

PRESENCIA DEL VIRUS BACILIFORME DE LA CAÑA DE AZÚCAR EN VENEZUELA

Mario José Garrido¹, Alfonso Ordosgoitti² y Benham E. L. Lockhart³

¹Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Instituto de Botánica Agrícola, Apartado 4579, Maracay 2101, Venezuela. ²Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Departamento de Protección Vegetal, Apartado 4653, Maracay 2101. ³University of Minnesota, Department of Plant Pathology, Twin Cities Campus, St. Paul, MN 55108, EE.UU.

Recibido: 03 de mayo de 2004

Aceptado: 30 de noviembre de 2004

RESUMEN

Garrido, M. J., Ordosgoitti, A. y Lockhart, B. E. L. 2004. Presencia del virus baciliforme de la caña de azúcar en Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 17: 38-42.

Durante el examen de preparados de enjuague al microscopio electrónico de muestras de caña de azúcar (*Saccharum* sp.) cv D 15841 con síntomas de infección por el virus del mosaico de la caña de azúcar, se evidenciaron partículas filamentosas típicas de los potyvirus. Adicionalmente se observaron algunas partículas baciliformes similares a las del grupo badnavirus donde se incluye el virus baciliforme de la caña de azúcar (SCBV). A través de microscopía electrónica inmunoabsorbente (MEI), utilizando extractos parcialmente purificados de plantas infectadas y antisuero contra el SCBV, sólo se observaron partículas baciliformes de ca 130 x 30 nm capturadas por el antisuero. Esto evidenció que el virus en estudio está estrechamente relacionado con el SCBV. El virus fue transmitido por la escama rosada de la caña de azúcar, *Saccharicoccus sacchari*, y mediante transmisión mecánica, en baja proporción (<10%), a caña de azúcar cv CP 29291. En algunas plantas de este cultivar no se observaron síntomas foliares; sin embargo, la transmisión del virus fue verificada por MEI. El virus no fue transmitido mecánicamente a un grupo de plantas indicadoras. Sobre la base de estos resultados, se concluye que el virus baciliforme presente en el cv D 15841 es el SCBV. Este constituye el primer reporte del SCBV infectando caña de azúcar en Venezuela. El virus fue detectado por MEI en nueve cultivares experimentales y comerciales de caña de azúcar en Yaritagua, Edo. Yaracuy y Maracay, Edo. Aragua.

ABSTRACT

Garrido, M. J., Ordosgoitti, A. and Lockhart, B. E. L. 2004. Presence of *Sugarcane bacilliform virus* in Venezuela. *Fitopatol. Venez.* 17: 38-42.

During electron microscopy examination of leaf dip preparations of samples of sugarcane (*Saccharum* sp.) cv D 15841 showing foliar symptoms of infection by *Sugarcane mosaic virus* were evidenced flexuous rods typical of potyvirus group. Additionally were found to contain some bacilliform viruslike particles resembled those of the badnavirus group that include *Sugarcane bacilliform virus* (SCBV). In immunosorbent electron microscopy (ISEM) tests using partially purified extracts of infected plants was only observed bacilliform particles measuring approximately 130 x 30 nm trapped by antiserum against SCBV. This evidenced that the virus was serologically closely related to SCBV. The virus was transmitted by the pink sugarcane mealybug, *Saccharicoccus sacchari*, and by mechanical inoculation at relatively low rate (<10 %) to healthy sugarcane cv CP 29291. No foliar symptoms were observed on some infected plants of sugarcane cv CP 29291, but virus transmission was verified by ISEM. The virus was not transmitted mechanically to one set of healthy test plants. Based on the above characteristics, the bacilliform virus present in the cv D 15841 is considered to be SCBV. This is the first report of SCBV infecting sugarcane in Venezuela. The virus was detected by ISEM in nine experimental and commercial cultivars of sugarcane in Yaritagua, Yaracuy State and Maracay, Aragua State.

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar (*Saccharum* sp.) es un cultivo que reviste gran importancia desde el punto de vista agrícola en Venezuela, ya que contribuye con la producción de materia prima importante para la agroindustria venezolana y es una fuente generadora de empleos tanto directos como indirectos. Sus usos van desde la obtención de sacarosa (azúcar) hasta la obtención de materia prima para los aglomerados de construcción y la producción de materia orgánica para mejorar las características del suelo (4).

