrido *et al.* 1996) y MDMV-V (Garrido y Trujillo 1988; Garrido *et al.* 1994) infectando sorgo y maíz.

El rango de huéspedes está restringido a la familia Gramineae. De acuerdo con el análisis de la literatura consultada, se conocen hasta el momento aproximadamente 270 especies de gramíneas hospedantes del MDMV y unas 200 especies señaladas como inmunes o no susceptibles (Garrido y Trujillo 1992). Rosenkranz (1981) citó que de 113 géneros inoculados con MDMV, 81 presentaron una o más especies susceptibles y 32 resultaron inmunes. Gramíneas cultiva-

das como trigo, cebada, avena centeno y arroz no son huéspedes del virus (Ford *et al.* 1989). El MDMV infecta fácilmente al pasto johnson [*Sorghum halepense* (L.) Pers.], mientras que el SCMV no (Ford *et al.* 1989).

Este virus se transmite fácilmente por inoculación con savia y de manera no persistente por más de 20 especies de áfidos, entre los cuales se encuentran: *Macrosiphum euphorbiae*, *Schizaphis graminum*, *Myzus persicae*, *Aphis gossypii* y *Rhopalosiphum maidis* (Nault y Knoke 1981; Ford *et al.* 1989). Los áfidos vectores adquieren el virus en segundos o minutos, lo transmiten inmediatamente, sin período de latencia, y no lo retienen después de la muda. Los adultos alados son los principales responsables de la diseminación en el campo (White 1999). También el MDMV ha sido transmitido a través de la semilla, pero en proporción muy baja (Williams *et al.* 1968).

En Venezuela, MDMV-V constituye la raza más diseminada de este virus (Garrido *et al.* 1994). Tiene como huéspedes naturales a las gramíneas falso johnson [*Sorghum verticilliflorum* (Steud.) Stapf], falsa pata de gallina [*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.], paja de conejo (*Paspalum fimbriatum* H.B.K.), paja peluda (*Rottboellia exaltata* L.) y pasto johnson (*S. halepense*) (Garrido y Trujillo 1989a). Su diseminación en condiciones de campo está asociada con el áfido *Rhopalosiphum maidis* (Garrido y Trujillo 1989b). Sin embargo, las especies *Schizaphis graminum*, *Aphis*

gossypii y *Hysteronura setariae* han sido señaladas como vectores de esta raza en condiciones de laboratorio (Garrido y Cermeli 1994; Garrido y Trujillo 1988).

Las medidas comunes de control del MDMV incluyen el uso de cultivares resistentes o tolerantes y la erradicación del pasto johnson, lo cual minimiza la fuente de virus. Estas medidas han resultado efectivas relativamente, ya que el pasto johnson es difícil de erradicar y no se han encontrado híbridos inmunes al virus. Por lo tanto, es deseable incorporar otras estrategias adicionales de control, tales como la eliminación de insectos vectores y cambios en la época de siembra (All *et al.* 1981; Frederiksen 1986).

Virus del mosaico del sorgo (*Sorghum mosaic virus*, SrMV)

Este virus fue descrito por primera vez por Abbott (1961), como una nueva raza del SCMV. Posteriormente pasó a ser un miembro independiente del grupo potyvirus, formado por las razas H, I y M del SCMV. En EE.UU. ha sido encontrado principalmente en sorgo y caña de azúcar, y ha sido reportado en caña de azúcar en India, Japón y Filipinas (Shukla *et al.* 1992). En Venezuela, existe un reporte en forma de resumen sobre la identificación de SCMV-H infectando caña de azúcar (Ordosgoitti y González 1977). Sin embargo, esta raza no ha sido completamente caracterizada.

El SrMV infecta al sorgo, caña de azúcar, pasto sudán [*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf] y diferentes cultivares de maíz, pero no al pasto johnson ni a la avena (*Avena sativa* L.). Los síntomas en algunos cultivares de sorgo son pequeñas estrías de color verde amarillento, que luego se transforman en estrías necróticas de un color marrón rojizo, seguido de un enrojecimiento excesivo de la hoja. En otros cultivares solamente desarrolla un mosaico. En caña de azúcar produce un mosaico suave que, generalmente, desaparece con la edad de la hoja. También pueden observarse otros síntomas como clorosis, enanismo y un excesivo macollar (Shukla *et al.* 1992).

La partícula viral del SrMV es un filamento flexuoso de 750 nm de largo, el cual contiene una hebra simple de ARN. En las células del hospedante induce la formación de inclusiones citoplasmáticas de tipo molinetes, tubulares y amorfas. Además, al igual que otros potyvirus, induce la formación de vesículas e inclusiones cristalinas en el citoplasma. Presenta un PIT entre 49 y 51 °C. Es transmitido mecánicamente y de manera no persistente por el áfido *Dactynotus ambrosiae* (Thomas). No se han encontrado evidencias de transmisión a través de la semilla (Shukla *et al.* 1992).

Virus del mosaico del pasto johnson (*Johnsongrass mosaic virus*, JGMV)

El JGMV infecta al pasto johnson, maíz, sorgo, avena y muchas otras gramíneas perennes y anuales, las cuales

se consideran importantes reservorios naturales del virus. Los síntomas producidos en algunos cultivares comerciales de sorgo forrajero y granero son mosaico, puntos necróticos y algunas veces se puede observar un achaparramiento. En maíz produce mosaico, clorosis, manchas anilladas y en algunos casos un enanismo severo (Shukla y Teakle 1989).

Actualmente se conocen tres razas de este virus: SCMV-Jg, MDMV-KS1 y MDMV-O (Shukla y Teakle 1989; Shukla *et al.* 1989), de las cuales MDMV-O ha sido identificada infectando sorgo en Venezuela (Garrido y Trujillo 1993), pero se conoce muy poco sobre su distribución. En cuanto a la estabilidad en savia, presenta un PIT cercano a 60 °C, una LIV de dos días a 20 °C y un PFD cercano a 10^{-4} (Shukla y Teakle 1989).

El JGMV pertenece al grupo de los potyvirus; presenta una partícula con forma de filamento flexuoso, de 750 nm de largo y 12 nm de ancho. Produce inclusiones en forma de molinetes en las células infectadas. Es transmitido mecánicamente y de manera no persistente por los áfidos *Aphis craccivora*, *A. gossypii*, *Myzus persicae* y *Rhopalosiphum maidis*. No se transmite a través de la semilla de maíz dulce (Shukla y Teakle 1989).

Virus del enanismo clorótico del maíz (Maize chlorotic dwarf virus, MCDV)

El MCDV ha sido encontrado en sorgo sólo en EE.UU., particularmente

en Mississippi, Louisiana y Texas. Es transmitido de manera semipersistente por los saltahojas *Graminella nigrifrons* y *G. sonora*. La enfermedad no tiene importancia económica en sorgo (Frederiksen 1986).

Los síntomas del MCDV en sorgo granero son un ligero achaparramiento (observado solamente en el campo) y clorosis de las nervaduras terciarias. El virus infecta al pasto sudán, sorgo dulce, sorgo granero, pasto johnson y otras gramíneas, y produce la misma sintomatología en todas ellas (Toler 1980; Frederiksen 1986).

