

Pruebas de transmisión mecánica con el virus del bandeo amarillo del sorgo (SYBV)¹

Tests of mechanical transmission with *Sorghum yellow banding virus* (SYBV)

M. J. Garrido² y G. E. Trujillo²

Resumen

El virus del bandeo amarillo del sorgo (SYBV) es transmitido mecánicamente con dificultad (2-10% de transmisión) y los síntomas aparecen 15-25 días después de la inoculación. Hasta el momento, no se le conocen vectores. Sin embargo, algunos resultados evidencian que un mecanismo a través del suelo pudiera estar involucrado en la transmisión del virus. En este estudio se evaluó la transmisión del SYBV mediante tres tipos de inoculación mecánica: inoculación mecánica convencional, pistola a presión y punción vascular de semillas de maíz. Durante la inoculación mecánica convencional se utilizaron los siguientes tratamientos: dilución de la savia infectiva, dos soluciones extractoras, diferentes buffers, variación en el pH y molaridad de los buffers, adición de sustancias reductoras, agentes quelantes y removedores de taninos. El SYBV fue transmitido eficientemente a través de pistola a presión (65-80%) y mediante punción vascular de semillas de maíz (60-85%); sin embargo, fue transmitido mecánicamente (convencional) en baja proporción (4,35-12,02%). Los aditivos usados no incrementaron el porcentaje de infección. Este es el primer informe de transmisión del SYBV por punción vascular de semillas de maíz.

Palabras clave: virus, transmisión mecánica, sorgo, *Sorghum bicolor*, SYBV.

Abstract

Sorghum yellow banding virus (SYBV) is mechanically transmitted with difficulty (2-10 % of transmission), and the symptoms appear 15-25 days after inoculation. Vectors have not been reported yet. However, some results evidence that a mechanism through the soil could be involved in the transmission of this virus. In this study the transmission of SYBV was evaluated through types of

Recibido el 29-6-2000 • Aceptado el 15-11-2000

1. Trabajo de Investigación cofinanciado por CDCH-UCV. (No. 01302411-94)

2. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Instituto de Botánica Agrícola, Apartado Postal 4579, Maracay 2101-A, Venezuela. E-mail: majoga@cantv.net

mechanical inoculation: conventional mechanical inoculation, air gun, and vascular puncture of maize seeds. For the conventional mechanical inoculation, the following treatments were tested: dilution of the infective sap, two extraction solutions, different buffers, variation in the pH and molarity of the buffers, addition of reducing substances, chelating agents and solutions for removing tannins. The SYBV was efficiently transmitted through air gun (65-80%) and by means of vascular puncture of maize seeds (60-85%); however, it was transmitted mechanically (conventional) in low proportion (4.35-12.02%). The used additives did not increase the infection percentage. This is the first report of transmission of the SYBV by vascular puncture of maize seeds.

Key words: virus, mechanical transmission, sorghum, *Sorghum bicolor*, SYBV.

Introducción

El virus del bandeo amarillo del sorgo (*Sorghum yellow banding virus*, SYBV) fue identificado por primera vez en Texas, USA (16). Posteriormente, fue detectado en California (18) y recientemente en Venezuela (10). Los síntomas que induce en las plantas infectadas son estrías y bandas cloróticas, enanismo, necrosis sistémica y muerte (16,18). Hasta el momento, no se le conocen vectores; sin embargo, algunos resultados evidencian que un mecanismo a través del suelo pudiera estar involucrado en la transmisión de este virus (22).

El SYBV presenta un estrecho rango de huéspedes, limitado a las gramíneas (18). Los huéspedes encontrados hasta ahora son: sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], maíz [*Zea mays* L.], pasto sudán [*Sorghum sudanense* (Piper) Stapf], pasto johnson [*Sorghum halepense* (L.) Pers.], millo [*Setaria itálica* (L.) P. Beauv.] y Pennisetum glaucum R. Br. (15,18). El SYBV presenta partículas isométricas de 25 nm de diámetro y no está relacionado

serológicamente con otros virus de partículas isométricas pequeñas que infectan gramíneas. Es transmitido mecánicamente con dificultad (2-10% de transmisión) y los síntomas aparecen 15-25 días después de la inoculación (16,18).