La caña de azúcar es infectada por numerosos agentes patógenos, tales como virus, hongos, bacterias, fitoplasmas y nematodos, que le causan enfermedades de diversa importancia económica y representan uno de los factores que merman la producción de azúcar en el ámbito mundial. En los últimos años ha aumentado notablemente el número de organismos patógenos y sus razas y serovares, y se han incrementado los ya existentes. Han sido reportadas más de 126 enfermedades en unos 109 países y regiones cañeras, donde se produce cerca del 60% del azúcar que se consume en el mundo. Por ello es necesario conocer la situación fitopatológica de las siembras de caña de azúcar, para estar en condiciones de prevenir o reducir las pérdidas de la cosecha que ocasionan las enfermedades (5).

De todas las enfermedades que afectan la caña de azúcar, las de origen viral representan un papel importante en este

cultivo, debido a la severidad de los daños que pueden ocasionar en los cultivares susceptibles y a que el control químico es poco eficaz y por lo general no se posee suficiente material vegetal resistente. Con relación a este tipo de enfermedades, en Venezuela han sido identificados el virus del mosaico de la caña de azúcar (*Sugarcane mosaic virus*, SCMV) (7,18) y el virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar (*Sugarcane yellow leaf virus*, SeYLV) (10).

En octubre de 2001, durante el examen de preparaciones de enjuague al microscopio electrónico de muestras de caña de azúcar cv D 15841 con síntomas parecidos a los causados por el SCMV, se evidenciaron partículas filamentosas flexuosas típicas de los potyvirus. Adicionalmente, se observaron algunas partículas baciliformes, muy similares a las del virus baciliforme de la caña de azúcar (*Sugarcane bacilliform virus*, SCBV) (13). El objetivo de este trabajo fue identificar al virus baciliforme presente en el cultivar D 15841. Un avance de esta investigación fue presentado con anterioridad en forma de resumen (8).

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento viral. Se utilizó un aislamiento proveniente de plantas de caña de azúcar cv D 15841, infectadas en condiciones naturales, cultivada en la Estación Experimental de Yaritagua, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas

(INIA), Yaritagua, estado Yaracuy. El aislamiento viral fue obtenido mediante inoculación a través de insectos (escamas) a plantas de caña de azúcar cv CP 29291 libres de virus. Estas plantas fueron mantenidas en un umbráculo para plantas enfermas y propagadas vegetativamente.

Inoculación mecánica y rango de huéspedes. Tejido foliar joven del cv CP 29291 infectado, exhibiendo síntomas de un moteado suave, fue cortado finamente y macerado en una solución de 1% K_2HPO_4 + 0,1% Na_2SO_3 en la proporción 1:5 (p/v). Al extracto filtrado se le agregó carborundo (ca 2%) y se aplicó con el dedo índice a las hojas más nuevas de plantas sanas de varias especies indicadoras de virus. Tras lavado de las hojas, las plantas inoculadas fueron colocadas en un umbráculo a prueba de insectos, a 26-28 °C, 65-85 hr y 30.500 lux (promedio). Las plantas fueron evaluadas hasta 45 d después de la inoculación y la transmisión viral fue chequeada por microscopía electrónica.

Microscopía electrónica. Extracto crudo de tejido foliar y el virus parcialmente purificado fueron diluidos en agua destilada y se colocaron sobre rejillas de cobre previamente cubiertas con colodión y reforzadas con carbón evaporado. Posteriormente fueron coloreadas por tinción negativa con fosfotungstato sódico al 2%, pH 6,8 (13).

Transmisión por insectos. Se utilizó como vector la escama rosada de la caña de azúcar, *Saccharicoccus sacchari* (Cockerell). Plantas de caña de azúcar cv CP 29291 infectadas con el virus y sobre las cuales crecían las escamas sirvieron como fuente de inóculo. Para la inoculación se cortaban pequeñas secciones del tallo con escamas alimentándose, sin disturbar los insectos adheridos. Los pequeños segmentos de tallo se colocaban debajo de la hoja envainadora de plantas sanas del cv CP 29291. Las plantas fueron mantenidas en un umbráculo durante 6 meses y posteriormente fueron analizadas por inmunomicroscopía electrónica para la detección del virus (6).