El MCDV pertenece al grupo waikavirus; presenta partículas isométricas de 30 nm de diámetro, usualmente embebidas en inclusiones citoplasmáticas granulares densas. Posee un estrecho rango de huéspedes dentro de la familia Gramineae. La distribución de la enfermedad está limitada a las áreas donde el pasto johnson y los insectos transmisores son abundantes. Al MCDV no se le conocen razas, ni diferencias serológicas entre aislamientos (Gingery *et al.* 1978).

El uso de herbicidas para eliminar o controlar el pasto johnson y aplicaciones de insecticidas para reducir las poblaciones de saltahojas es efectivo para reducir el reservorio y/o prevenir la transmisión. Hasta el momento no han sido desarrollados cultivares de sorgo resistentes (Frederiksen 1986).

Infecciones mezcladas de MCDV y MDMV han sido detectadas, ya que

ambos virus sobreviven en el pasto johnson. También se han señalado infecciones dobles de MCDV y el micoplasma causante del achaparramiento amarillo del sorgo (Frederiksen 1986).

Los saltahojas adquieren el virus al momento de alimentarse sobre plantas enfermas y pueden transmitirlo a las sanas después de dos horas hasta por 48 h, cuando deja de ser virulífero (transmisión transitoria). El virus no es retenido después de la muda, ni pasa a los huevos. No se transmite mecánicamente ni a través de la semilla, contacto entre plantas o polen (Gingery *et al.* 1978; Frederiksen 1986).

Virus del rayado del maíz (*Maize streak virus*, MSV)

El MSV pertenece al grupo de los geminivirus; sus viriones son geminados, con un tamaño de 18 x 30 nm. Se encuentra diseminado en África, India, Yemen y en las islas de Mauritius, Madagascar y Reunión. Infecta numerosas especies pertenecientes a la familia Gramineae, entre las cuales se encuentran maíz, sorgo, cebada, avena, arroz, centeno y varias malezas (Damsteegt 1981; Brunt *et al.* 1996). El genoma consiste de una cadena simple (circular) de ADN y los viriones se localizan en todas las partes del hospedante. Las células infectadas presentan inclusiones cristalinas en el núcleo y viroplasmos (Brunt *et al.* 1996).

Los síntomas iniciales son manchas cloróticas o blanquecinas que se elongan

para transformarse en rayas confinadas al espacio internerval. Posteriormente, estas rayas se tornan más pronunciadas y se fusionan total o parcialmente para formar bandas cloróticas más anchas. Además, puede inducir achaparramiento, retorcimiento del cogollo y esterilidad (Damsteegt 1981). En la India es frecuente encontrar este virus en sorgo en condiciones naturales de infección (Toler 1980).

El MSV se transmite de manera persistente por varias especies del género *Cicadulina* (saltahoja), de las cuales la más importante es *C. mbila*. El virus es retenido cuando muda el insecto, no se multiplica en el vector y no se transmite congénitamente a la prole; no se transmite mecánicamente, por contacto entre plantas, semilla o polen (Damsteegt 1981; Brunt *et al.* 1996).

Virus del bandeo amarillo del sorgo (*Sorghum yellow banding virus*, SYBV)

Este virus fue identificado como patógeno del sorgo forrajero en 1987, en Texas y California (EE.UU.). En Venezuela, ha sido detectado en sorgo forrajero (Garrido y Alfaro 1994) y sorgo granero (Garrido *et al.* 2000), y hasta ahora sólo ha sido encontrado en siembras ubicadas en el estado Aragua (Garrido y Trujillo 2000). Los síntomas que induce en las plantas infectadas son estrías y bandas cloróticas, enanismo, necrosis sistémica y muerte.

El SYBV se transmite mecánicamente con dificultad (2-10% de

transmisión) y los síntomas aparecen 15-25 días después de la inoculación (Giorda *et al.* 1987; Klaassen y Falk 1989). Hasta el momento no se le conocen vectores. Sin embargo, algunos resultados evidencian que un mecanismo a través del suelo pudiera estar asociado con su transmisión (Odvody *et al.* 1990). Giorda *et al.* (1987) no pudieron transmitir el virus a través de los áfidos *Rhopalosiphum maidis* y *Schizaphis graminum*. Garrido y Trujillo (2001a) incrementaron el porcentaje de transmisión en 60-85% al utilizar un método de punción vascular de semillas de maíz; los síntomas aparecían en la primera o segunda hoja. Los mismos autores propusieron un grupo de tres líneas de sorgo (QL-3, QL-11 y BTx-3197) que permiten separar, en base a síntomas, al SYBV de las razas de los potyvirus que infectan al sorgo en Venezuela (Garrido y Trujillo 2001b).

Presenta partículas isométricas de 25 nm de diámetro con un S_{w20} de aproximadamente 109. Contienen una cadena simple de ARN y una cápside proteica sencilla con un peso molecular de aproximadamente 29.000 daltons. No está relacionado serológicamente con ningún virus de partículas isométricas pequeñas, bien caracterizado, que infecte gramíneas, incluido el virus del mosaico del panicum, el virus del declinamiento de la grama San Agustín y varios miembros del grupo sobemovirus (Klaassen y Falk 1989). Presenta una alta estabilidad en savia y no se transmite a través de la semilla de sorgo (Garrido *et al.* 2000).

El SYBV tiene un estrecho rango de huéspedes, limitado a las gramíneas (Klaassen y Falk 1989). Los huéspedes detectados hasta ahora son: sorgo, maíz, pasto sudán, pasto johnson, *Pennisetum glaucum* y *Setaria itálica* (Giorda *et al.* 1988; Klaassen y Falk 1989). En Venezuela tiene como hospedantes naturales al pasto johnson y al falso johnson (Garrido y Trujillo 1997). Tiene la particularidad de infectar algunas líneas de sorgo como la QL-3, la cual es inmune a todas las razas del MDMV y SCMV conocidas, y que son utilizadas como fuente de resistencia en los programas de mejoramiento de sorgo (Giorda *et al.* 1988).

Virus del mosaico enanizante del sorgo (*Sorghum stunt mosaic virus*, SSMV)

El SSMV fue descrito por primera vez en California (EE.UU.), en 1981. Pertenece al grupo de los rhabdovirus; los viriones tienen forma de bala y miden aproximadamente 68 x 220 nm. Los síntomas predominantes en sorgo son: moteado clorótico y necrótico, estriado de las hojas, enanismo severo y reducción en el número de semillas. Además del sorgo, infecta al maíz y al trigo, en los cuales induce síntomas similares a los causados en sorgo (Mayhew y Flock 1981).

El virus no se transmite mecánicamente. Sin embargo, es transmitido eficientemente por el saltahoja *Graminella sonora* (Ball). Esta última característica lo diferencia del virus del mosaico del maíz (MMV), el cual es

transmitido por el saltahoja *Peregrinus maidis*; además, el MMV no infecta al trigo (Mayhew y Flock 1981; Frederiksen 1986). La sintomatología, la morfología de la partícula y la evidencia citológica sugieren que el SSMV está relacionado con el virus del mosaico del maíz, el cual habita en Hawaii y muchas áreas del Caribe (Mayhew y Flock 1981).