En el laboratorio, la inoculación mecánica es la más frecuente, por ser la más fácil de ejecutar y la que mejor se adapta al estudio de los virus *in vitro*. De allí que los virus de plantas mejor caracterizados son aquellos capaces de ser transmitidos mecánicamente. Por lo tanto, cualquier método nuevo o modificado que permita la transmisión eficiente de un virus que no haya sido transmitido mecánicamente o lo haga en baja proporción, es de gran interés (19). Este estudio tuvo como objetivo incrementar la eficiencia de la transmisión mecánica convencional del SYBV y probar otros mecanismos de transmisión mecánica. Un avance de esta investigación fue presentado con anterioridad en forma de resumen (11).

Materiales y métodos

Aislamiento viral. Se utilizó un aislamiento obtenido de plantas de sorgo forrajero cv Stampede, colectado en el Campo Experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela en Maracay, estado Aragua, e identificado previamente como SYBV (10). Este aislamiento fue mantenido en plantas de sorgo cv QL-11 por transferencias periódicas, mediante inoculación mecánica.

Siembra y mantenimiento de plantas. Las semillas de los hospedantes fueron sembradas en macetas plásticas de 500-750 mL de capacidad, las cuales se llenaron con una mezcla estéril de tierra negra y arena en la proporción 3:1 (v/v), respectivamente. Las semillas, en todos los casos, se colocaron en cámaras húmedas para que iniciaran la germinación. Posteriormente, se sembraron 3-5 semillas en cada maceta.

Las plantas inoculadas fueron colocadas en un invernadero a prueba de insectos, con temperatura controlada a 26-28 °C y 65-75 % HR. Fueron regadas diariamente y cada 15 días fertilizadas con una solución de una fórmula completa NPK (15-15-15) a razón de 2-3 g/L. Como medidas preventivas adicionales se efectuaron aplicaciones quincenales de insecticidas (Pirimor, Anthio), acaricidas (Acarín, Omite) y fungicida (Derosal), permitiendo mantenerlas en un estado óptimo de crecimiento.

Métodos de inoculación. El SYBV fue inoculado mecánicamente por tres métodos: inoculación mecánica convencional o frotación de la savia

infectiva (21,26), pistola a presión (25) y punción vascular de semillas de maíz (19).

Inoculación mecánica convencional. Hojas jóvenes de plantas de sorgo cv QL-11 exhibiendo síntomas característicos del SYBV, 3-5 semanas después de la inoculación, fueron cortadas finamente y maceradas en un mortero frío, estéril, al cual se le agregó buffer fosfato de potasio 0,1 M, pH 7,5 en la proporción 1:3-5 (p/v), respectivamente. Luego el macerado se filtró a través de gasa para obtener el jugo infectivo, el cual se aplicó con el dedo índice a las hojas más nuevas de plantas sanas de sorgo cv Atlas en estado de 3-4 hojas, previamente espolvoreadas con carborundo 600. Las plantas testigo sólo se inocularon con el buffer. Después de la inoculación se lavaron las hojas y se dejaron en el laboratorio a temperatura de 21-23 °C y 65-70% HR por 24-30 h. Posteriormente fueron colocadas en el invernadero en las condiciones antes descritas.

Los tratamientos probados al momento de realizar la inoculación mecánica fueron los siguientes:

1. Dilución del jugo infectivo (1/10, v/v, en buffer fosfato de potasio 0,1 M, pH 7,5).

2. Uso de dos soluciones extractoras: a) 1% de dipotasio hidrógeno ortofosfato (K_2HPO_4) + 1% de sulfito de sodio (Na_2SO_3); b) 1% de K_2HPO_4 + 0,5% de trisilicato de magnesio ($Mg_2Si_3O_8 \cdot 5H_2O$).

3. Uso de diferentes buffers (disoluciones tampones o amortiguadoras): fosfato de potasio, borato de sodio, citrato de sodio, Tris-HCl.