Purificación parcial. Para la detección del SCBV mediante microscopía electrónica inmunoabsorbente se utilizó extractos de hojas parcialmente purificados. Estos extractos fueron preparados de la manera siguiente: Muestras de 5 g de tejido foliar congelado en nitrógeno líquido fueron pulverizadas y mezcladas con 18 ml de 200 mM buffer fosfato, pH 6, que contenía 10 mM EDTA, 0,5% Na_2SO_3 (p/v), 3% polietileno glicol (p/v) y 2% polivinilpirrolidina (p/v). El extracto fue filtrado a través de gasa y centrifugado a 12000 g durante 10 min y se descartó el sedimento. Al sobrenadante se le añadió Triton X-100 hasta una concentración final de 2% (v/v). Después de agitar la mezcla (17 ml) por 30 seg, fue colocada sobre un colchón de 5 ml de 30% sacarosa (p/v) en 100 mM buffer fosfato pH 7,2 y centrifugado 1 h a 109000 g. Cada sedimento fue resuspendido en 100 µL de 10 mM buffer fosfato y 150 mM NaCl, pH 7,2. La suspensión fue clarificada por agitación rápida con 50 µL de cloroformo seguido por centrifugación a 12400 g por 6 min. El sobrenadante fue removido y constituyó la preparación parcialmente purificada (1).

Microscopía electrónica inmunoabsorbente. Fue utilizado un antisuero policlonal de amplio espectro, preparado contra una mezcla de aislamientos del SCBV y del virus del rayado del banano (*Banana streak virus*, BSV) de acuerdo a lo descrito por Ndowna y Lockhart (17). Cada rejilla del microscopio electrónico recubierta con carbón fue

colocada sobre una gota de antisuero diluido 1:1000 en 10 mM Tris-HCl, pH 7,4, durante 15 min. Luego, se lavó la rejilla con 20 gotas de 10 mM Tris-HCl, pH 7,4, y fue colocada sobre una gota de la suspensión viral parcialmente purificada durante 1 h. Cada rejilla fue enjuagada con 15 gotas de 10 mM Tris-HCl, luego 15 gotas de agua destilada, y por último 15 gotas de 2% fosfotungstato sódico conteniendo 100 µg/ml de bacitracina (pH 7) y examinada al microscopio electrónico (1,16).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Transmisión mecánica, sintomatología y rango de huéspedes. El virus en estudio (VEE) fue transmitido en baja proporción (<10%) por inoculación mecánica al cv CP 29291 utilizando como inóculo savia de plantas enfermas del mismo cultivar. En el cv CP 29291 indujo síntomas de moteado suave con pequeñas estrías cloróticas. En algunos casos no se observaron síntomas foliares asociados con la infección viral. Sin embargo, la transmisión del virus fue verificada mediante preparados de enjuague (*dipping*) observados al microscopio electrónico y por purificación parcial e inmunomicroscopía electrónica. En las plantas testigo no se observaron las partículas baciliformes presentes en las plantas inoculadas. Estos síntomas son similares a los ocasionados por el SCBV, cuya infección induce síntomas inciertos y variables y en la mayoría de los cultivares de caña de azúcar es asintomático, mientras que en otros puede causar un moteado suave (Fig. 1) y estrías cloróticas (2,20,21). Lockhart y Autrey (13) transmitieron al SCBV por inoculación mecánica de plantas de caña de azúcar cv Mex 57-473 a plantas sanas del cv CP 44-01. No observaron síntomas foliares, pero la transmisión fue verificada por microscopía electrónica. El bajo porcentaje de infección obtenido mediante transmisión mecánica ha sido señalado por otros investigadores para el SCBV (2,13).