En transmisiones experimentales se ha obtenido 100 % de transmisión cuando se le ha permitido a los insectos un período de acceso a la adquisición de 48 horas y un período de acceso a la inoculación de 24 horas. La eficiencia de transmisión fue más alta a 30 °C o más, mientras que a 16 °C no ocurrió transmisión. El período de incubación es de 9-11 días (Creamery y He 1996).

Virus del mosaico del bromo (*Brome mosaic virus*, BMV)

Este virus fue encontrado infectando sorgo en condiciones naturales en Texas, EE.UU., en 1975, y probablemente está distribuido en todo el mundo en algunos de sus huéspedes naturales. El virus además del sorgo también infecta al trigo, avena, maíz, cebada y centeno. El BMV en sorgo es de poca importancia económica, pero es una amenaza potencial que podría alcanzar proporciones de epidemia (Damsteegt 1981; Frederiksen 1986).

Las plantas de sorgo infectadas con el BMV presentan hojas muy angostas y estrías cloróticas intervenales que en algunos casos parece un moteado. El

virus persiste en varios cereales y gramíneas perennes. Las plantas inoculadas mecánicamente pueden tornarse enanas (Lane 1977; Toler 1980). El BMV causa una reacción letal indicadora en los cultivares de maíz dulce Golden Giant y Nort Star (Frederiksen 1986). Se distingue de otros virus que infectan gramíneas por los síntomas que induce en maíz y su habilidad para infectar varias especies pertenecientes a la familia Chenopodiaceae (Brunt *et al.* 1996).

El BMV pertenece al grupo bromovirus; presenta una partícula isométrica de aproximadamente 25 nm de diámetro y contiene cuatro ARN componentes. Es transmitido por inoculación mecánica y por varias especies de coleópteros y nematodos (*Xiphinema*); no se transmite por semilla, áfidos o ácaros. Presenta un PIT de 80 °C, un PFD de 10^{-4} - 10^{-5} , y una LIV de 28 días, y más de un año en tejidos de hojas secadas al aire (Lane 1977). von Wechmar *et al.* (1984) demostraron que el BMV podía ser transmitido a través de la semilla de trigo, y determinaron que semillas aparentemente sanas contenían una alta contaminación superficial con el virus.

Numerosos cultivares de sorgo son susceptibles al BMV después de ser inoculados mecánicamente y algunos pueden ser utilizados como huéspedes diferenciales. Sin embargo, se ha encontrado resistencia al virus en algunos cultivares, los cuales no desarrollan síntomas (Frederiksen 1986).

Virus de la mancha clorótica del sorgo (*Sorghum chlorotic spot virus*, SgCSV)

El SgCSV fue reportado por primera vez como patógeno del sorgo en Kansas, EE.UU., sin evidencias posteriores de diseminación. Los síntomas que causa son manchas cloróticas elongadas (síntomas típicos) y manchas anilladas, así como amarillamiento en las hojas de líneas de sorgo y maíz infectadas sistémicamente. Además de estas gramíneas, también infecta otras especies pertenecientes a las familias Chenopodiaceae y Solana-ceae. Es transmitido mecánicamente y en la naturaleza se sospecha que sea diseminado a través de un hongo (Kendall *et al.* 1988; Brunt *et al.* 1996).

Las partículas virales tienen forma de varillas rígidas y presentan dos tamaños diferentes: 140 y 260 nm de longitud y 20 nm de diámetro. En preparaciones purificadas se observa al microscopio electrónico que las partículas de mayor tamaño se encuentran en mayor concentración. Cada virión está compuesto de una cápside proteica de 20,5 Kda que encapsida dos tipos de ARN, los cuales tienen poca o ninguna homología (Kendall *et al.* 1988).

El SgCSV es considerado un miembro del grupo furovirus y está serológicamente relacionado con el virus del mosaico del trigo diseminado a través del suelo (wheat soil-borne mosaic virus, WSBMV), el miembro tipo del grupo antes citado. Además, la morfología de las partículas, las

propiedades físico-químicas y la organización del genoma son casi idénticas al WSBMV (Kendall *et al.* 1988).

Virus del estriado del maíz (*Maize stripe virus*, MStpV)

Conocido en Venezuela como "virus de la hoja blanca" (Trujillo *et al.* 1974), causa en maíz una de las principales enfermedades que afecta a ese cultivo (Lastra y Trujillo 1977; Garrido y Ferreira 1988). Se encuentra diseminado en África, Australia, EE.UU., Perú, Venezuela y varias islas del Caribe (Gingery 1985). Originalmente fue descrito como una partícula icosaédrica (Kulkarni 1973; Trujillo *et al.* 1974), pero estudios posteriores lo describen como una nucleoproteína filamentosa que mide alrededor de 3 nm de diámetro (Gingery 1985; Gingery *et al.* 1979).

Pertenece al grupo tenuivirus y es transmitido de manera persistente por el saltahoja *Peregrinus maidis*; es retenido por el vector después de la muda, se multiplica en el insecto y se transmite congénitamente a la progenie a través de los huevos. No es transmitido mecánicamente, ni por contacto entre plantas, semillas o polen (Gingery 1985; Gingery *et al.* 1981). En sorgo causa clorosis, floración prematura y excesivo macollar. Numerosos sorgos silvestres son huéspedes del virus en Australia (Greber 1981; Gingery *et al.* 1981).

En Venezuela fue citado en sorgo por primera vez por Ferreira *et al.*

(1989). Las plantas afectadas presentaban estrías cloróticas interrumpidas que algunas veces coalescían y formaban bandas cloróticas o blanquecinas a lo largo de casi toda la hoja. En el maíz y la paja peluda la sintomatología era más severa y los porcentajes de infección eran más altos que en el caso del sorgo. Además, las plantas infectadas presentan panículas de menor tamaño y un ligero achaparramiento (Garrido, M. J., no publicado).

Virus de la enfermedad de Fiji de la caña de azúcar (*Sugarcane Fiji disease virus*, SFDV)

Este virus se encuentra distribuido en Australia, Fiji, Filipinas, Tailandia, Nueva Guinea, Java y New South Wales (Damsteegt 1981; Brunt *et al.* 1996). Los síntomas de la enfermedad de Fiji incluyen agallas o enaciones sobre el envés de las hojas y sobre los tallos. Además, se presenta acortamiento de los tallos con hojas endurecidas y mal formadas, plantas sin panojas o con panojas raquílicas que se tornan prematuramente de color marrón (Toler 1980).

El SFDV es un miembro del grupo fijivirus, familia reoviridae, y es transmitido de manera persistente por los saltahojas *Perkinsiella saccharicida*, *P. vitiensis* y *P. vastatrix*. El virus no se pierde con la muda del insecto, es transmitido congénitamente a la progenie y no es transmitido mediante inoculación mecánica (Brunt *et al.*

1996). Presenta una partícula isométrica de 70 nm de diámetro y contiene doble cadena de ARN (Hutchinson y Francki 1973).

Virus del arrosamiento del maní (*Peanut clump virus*, PCV)

Es un miembro del grupo furovirus y se encuentra localizado en Africa Occidental (Costa de Marfil, Senegal y Alto Volta). Infecta algunas especies de las familias Aizoaceae, Amaranthaceae, Chenopodiaceae, Cucurbitaceae, Gramineae, Leguminosae, Scrophulariaceae, Solanaceae y Tetragnoniaceae. De las especies que infecta, algunas son utilizadas como plantas indicadoras, tal es el caso de *Chenopodium amaranticolor* (Thouvenel y Fauquet 1981; Brunt *et al.* 1996).

Las partículas del PCV son bastones rígidos de dos longitudes: 190 y 245 nm de largo y 21 nm de ancho. Presenta un PIT de 64 °C, PFD de 10^{-4} y LIV de 28 días. Los viriones se localizan en el citoplasma e invaden todas las partes del huésped. En las células infectadas no se observan inclusiones citoplasmáticas (Brunt *et al.* 1996). El virus es transmisible mecánicamente en baja proporción y por el hongo *Polymyxa graminis* a gramíneas y maní (*Arachis hypogaea* L.); además, se transmite por injerto y semilla (Thouvenel y Fauquet 1981).

El millo gigante [*Sorghum arundinaceum* (Desv.) Stapf] es un huésped natural asintomático de este

virus y las plantas no son infectadas mediante inoculación mecánica con extractos de hoja, pero sí con extractos de raíces infectadas. Las plantas de sorgo son rápidamente infectadas si son plantadas en suelos contaminados con el hongo vector (Frederiksen 1986).

Virus del estriado amarillo del maíz (*Maize yellow stripe virus*, MYSV)

Fue detectado por primera vez en Egipto en 1981-1982. Es transmitido de manera persistente por el saltahoja *Cicadulina chinai* Ghauri, pero no por otras especies de saltahoja o mecánicamente. Además del maíz infecta al sorgo, trigo y cebada. En las plantas infectadas este virus induce tres tipos de síntomas: estrías finas, estrías gruesas y enanismo clorótico (Ammar *et al.* 1989; Ammar *et al.* 1990). Los dos tipos de estrías pueden ser producidos en hojas separadas de la misma planta, pero no han podido ser aislados en plantas diferentes mediante transmisiones con un solo saltahoja. El trigo, la cebada y, posiblemente, algunas malezas gramíneas pueden servir de reservorios naturales del MYSV y su saltahoja vector (Ammar *et al.* 1989).

El MYSV está asociado con estructuras filamentosas del tipo tenuivirus, además de estructuras filamentosas helicoidales (Ammar *et al.* 1989). Preparaciones purificadas de plantas infectadas naturalmente contenían filamentos finos de 4-8 nm de diámetro. Extractos crudos de MYSV no reaccionaron en pruebas de Elisa con antisueros contra MStpV y otros virus

que infectan al maíz (Ammar *et al.* 1990).

VIRUS TRANSMITIDOS EXPERIMENTALMENTE A SORGO

En condiciones de laboratorio el sorgo ha sido infectado por varios virus, los cuales son citados a continuación. Además, se menciona la forma y el tamaño de la partícula, así como la manera de diseminación del virus en condiciones naturales. Cuando no se le conoce vector se cita otra forma de transmisión. Estos virus son los siguientes:

Barley stripe mosaic virus (bastones: 130x20 nm; semilla), barley yellow dwarf virus, (isométrica: 25 nm; áfidos), bermuda grass etched-line virus (isométrica: 30 nm; saltahoja), cassia mild mosaic virus (filamentosa: 640x15 nm; mecánica), cucumber mosaic virus (isométrica: 30 nm; áfidos), cynodon mosaic virus (filamentosa: 500-630 nm; áfidos); elephant grass mosaic virus (filamentosa: 730 nm; mecánica); foxtail mosaic virus (filamentosa: 500x15 nm; mecánica), guinea grass mosaic virus (filamentosa: 825x15 nm; áfidos); maize chlorotic mottle virus (isométrica: 30 nm; coleópteros), maize mosaic virus (baciliforme: 225x90 nm; saltahoja), maize rough dwarf virus (isométrica: 70 nm; saltahoja) y panicum mosaic virus (isométrica: 28-30 nm; mecánica) (Damsteegt 1981; Frederiksen 1986; Martins y Kitajima 1993; Brunt *et al.* 1996).

VIRUS QUE INFECTAN SORGO IDENTIFICADOS EN VENEZUELA

Las investigaciones realizadas en Venezuela han permitido identificar en sorgo cinco virus: virus del mosaico de la caña de azúcar (Ordosgoitti y Malaguti 1969; Garrido 2000), virus del mosaico enanizante del maíz (Toler *et al.* 1982; Garrido y Trujillo 1988), virus de la hoja blanca del maíz (Ferreira *et al.* 1989), virus del mosaico del pasto johnson (Garrido y Trujillo 1993) y el virus del bandeo amarillo del sorgo (Garrido y Alfaro 1994; Garrido *et al.* 2000). Las razas de estos virus que han sido identificadas en el país aparecen mencionadas en la descripción que se presenta de cada uno de ellos en esta revisión.

DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE VIRUS EN SORGO

La detección inicial de los virus del sorgo en el campo se basa en la observación de los síntomas en el hospedante. Sin embargo, muchos síntomas virales pueden ser confundidos con los causados por micoplasmas, rickettsias o con síntomas de anomalías genéticas y nutricionales, lo cual pueden causar falsas identificaciones (Toler y Giorda 1992). Para establecer medidas de control de una enfermedad viral en sorgo, el diagnóstico debe ser preciso, fundamentado en un estudio rutinario básico. El uso de plantas indicadoras (huéspedes diferenciales) y el estudio del rango de huéspedes son muy importantes en el diagnóstico inicial. En

este diagnóstico se pueden incluir estudios microscópicos de inclusiones celulares. Luego, se pueden realizar observaciones rápidas al microscopio electrónico y estudios serológicos, en forma independiente o combinados (Toler y Giorda 1992).

Los estudios al microscopio electrónico suministrarían información sobre la forma de la partícula, y la serología podría mostrar relaciones con otros virus conocidos. Para tener un buen criterio sobre un determinado virus, es necesario purificarlo y obtener antisuero. Después de la purificación se puede obtener información sobre otros aspectos, tales como el coeficiente de sedimentación, el peso molecular, el punto isoeléctrico, el coeficiente de extinción y la relación A260/A280. Los estudios moleculares identificarían los tipos de proteínas, aminoácidos terminales y proteínas inducidas por el virus, pero que no forman parte de la partícula. También se analizaría el ácido nucleico y se caracterizarían los lípidos y poliaminas presentes (Toler y Giorda 1992).

Los métodos tradicionales de detección y diagnóstico de virus de plantas incluyen: síntomas, transmisibilidad, rango de huéspedes, relaciones virus/vector, propiedades inmunológicas, físicas y químicas de la partícula viral, morfología, proteína de la cápside y genoma (Hamilton *et al.* 1981). Con el desarrollo de la biotecnología, nuevos métodos basados en la hibridación de ácidos nucleicos, clonaje y secuenciación, así como también ARN-ds viral

específico, son usados para la detección y el diagnóstico. La identificación de un virus comprende la evaluación de todas las evidencias, positivas o negativas, y demuestran si el virus en cuestión está relacionado o no con virus conocidos que infectan al sorgo, o establecen la identidad de un nuevo virus (Toler y Giorda 1992).