El VEE no se transmitió mecánicamente a ninguna de las especies siguientes: sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] cvs Río y Atlas, maíz (*Zea mays* L.) cvs Bonanza y Seflorca 02, pasto johnson [*Sorghum halepense* (L.) Pers.], frijol [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] cv Tuy, *Nicotiana glutinosa* L., *Nicotiana benthamiana* Domin., avena (*Avena sativa* L.) cv Garland, cebada (*Hordeum vulgare* L.) cv Pennrad y trigo (*Triticum aestivum* L.) cv Monon. Después de 45 d de inoculadas las plantas no mostraron síntomas de infección viral y el VEE no fue detectado en preparados de enjuague vistos al microscopio electrónico. Resultados similares fueron obtenidos por Lockhart y Autrey (13) al inocular el SCBV en un grupo de plantas indicadoras (nueve especies) comúnmente utilizadas en bioensayos a nivel de laboratorio para la identificación de virus. En esta investigación seis de esas especies no fueron infectadas por el VEE. El SCBV difiere de la mayoría de los badnavirus en su capacidad de infectar un amplio rango de huéspedes, entre los cuales figuran: *S. halepense*, *Brachiaria* sp., *Panicum maximum*, *Rottboellia exaltata*, *Pennisetum purpureum*, *Saccharum robustum*, *S. spontaneum*, *S. barberi*, *Erianthus arundinaceus* y *E. ravennae*, además de caña de azúcar (2,21). Por otra parte, el SCBV ha sido transmitido experimentalmente a arroz (*Oryza sativa* L.) y bananos (*Musa* sp.) usando inoculación con *Agrobacterium tumefaciens* con un clon del SCBV (3).

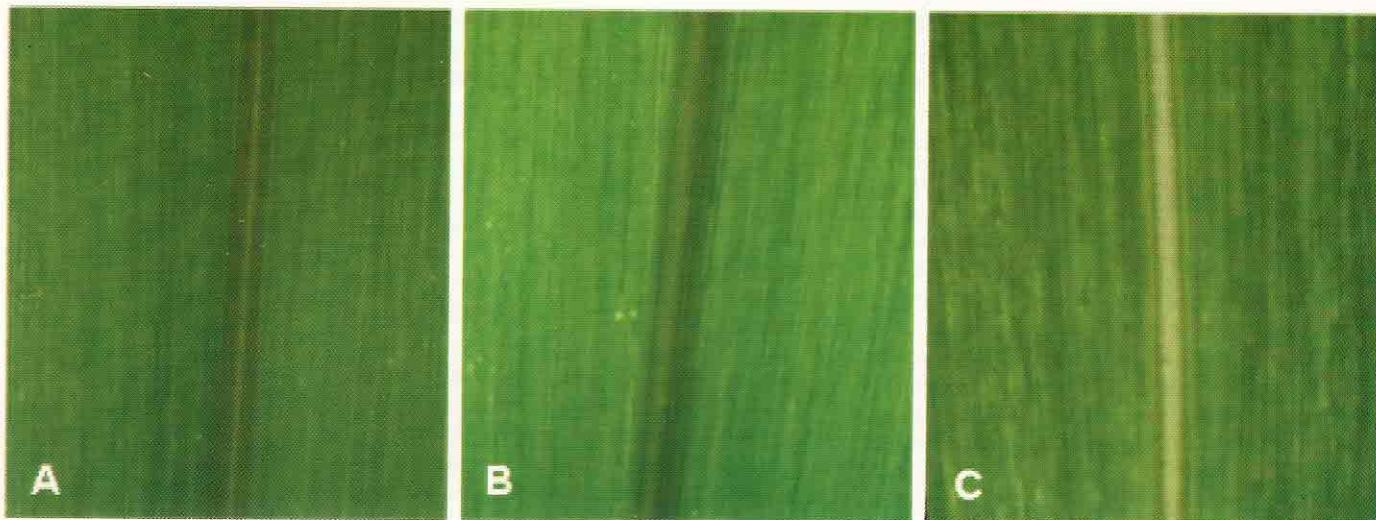


Fig. 1. Síntomas foliares inducidos por el virus baciliforme de la caña de azúcar en tres cultivares de caña de azúcar infectados en condiciones naturales: A) Moteado suave en el cv CP 31588; B) Moteado en el cv CP 29291; C) Moteado y estrías cloróticas en el cv Salangore.

Purificación parcial, microscopía electrónica inmunoabsorbente, morfología y tamaño de las partículas. En los extractos parcialmente purificados provenientes de tejidos infectados con el VEE se observaron únicamente partículas virales de morfología baciliforme atrapadas por el antisuero contra el SCBV, de un tamaño promedio de 130 x 30 nm (Fig. 2), lo que demuestra una estrecha relación serológica entre el VEE y el SCBV. El número de partículas observadas variaba con la muestra y en los preparatos de enjuague vistos al microscopio electrónico se observaron partículas baciliformes poco contrastadas y en muy bajo número. La baja concentración de partículas en ambos casos permite inferir que el VEE se presenta en baja concentración en los tejidos de las plantas infectadas. La forma y el tamaño de las partículas son característicos del grupo badnavirus, del cual es miembro el SCBV. Este virus presenta partículas baciliformes,

contentivas de un genoma de doble cadena de ADN, está serológicamente relacionado con el BSV y en la naturaleza es diseminado por pseudocóccidos o escamas (3,12,14). Estos resultados confirman la presencia del SCBV en casi todas las muestras analizadas (9/11). Este virus se encuentra distribuido en la mayoría de las regiones geográficas donde se cultiva caña de azúcar, infectando tanto cañas nobles (*Saccharum officinarum* L.) como cultivares comerciales o híbridos interespecíficos de *Saccharum* (2,6,19,20).

El método de detección utilizado ha sido empleado rutinariamente para el diagnóstico del SCBV a partir de extractos parcialmente purificados con una buena sensibilidad (13,21). El diagnóstico por sintomatología no es adecuado porque los síntomas inducidos por el virus son variables o ausentes, mientras que el diagnóstico a través del uso de plantas indicadoras no es el más apropiado, ya que el virus es transmitido mecánicamente con dificultad. Mediante ELISA se detecta al SCBV cuando se analizan cañas nobles severamente afectadas por el virus (2).

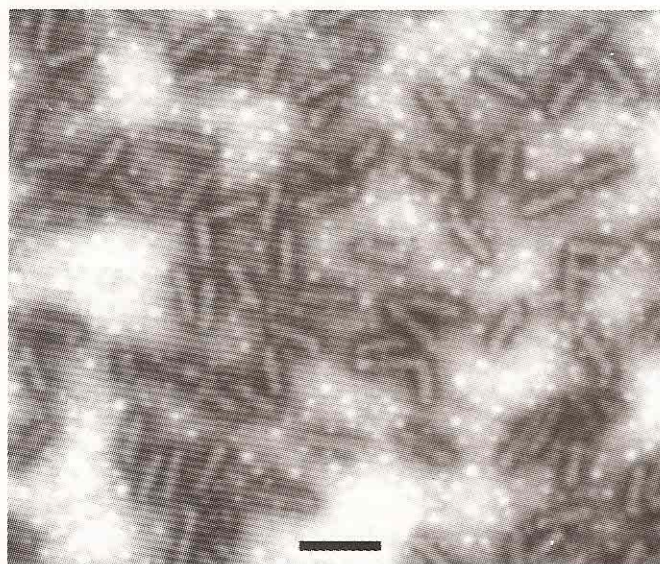


Fig. 2. Reacción del virus en estudio (VEE) con antisuero contra el virus baciliforme de la caña de azúcar en una prueba de microscopía electrónica inmunoabsorbente. Las partículas parcialmente purificadas a partir de tejidos foliares del cv CP 29291 fueron atrapadas por el antisuero que recubría las rejillas del microscopio. Escala: 200 nm.

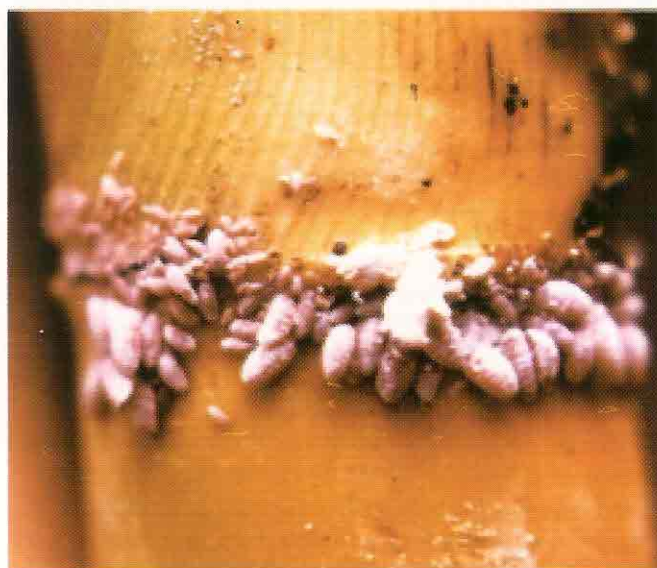


Fig. 3. Escama rosada de la caña de azúcar, *Saccharicoccus sacchari*, vector del virus baciliforme de la caña de azúcar.