PRINCIPALES TÉCNICAS MOLECULARES PARA LA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE VIRUS

Antes de describir brevemente las técnicas moleculares, es importante mencionar el fundamento de una prueba serológica, dada su importancia en el diagnóstico de virus de plantas. La serología es una de las principales formas de identificar virus y de establecer la relación o las similitudes entre éstos. Es útil para cuantificar la concentración de un virus y puede servir para indicar su presencia hasta en plantas que no muestran síntomas. Muchas de las pruebas serológicas son rápidas y requieren poco equipo. Las reacciones serológicas son el resultado de la combinación específica entre antígenos y anticuerpos. Un antígeno es una sustancia (generalmente una proteína) que cuando se inyecta a un animal (conejo o ratón) induce a la formación de proteínas que reaccionan específicamente con el antígeno y se denominan anticuerpos (Hampton *et al.* 1990).

La capa proteica de los virus es la que induce a la formación de anticuerpos, ya que posee determinantes específicos, componentes fundamen-

tales para su identificación, clasificación y conocimiento de la relación que pudiera existir entre ellos. Estos anticuerpos pertenecen al grupo de las gammaglobulinas, se hallan principalmente en el suero sanguíneo (antisuero), y constituyen una respuesta inmunológica o defensa a la introducción del agente infeccioso o antígeno que provocó su origen (virus). Anticuerpos producidos contra un virus específico se unirán a ese virus. Las pruebas serológicas difieren en cómo se detecta esa unión (Hampton *et al.* 1990).

Los métodos serológicos aplicados al diagnóstico y a la identificación de los virus de plantas son muy numerosos. La Sociedad Americana de Fitopatología (APS) publicó un manual que describe un amplio número de procedimientos serológicos utilizados en virología vegetal (Hampton *et al.* 1990). En esta revisión sólo se describen muy brevemente cuatro de los más utilizados en la actualidad: método de Ouchterlony, ELISA, microscopía electrónica inmunosorbente y dot blot. Además, se describen otras técnicas moleculares como hibridación molecular, reacción en cadena de la polimerasa y electroforesis.

Método de Ouchterlony o doble difusión en agar. Es uno de los métodos serológicos más utilizados en virología vegetal. Depende de la formación de una línea de precipitación en el lugar donde se encuentran el antígeno y el anticuerpo al difundir en un gel. Además de ser un método muy utilizado en el diagnóstico, es muy importante en el estudio de las

relaciones serológicas existentes entre virus. Cuando dos antígenos difunden en un gel desde posiciones vecinas hacia la misma fuente de anticuerpos se pueden observar tres patrones diferentes de precipitación en el lugar en que las líneas se juntan: a) cuando ambas líneas se fusionan; b) cuando hay formación de espolón o fusión parcial de las líneas; c) cuando las líneas de precipitación se entrecruzan. Estos patrones de precipitación representan reacciones de identidad, identidad parcial y no identidad entre los antígenos correspondientes.

La doble inmunodifusión es un método sencillo y barato. Sin embargo, tiene las desventajas de requerir gran cantidad de antisuero y de no poder ser usado con el extracto crudo de muchas plantas hospedantes naturales, debido a la baja concentración de virus presente en ellas, o a la presencia de factores en el extracto que interfieren con la reacción (Hampton *et al.* 1990; Fernández 1995).

ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Una de las variantes más utilizadas de esta técnica es el "doble sándwich de anticuerpo" (ELISA-DAS) y constituye la metodología utilizada en el diagnóstico de virus de plantas a gran escala.

La fracción de gammaglobulina precipitada de un antisuero se absorbe en los orificios de una placa de microtítulo de poliestireno y posteriormente se lava el exceso de anticuerpos. Las muestras estudiadas (generalmente savia de plantas

infectadas) se agregan a los orificios y se incuban para que el virus pueda reconocer su anticuerpo específico; luego, se remueve la savia mediante lavado. Una fracción de gammaglobulina adicional se conjuga con fosfatasa alcalina, se agregan alícuotas a cada orificio y se incuban. Si el virus está presente en el hueco, el conjugado enzima-anticuerpo se une al virus durante la incubación. Posteriormente se lava y se adiciona el sustrato (p-nitrofenil fosfato) a cada orificio y se incuban. La reacción positiva se evidencia por el desarrollo de una coloración amarilla claramente más intensa que en los testigos, lo cual permite la evaluación visual cualitativa y/o la evaluación colorimétrica cuantitativa de la relación antígeno/anticuerpo. Una molécula de enzima puede catalizar la conversión de muchas moléculas del sustrato, lo cual permite que pequeñas cantidades de antígeno puedan ser detectadas.

ELISA es un método que presenta una alta sensibilidad, lo cual le permite detectar concentraciones muy bajas de virus (1-10 ng/ml). Además, es relativamente simple, rápido, requiere de poca cantidad de antisuero, su costo es moderado y permite manejar un gran número de muestras. El equipo requerido para la detección rutinaria de algunos virus de plantas por esta técnica se encuentra disponible en forma comercial, y puede ser usado, aun sin tener acceso a las facilidades de un laboratorio (Hampton *et al.* 1990; Fernández 1995).

Microscopía electrónica inmunosorbente. Esta metodología, desarrollada con el nombre de "*serologically specific electron microscopy*" (SSEM), introdujo dos aspectos importantes: a) el recubrimiento de rejillas del microscopio electrónico con anticuerpos y su posterior incubación con el antígeno. Los anticuerpos así absorbidos a la rejilla atrapan selectivamente las partículas virales del extracto, concentrándolas y permitiendo una distribución uniforme; b) los lavados después de la absorción de los anticuerpos y de la unión con el antígeno, remueven residuos celulares y sales que interfieren con el proceso de tinción y visualización de las partículas virales.

Esta metodología presenta una alta sensibilidad (para algunos autores similar a ELISA), consume poca cantidad de antisuero y permite utilizar antisueros de bajo título. Las desventajas más importantes son el alto costo de operación y la disponibilidad del equipo de microscopía electrónica (Hampton *et al.* 1990; Fernández 1995).

Dot Blot. Este método es básicamente un ELISA-DAS, en el cual se utiliza como fase sólida papel de nitrocelulosa en vez de poliestireno y sustratos precipitables en lugar de sustratos solubles. Al igual que en ELISA la intensidad de color desarrollado permite la evaluación cualitativa y cuantitativa de la relación antígeno / anticuerpo. Sin embargo, el uso de sustratos precipitables que desarrollan un color fuerte, posibilitan una evaluación cualitativa visual más

eficiente. Su sensibilidad ha sido reportada como mejor que ELISA (0,2 ng/ml) debido a una unión más eficiente del anticuerpo al papel de nitrocelulosa. Además, es un método sencillo, de costo relativamente bajo que permite analizar gran número de muestras (Hampton *et al.* 1990; Fernández 1995).

Hibridación molecular. Esta prueba se basa en la habilidad de los ácidos nucleicos para formar híbridos cuando reaccionan con bandas homólogas. Cada virus tiene una secuencia de bases específicas que nos permite distinguirlo de los demás. Aún virus serológicamente relacionados pueden ser plenamente identificados a través de hibridación molecular.

La técnica consiste en el uso de una sonda (*probe*), representada por ácido nucleico, con una secuencia complementaria al ARN del virus en estudio. Por lo general, extractos de ácidos nucleicos de las muestras que se analizan son fijados a una matriz o fase sólida (nitrocelulosa), mientras que la sonda se encuentra en una fase líquida para moverse libremente. En un proceso de incubación, ambas moléculas (ARN viral y sonda) interactúan formando una molécula híbrida, cuya estabilidad depende del porcentaje de homología o complementariedad entre ellas.

Por lo general se utilizan sondas marcadas por métodos radiactivos (P^{32}). Sin embargo, se pueden usar sustancias no radiactivas tales como la biotina, fotobiotina y la dioxigenina. La luz emitida por la fuente de energía y la

presencia de fluorocromos excitados es detectada por una película fotográfica para rayos X. Si en un extracto de planta se encuentran ácidos nucleicos del patógeno, la sonda reacciona con ellos y se detecta una molécula híbrida por autoradiografía (si la sonda es radioactiva) o por la reacción correspondiente (marca colorimétrica). Si por el contrario, no hay ácido nucleico viral en el extracto, la sonda no reacciona, no forma moléculas híbridas y se elimina del ensayo en el proceso de lavado (Arauz 1998; Bustamante y Rivas 1999).

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Es un método in vitro en el cual secuencias específicas de ADN son amplificadas rápidamente con una alta especificidad y fidelidad usando oligonucleótidos iniciadores (*primers*) y una polimerasa de ADN termoestable (Taq ADN polimerasa).

El ADN del cual se parte para iniciar una PCR se obtiene del tejido vegetal infectado o de virus purificado. El ADN es separado en dos cadenas sencillas por desnaturalización a temperatura alta (94 °C). La ADN polimerasa requiere de una cadena preexistente de ADN molde y de un pequeño segmento sintético complementario a esa cadena. Este pequeño segmento que se usa para alargar o extender la cadena se conoce como iniciador o primer, y es un oligonucleótido de 15 a 30 bases nucleotídicas. Si el ADN de la muestra es complementario a los iniciadores, empieza la duplicación del ADN. De lo contrario, no hay amplificación, ya que

la polimerasa sólo puede añadir nuevos nucleótidos al final de una cadena de nucleótidos ya existente, la cual es proporcionada por los iniciadores. Para aparear o hibridar este oligonucleótido a la molécula molde se requiere de una temperatura de 45-65 °C, dependiendo del ensayo. Los *primers* son específicos únicamente para determinadas secuencias del ADN del organismo que se desea detectar. La extensión del iniciador se logra mediante una polimerización por medio de la ADN polimerasa y desoxiribonucleótidos trifosfatados (dNTPs). Esta extensión de los iniciadores resultará en la síntesis de una copia del ADN (ADNc). La ADN polimerasa funciona bien a 72 °C.

Los tres pasos anteriores (desnaturalización, apareamiento y extensión) constituyen un ciclo. El producto de la polimerización del primer ciclo sirve de molde para el siguiente, de tal modo que el número de copias del ADN blanco se duplica exponencialmente en cada ciclo de polimerización. Una molécula de ADN puede ser amplificada un millón de veces en pocas horas. La cantidad de producto nuevo sintetizado permite visualizar el segmento amplificado en un gel de agarosa o poliacrilamida por electroforesis. También se puede observar por hibridación con sondas marcadas. Si la secuencia buscada se amplificó, se considera que el patógeno estaba presente en la muestra.

Durante la aplicación de PCR en el diagnóstico se podrían detectar cantidades que por pequeñas no serían importantes como causa de una

enfermedad. También se podría detectar patógenos no viables. Por esta razón, los resultados obtenidos por PCR deben analizarse en conjunto con otros antecedentes para una interpretación ponderada de ellos (Hadidi *et al.* 1995).

Electroforesis. Este método está basado en la migración de macromoléculas de ácidos nucleicos y proteínas en un campo eléctrico, utilizando matrices inertes de poliacrilamida o agarosa. La distancia recorrida es proporcional a la carga neta y al tamaño de la molécula. Luego de la migración, se añade al gel una sustancia que reaccione con la molécula de interés, para revelar su posición. El patrón de bandas resultantes en el gel es específico para un organismo dado.

En el caso de los virus, la electroforesis ha sido aplicada para detectar los dos componentes virales: proteínas y ARN. La proteína de la cápside puede encontrarse en altas concentraciones en tejido infectado, por lo cual, una simple comparación de patrones polipeptídicos entre material sano e infectado pudiera indicar la presencia del patógeno. Cuando la concentración de la cápside es baja, las proteínas de las plantas, que forman un fondo muy complicado, reducen la utilidad de la técnica. Cada virus presenta un patrón electroforético distinto, dependiendo del tamaño y distribución del genoma.

Durante la replicación de los virus que contienen ARN (90% de los virus fitopatógenos) se forman unas

moléculas de ARN de doble cadena que pueden ser aisladas por su distintiva afinidad para unirse a celulosa CF-11. La planta sana normalmente no presenta este tipo de moléculas de ARN bicatenario, por ello su detección en tejido sospechoso, casi siempre se debe a la presencia de un virus.

La electroforesis es particularmente útil para la detección y purificación de viroides debido a la migración anormal de las moléculas circulares de ácido nucleico en geles de poliacrilamida que contienen urea. Estas moléculas por lo general migran más lentamente que sus equivalentes lineares; por lo tanto, se separan más fácilmente de los demás ácidos nucleicos (Arauz 1998; Bustamante y Rivas 1999).

Los métodos moleculares de diagnóstico son rápidos, precisos y altamente sensibles. Sin embargo, requieren de equipo especial y no distinguen entre células viables y muertas. Algunas técnicas todavía requieren el uso de radiactividad, por lo cual son difíciles de usar en diagnósticos de rutina.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Abbott, E. V. 1961. A new strain of sugarcane mosaic virus (Abstr.). *Phytopathology* 51:642.
- Abbott, E. V. and Tippett, R. L. 1966. Strains of sugarcane mosaic virus. U.S. Dept. Agric. Techn. Bull. 1340. 25 p.
- Alamo, L. 1927. El mosaico, matizado o