Transmisión por insectos. El VEE fue transmitido al cv CP 29291 por la escama rosada de la caña de azúcar, *S. sacchari* (Fig. 3). De cinco plantas inoculadas, dos mostraron síntomas de moteado suave, casi imperceptible. La transmisión del VEE fue corroborada por purificación parcial e inmunomicroscopía electrónica. Las plantas testigo no mostraron síntomas y en los preparados observados al microscopio electrónico no se observaron partículas baciliformes. Este mecanismo de transmisión ha sido citado para el SCBV por otros investigadores (6,14) y coincide con los resultados de la microscopía electrónica e inmunomicroscopía para el referido virus. Es probable que *S. sacchari* esté jugando una función importante en la diseminación del SCBV en caña de azúcar en Venezuela, ya que ha sido señalada en el país desde hace muchos años (9). Por otra parte, este insecto es muy común en el cultivo de la caña de azúcar y es un eficiente vector en la transmisión del SCBV y, al igual que otros badnavirus, es transmitido de manera semipersistente (11,15).

Detección del SCBV en algunos cultivares de caña de azúcar. El virus fue detectado por microscopía electrónica inmunoadsorbente en extractos parcialmente purificados de los cultivares experimentales y comerciales siguientes: Salangore, D 15841, V 64-10, C 32368, B 63168, CP 29291, CP 742005, CP 721210 y CP 31588. La mayor cantidad de partículas virales se observó en el cv Salangore, mientras que los cvs CP 742005, CP 721210 y CP 31588 presentaban el menor número de partículas; el resto de los cultivares evaluados presentaban una cantidad intermedia. Sólo los cvs Salangore, CP 29291 y CP 31588 exhibían síntomas de un moteado suave y pequeñas estrías cloróticas, los cuales eran más visibles en el cv Salangore; el resto de los cultivares no mostraban ningún tipo de síntoma característico de infección viral, aunque el virus estaba presente en ellos. El hecho que el cv Salangore presentara síntomas más evidentes y mayor cantidad de viriones era de esperar, pues, es una caña noble y es conocido que este tipo de genotipo es muy susceptible al SCBV (6,21). Los cvs PR 692176 y B 81328 que también fueron analizados, resultaron libres del virus. Todos los cultivares evaluados crecían en el banco de germoplasma de caña de azúcar de la Estación Experimental de Yaritagua, INIA, Yaritagua, Edo. Yaracuy, con la excepción de los cvs CP 29291 y CP 31588 que provenían del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), INIA, Maracay, Edo. Aragua.

Sobre la base de la sintomatología, microscopía electrónica, inmunomicroscopía electrónica y la transmisión por insectos se concluye que el SCBV, previamente reportado en los principales países donde se cultiva caña de azúcar, está presente en Venezuela. Hasta ahora ha sido detectado en Yaritagua y Maracay. Su detección en el país plantea la necesidad de evaluar el banco de germoplasma de caña de azúcar, para lo cual se requiere estandarizar un buen método de detección (alta sensibilidad), ya que el virus no induce síntomas en la mayoría de los cultivares que infecta y la concentración de partículas en los tejidos infectados es baja, lo cual limita su detección (2). La presencia del SCBV en el germoplasma de caña de azúcar puede representar un serio impedimento en el intercambio de material genético. Por otra parte, el SCBV se le encuentra frecuentemente en infecciones mezcladas con otros virus y existen evidencias del efecto sinérgico que se produce en la replicación viral

y en el desarrollo de los síntomas cuando se presenta en esas condiciones (6,13). El efecto del SCBV en la producción aún no está claro; en algunos cultivares el virus disminuye la producción de biomasa, en otros la incrementa y en algunos los resultados son variables (6).

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su gratitud al Dr. Mario Cermeli (INIA, CENIAP, Maracay) por la identificación de los insectos (escamas). Asimismo, a la Ing. Agr. Rosaura Briceño y a la TAI Milagros Niño (INIA, CIAE-Yaracuy) por permitirnos realizar el muestreo en el Banco de Germoplasma de caña de azúcar de la Estación Experimental Yaritagua.