- rayas amarillas de la caña de azúcar. Caracas, Ministerio de Fomento. 55 p.
- All, J. N., Kuhn, C. W., and Jellum, M. D. 1981. Control strategies for vectors of virus and viruslike pathogens of maize and sorghum. *In* Virus and viruslike diseases of maize in the United States. D. T. Gordon, J. K. Knoke, and G. E. Scott (eds.). Southern Cooperative Series Bulletin 247. pp. 127-131.
- Ammar, E. D., Elnagar, S., Abul-Ata, A. E., and Sewify, G. H. 1989. Vector and host-plant relationships of the leafhopper-borne maize yellow stripe virus. *J. Phytopathology* 126: 246-252.
- Ammar, E. D., Gingery, R. E., Gordon, D. T., and Abul-Ata, A. E. 1990. Tubular helical structures and fines filaments associated with the leafhopper-borne maize yellow stripe virus. *Phytopathology* 80: 303-308.
- Arauz, L. F. 1998. Fitopatología. Un enfoque agroecológico. Costa Rica, Edit. Universidad de Costa Rica. 467 p.
- Blanco, R. A. y Garrido, M. J. 1996. Identificación de algunos virus que infectan al sorgo forrajero en Maracay. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 13: 273-284.
- Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M. J., Gibbs, A. J., and Watson, L. 1996. *Viruses of Plant*. CAB International, Oxon, UK. 1484 p.
- Bustamante, E. Y Rivas, G. 1999. Elementos e importancia del diagnóstico de problemas fitosanitarios. *Manejo Integrado de Plagas* 52: 1-15.
- Creamer, R. and He, X. H. 1996. Transmission of sorghum stunt mosaic virus by *Graminella sonora*. *Phytopathology* 86(11): S74 (supplement).
- D'Lima, C. M. and Garrido, M. J. 1995. First report of sugarcane mosaic virus strain MB in Venezuela. *Plant Dis.* 79: 212.
- Damsteegt, V. D. 1981. Exotic virus and viruslike diseases of maize. *In* Virus and viruslike diseases of maize in the United States. D. T. Gordon, J. K. Knoke and G. E. Scott (eds.). Southern Cooperative Series Bulletin 247. pp. 110-123.
- Fernández, M. V. 1995. Virus Patógenos de las Plantas y su Control. Tomo I. Argentina, Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. 701 p.
- Ferreira, I., Garrido, M. J. y Trujillo, G. E. 1989. Virus de la hoja blanca del maíz infectando sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) en Maracay, Aragua. *Fitopatol. Venez.* 2: 23.
- Ford, R. E., Tomic, M., and Shukla, D. D. 1989. Maize dwarf mosaic virus. Descriptions of plant viruses No. 341. *Assoc. Appl. Biol.* Wellesbourne, Warwick, U.K. 5 p.
- Frederiksen, R. A. 1986. Compendium of sorghum diseases. *American Phytopathological Society*, Minnesota, EE.UU. 82 p.
- Garrido, M. J. 2000. First report of sugarcane mosaic virus strain MB infecting sorghum in Venezuela. *Journal of Plant Pathology* 82: 65.

- Garrido, M. J. y Alfaro, M. 1994. Detección del virus del bandeo amarillo del sorgo infectando sorgo forrajero en Venezuela. *Phytopathology* 84: 868.
- 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. N. S.* 9(1): 123-124.
- 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.
- Garrido, M. J. y Ferreira, I. C. 1988. La hoja blanca del maíz. *Revista Machete*, No. 18, p. 14.
- Garrido, M. J. y Trujillo, G. E. 1988. Identificación de una nueva raza del virus del mosaico enanizante del maíz (MDMV) en Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 1:77-81.
- Garrido, M. J. y Trujillo, G. E. 1989a. Algunos hospederos naturales del virus del mosaico enanizante del maíz-raza venezolana (MDMV-V). *Fitopatol. Venez.* 2: 45.
- Garrido, M. J. y Trujillo, G. E. 1989b. Algunos aspectos epidemiológicos preliminares del virus del mosaico enanizante del maíz raza venezolana. *Rev. Fac. Agron. (Maracay)* 15: 119-128.
- Garrido, M. J. y Trujillo, G. E. 1992. Hospederos adicionales del virus del mosaico enanizante del maíz raza venezolana. *Rev. Fac. Agron. (Maracay)* 18: 67-77.
- Garrido, M. J. and Trujillo, G. E. 1993. Occurrence of johnsongrass mosaic virus on sorghum in Venezuela. *Plant Dis.* 77: 847.
- Garrido, M. J. y Trujillo, G. E. 2000. Detección del virus del bandeo amarillo del sorgo en tres localidades del estado Aragua. *Fitopatol. Venez.* 13: en prensa.
- Garrido, M. J. y Trujillo, G. E. 2001a. Transmission of *Sorghum yellow banding virus* by vascular puncture of maize seeds. *Journal of Plant Pathology* 83: in press.
- Garrido, M. J. y Trujillo, G. E. 2001b. Three sorghum cultivars differentiating sorghum yellow banding virus in Venezuela. *Journal of Plant Pathology* 83: in press.
- Garrido, M. J. y Trujillo, G. E. 1997. Infección natural de la paja johnson y del falso johnson con el virus del bandeo amarillo del sorgo (Resumen). *Fitopatol. Venez.* 10: 52.
- Garrido, M. J., Ferreira, I. C. y de Uzcátegui, R. C. 1998. Identificación de la raza D del virus del mosaico de la caña de azúcar infectando grama San Agustín en Venezuela. *Interciencia* 23: 107-112.
- Garrido M. J., Trujillo G. E., Cuello de Uzcátegui, R. 2000. Ocurrencia del virus del bandeo amarillo del sorgo en Venezuela. *Interciencia* 25: 321-327.
- Garrido, M. J., Trujillo, G. E. y Cuello de Uzcátegui, R. 1994. Identificación de aislamientos virales proce-

- dentes de zonas productoras de sorgo. *Agronomía Trop.* 44: 263-278.
- Garrido, M. J., Trujillo, G. E. y C de Uzcátegui, R. 1996. Identificación de la raza A del virus del mosaico enanizante del maíz infectando sorgo en Venezuela. *Interciencia* 21: 166-170.
- Gingery, R. E. 1985. Maize stripe virus. *Descriptions of plant viruses No. 300.* AAB/NVRS, Wellesbourne, Warwick, UK. 4 p.
- Gingery, R. E., Bradfute, O. E., Gordon, D. T., and Nault, L. R. 1978. Maize chlorotic dwarf virus. *Descriptions of plant viruses No. 194.* Commonw. Mycol. Inst., AAB. Kew, Surrey, England. 4 p.
- Gingery, R. E., Nault, L. R., and Bradfute, O. E. 1981. Maize stripe virus: characteristics of a member of a new virus class. *Virology* 122: 99-108.
- Gingery, R. E., Nault, L. R., Tsai, J. H., and Lastra, R. J. 1979. Occurrence of maize stripe virus in the United States and Venezuela. *Plant Dis. Repr.* 63: 341-343.
- Giorda, L. M., Toler, R. W., and Odvody, G. 1987. A virus disease of sorghum x sudangrass hybrid in Texas (Abstr.). *Phytopathology* 77: 641.
- Giorda, L. M., Toler, R. W., and Alexander, J. D. 1988. Host range studies of sorghum yellow banding, a newly recognized virus disease of grain sorghum and sorghum x sudangrass hybrid in Texas (Abstr.). *Phytopathology* 78: 627.
- Greber, R. 1981. Maize stripe disease in Australia. *Aust. J. Agric. Res.* 32:27-36.
- Hadidi, A., Levy, L., and Podleckis, E. V. 1995. Polymerase chain reaction technology in plant pathology. *In Molecular Methods in Plant Pathology.* R. P. Singh and U. S. Singh (eds.). Boca Raton, EE.UU. CRC Press, Inc. pp. 167-187.
- Hamilton, R. I., Edwardson, J. R., Francki, R. I. B., Hsu, H. T., Hull, R., Koenig, R., and Milne, R. G. 1981. Guidelines for the identification and characterization of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 54: 223-241.
- Hampton, R., Ball, E., and De Boer, S. (eds.). 1990. *Serological Methods for Detection and Identification of Viral and Bacterial Plant Pathogens.* Minnesota, EE.UU., APS Press. 389 p.
- Hutchinson, P. B. and Francki, R. I. B. 1973. Sugarcane fiji disease virus. *Descriptions of plant viruses No. 119.* Commonw. Mycol. Inst., AAB. Kew, Surrey, England. 3 p.
- Kendall, T. L., Langenberg, W. G., and Lommel, S. A. 1988. Molecular characterization of sorghum chlorotic spot virus, a proposed furovirus. *J. Gen. Virol.* 69: 2335-2345.
- Klaassen, V. A. and Falk, B. W. 1989. Characterization of a California isolate of sorghum yellow banding virus. *Phytopathology* 79: 646-650.
- Koike, H. and Gillaspie, A. G. 1976. Strain M, a new strain of sugarcane

- mosaic virus. *Plant Dis. Repr.* 60: 50-54.
- Kulkarni, H. Y. 1973. Comparison and characterization of maize stripe and maize viruses. *Ann. Appl. Biol.* 75:205-216.
- Lane, L. 1977. Brome mosaic virus. *Descriptions of plant viruses No. 180. Commonw. Mycol. Inst., AAB. Kew, Surrey, England.* 5 p.
- Lastra, R. y Trujillo, G. E. 1977. Enfermedades del maíz en Venezuela causadas por virus y micoplasmas. *Agronomía Trop.* 25:441-455.
- Martins, C. R. F. and Kitajima, E. W. 1993. A unique virus isolated from elephant grass. *Plant Dis.* 77: 726-729.
- Mayhew, D.E. and Flock, R.A. 1981. Sorghum stunt mosaic. *Plant Dis.* 65:84-86.
- McKern, N. M., Shukla, D. D., Toler, R. W., Jensen, S. G., Tosic, M., Ford, R. E., Leon, O., and Ward, W. C. 1991. Confirmation that the sugarcane mosaic virus subgroup consist of four distinct potyviruses by using peptide profiles of coat proteins. *Phytopathology* 81: 1025-1029.
- Nault, L. R. and Knoke, J. K. 1981. Maize vectors. *In Virus and viruslike diseases of maize in the United States.* D. T. Gordon, J. K., Knoke, and G. E. Scott (eds.). Southern Cooperative Series Bulletin 247. pp. 77-84.
- Odvody, G. N., Toler, R. W., and Remmers, J. 1990. Occurrence and expression of sorghum yellow banding in south Texas. *Phytopathology* 80(10): 1027
- Ordosgoitti, A. y González, V. 1977. Identificación de las razas A y H del mosaico de la caña de azúcar en Venezuela. *Resúmenes IX Jornadas Agronómicas, Maracay, Venezuela.* pp. 224-225.
- 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.
- Ordosgoitti, A., Aponte, A. y Navas, R. 1985. Identificación de la raza B del virus del mosaico de la caña de azúcar en la región central de Venezuela. *Memorias IX Seminario Nacional de Fitopatología, Maracay, Venezuela.* p. 9.
- Rangel, E. A., Garrido, M. J. y Trujillo, G. E. 1995. Identificación de dos aislamientos del virus del mosaico enanizante del maíz raza A y estudio de su rango de huéspedes. *Fitopatol. Venez.* 8: 2-6.
- Rangel, Y., Garrido, M. J. y Monteverde, E. 1996. Efecto del virus del mosaico enanizante del maíz raza venezolana sobre algunas características biométricas asociadas al rendimiento de tres cultivares de sorgo. *Fitopatol. Venez.* 9: 36-41.
- Rosenkranz, E. 1980. Taxonomic distribution of native Mississippi grass species susceptible to maize dwarf mosaic and sugarcane mosaic viruses. *Phytopathology* 70: 1056-1061.

- Rosenkranz, E. 1981. Host range of maize dwarf mosaic virus. *In* Virus and viruslike diseases of maize in the United States. D. T. Gordon, J. K. Knoke, and G. E. Scott (eds.). Southern Cooperative Series Bulletin 247. pp. 152-162.
- Shukla, D. D. and Teakle, D. S. 1989. Johnsongrass mosaic virus. Descriptions of plant viruses No. 340. Assoc. Appl. Biol. Wellesbourne, Warwick, U.K. 5 p.
- Shukla, D. D., Toler, R. W., and Jensen, S. G. 1992. Sorghum mosaic virus. Descriptions of plant viruses No. 343. Assoc. Appl. Biol. Wellesbourne, Warwick, U.K. 5 p.
- 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 directed towards virus-specific N-termini of coat proteins. *Phytopathology* 79: 223-229.
- Teakle, D. S., Shukla, D. D., and Ford, R. E. 1989. Sugarcane mosaic virus. Descriptions of plant viruses No. 342. Assoc. Appl. Biol. Wellesbourne, Warwick, UK. 5 p.
- Thouvenel, J. C. and Fauquet, C. 1981. Peanut clump virus. Descriptions of plant viruses No. 235. Commonw. Mycol. Inst., AAB. Kew, Surrey, England. 4 p.
- Toler, R. W. 1980. Virus and viral diseases of sorghum. *In* Sorghum Diseases, A World Review. ICRISAT, Hyderabad, India. pp. 395-408.
- Toler, R. W. 1985. Maize dwarf mosaic, the most important virus disease of sorghum. *Plant Dis.* 69: 1011-1015.
- Toler, R. W. and Giorda, L. M. 1992. Detection and identification of viruses and virus diseases of sorghum. *In* Sorghum and millets diseases: a second world review. W. A. J. de Milliano, R. A. Frederiksen, and G. D. Bengston (eds.). Patancheru, India. ICRISAT. pp. 153-159.
- Toler, R. W., Rosenow, D. T., Riccelli, M., and Mena, H. 1982. Variability of venezuelan isolate of maize dwarf mosaic virus in sorghum. *Plant Dis.* 66: 849-850.
- Tomic, M., Ford, R. E., Shukla, D. D., and Jilka, J. 1990. Differentiation of sugarcane, maize dwarf, johnsongrass, and sorghum mosaic viruses based on reactions of oat and some sorghum cultivars. *Plant Dis.* 74: 549-552.
- Trujillo, G. E., Acosta, J. M., and Piñero, A. 1974. A new corn virus disease found in Venezuela. *Plant Dis. Repr.* 58: 122-126.
- Von Wechmar, M. B., Kaufmann, A., Desmarais, F., and Rybicki, E. P. 1984. Detection of seed-transmitted brome mosaic virus by Elisa, radial immunodiffusion and immunoelectroblotting tests. *Phytopath. Z.* 109: 341-352.
- White, D. G. 1999. Compendium of corn diseases, 3th ed. APS Press, Minnesota, EE.UU. 78 p.
- Williams, L. E., Findley, W. R., Dollinger, E. J. and Ritter, M. 1968. Seed transmission studies of maize dwarf mosaic virus in corn. *Plant Dis. Repr.* 52: 863-864.