LITERATURA CITADA

- Ahlawat, Y.S., Pant, R.P., Lockhart, B.E.L., Srivastana, M., Chakraborty, N.K. and Varma, A. 1996. Association of a badnavirus with citrus mosaic disease in India. *Plant Disease* 80: 590-592.
- Braithwaite, K.S., Egeskov, N.M. and Smith, G.R. 1995. Detection of sugarcane bacilliform virus using the polymerase chain reaction. *Plant Disease* 79: 792-796.
- Bouhida, M., Lockhart, B.E.L., and Olszewski, N.E. 1993. An analysis of the complete sequence of a sugarcane bacilliform virus genome infectious to banana and rice. *Journal of General Virology* 74: 15-22.
- Castro, J.J. 1981. Venezuela y el azúcar. Hombre, trabajo, técnica. Distribuidora Venezolana de Azúcares. Caracas, Venezuela. 144 pp.
- China, M., Nass, H., Daboín, C. y Díez, M.D. 2000. Enfermedades y daños de la caña de azúcar en Latinoamérica. Imprecolor, C.A., Venezuela. 108 pp.
- Comstock, J.C. and Lockhart, B.E.L. 1996. Effect of sugarcane bacilliform virus on biomass production on three sugarcane cultivars. *Sugar Cane* 4:12-15.
- Garrido, M.J. y Cuello-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., Ordosgoiti, A. y Lockhart, B.E. 2003. Detección del virus baciliforme de la caña de azúcar en Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 16: 73 (Resumen).
- Guagliumi, P. 1962. Las plagas de la caña de azúcar en Venezuela. Tomo I. MAC, Centro de Investigaciones Agronómicas, Maracay, Venezuela. 482 pp.
- Izaguirre-Mayoral, M. L., Carballo, O., Alceste, C., Romano, M. and Nass, H.A. 2002. Physiological performance of asymptomatic and yellow leaf syndrome-affected sugarcane in Venezuela. *J. Phytopathology* 150: 13-19.
- Lockhart, B.E.L. 1995. Banana streak badnavirus infection in *Musa*: Epidemiology, diagnosis and control. Food & Fertilizer Technology Center. Technical Bulletin 143: 1-11.
- Lockhart, B.E.L. 1990. Evidence for a double-stranded circular DNA genome in a second group of plant viruses. *Phytopathology* 80: 127-131.
- Lockhart, B.E.L. and Autrey, L.J.C. 1988. Occurrence in sugarcane of a bacilliform virus related serologically to banana streak virus. *Plant Disease* 72: 230-233.
- Lockhart, B.E. and Autrey, L.J.C. 1991. Mealy bug transmission of sugarcane bacilliform and sugarcane clostero-like viruses. Proc. ISSCT Sugar Cane Pathol. Workshop, 3rd. Mauritius Sugar Industry Research Institute. p. 17.
- Lockhart, B.E.L. and Olszewski, N.E. 1994. Badnavirus Group. In: Encyclopedia of Virology, Vol. I. R.G. Webster and A. Granoff (eds.). Academic Press, New York. pp. 139-143.

16. Lockhart, B.E.L., Autrey, L.J.C., and Comstock, J.C. 1992. Partial purification and serology of sugarcane mild mosaic virus, a mealybug-transmitted closterolike virus. *Phytopathology* 82: 691-695.
17. Ndowora, T.C.R. and Lockhart, B.E.L. 2000. Development of a serological assay for detecting serologically diverse banana streak virus isolates. *Acta Hort.* 540: 377-388.
18. Ordosgoitti, A., Aponte, A. y González, V. 1982. Resultados sobre las investigaciones de las enfermedades de la caña de azúcar en Venezuela. *Fonaiap Divulga* 1(2): 21-24.
19. Rodríguez-Lema, E., Rodríguez, D., Fernández, E., Acevedo, R. y López, D. 1985. Reporte de un nuevo virus de la caña de azúcar. *Ciencias de la Agricultura* 23: 130.
20. Victoria, J.I. 1999. Manejo integral de las enfermedades de la caña de azúcar. XVI Congreso Venezolano de Fitopatología, Barquisimeto, Venezuela. 10 pp.
21. Viswanathan, R. and Premachandran, M.N. 1998. Occurrence and distribution of sugarcane bacilliform virus in sugarcane germplasm collection in India. *Sugar Cane* 6: 9-18.