4. Variaciones del pH en los buffers: 6,0 - 7,0 - 8,0 (en cada buffer ajustado a una concentración de 0,1 M).

5. Variaciones en la molaridad de los buffers: 0,5 - 0,1 - 0,02 (en cada buffer ajustado a un pH de 7,5).

6. Adición al buffer fosfato 0,1 M, pH 7,5 de sustancias reductoras (0,01 M cisteína; 0,3% mercaptoetanol; 0,1% ácido tioglicólico; 0,1% sulfito de sodio), agentes quelantes (0,01 M dietil-ditiocarbamato de sodio, NaDIECA; 0,01 M ácido etilendiamino tetracético, EDTA) y removedores de taninos (1% nicotina). Cada sustancia fue agregada al buffer en forma independiente y en la concentración mencionada.

Cada tratamiento fue inoculado mecánicamente sobre 50-100 plantas sanas de sorgo cv Atlas. Este experimento fue repetido dos veces en ocasiones distintas y en condiciones similares.

Inoculación con pistola a presión. Este tipo de inoculación consistió en la aplicación del jugo infectivo mediante una pistola a presión a plantas de sorgo cv BTx-3197 en estado de 3-4 hojas. Se utilizó 6,8 Kg/cm² de presión, un flujo de 10 mL/min y 2,50 cm de separación entre la punta de la pistola y las hojas. El inóculo consistió de hojas de sorgo infectadas con SYBV homogeneizadas en una licuadora con buffer fosfato de potasio 0,05 M, pH 7,5 (1:5 p/v, respectivamente) y filtrado a través de seis capas de gasa. Luego se le agregó 1% de carborundo 600 y fue refrigerado hasta su uso (25).

Al momento de inocular, 3-5 plantas que crecían en cada maceta eran sujetadas con una mano, entre el pulgar y

los demás dedos, lo cual formaba una capa de hojas, con la mayoría de ellas expuestas para una aplicación de 5-7 segundos de duración. Luego, se giraba el matero 90° y se inoculaba el otro lado de la capa de hojas. Durante la inoculación el recipiente de la pistola (depósito) era agitado frecuentemente para mantener el carborundo en suspensión (25). En este tipo de inoculación se utilizaron 150-200 plantas en cada evaluación y el experimento fue repetido tres veces en las mismas condiciones.

Transmisión mediante punción vascular de semillas de maíz.

Para realizar este experimento se siguió la metodología propuesta por Louie (19) para transmitir el virus del mosaico línea blanca del maíz (*Maize white line mosaic virus*, MWLMV), con una variante en el instrumento de inoculación. En este caso, el dispositivo para inocular estuvo constituido por un mango de madera de 100 mm de longitud y 7 mm de diámetro. En uno de los extremos, con forma biselada, presentaba tres alfileres No. 0 de 5 mm de longitud (en forma de tenedor), con una separación entre ellos de 1,0-1,5 mm.

Cien semillas de maíz dulce cv Bonanza fueron colocadas en remojo en 200 mL de agua corriente durante 4 horas a 20-22 °C. Luego, a cada semilla se le colocaban 7-10 µL del inóculo en la zona adyacente al embrión (región media) y con el dispositivo inoculador se presionaba manualmente a las semillas para que las puntas de los alfileres, en posición inclinada (45°), penetraran el inóculo y el pericarpio que cubre al escutelo, profundizando 0,50-1,00 mm, supuestamente en el tejido vas-

cular. La inoculación se realizó en ambos lados del embrión (19).

Después de la inoculación las semillas se colocaron en una bandeja plástica (30x18x4 cm) recubierta internamente con cinco capas de papel absorbente humedecido con 45 mL de agua. La bandeja se introducía en una bolsa plástica transparente, se cerraba, y se dejaba en un ambiente a 25-30 °C durante 24 horas. Después de este período de incubación, cinco semillas eran sembradas en cada envase de 500 mL de capacidad, que contenían una mezcla de suelo y arena (3:1, v/v, respectivamente) esterilizada en autoclave (19). El mantenimiento de las plantas fue igual al mencionado al inicio de esta sección.

El inóculo fue preparado macerando tejido foliar infectado de plantas de sorgo cv QL-11 de 35-40 días de edad en un mortero que contenía buffer fosfato de potasio 0,01 M, pH 7,0 (1:5, p/v). El extracto era filtrado a través de cuatro capas de gasa y luego utilizado en

la inoculación de las semillas de maíz. Para evaluar este tipo de inoculación se utilizaron cuatro lotes de 100 semillas cada uno, los cuales fueron inoculados en ocasiones diferentes y en condiciones similares.

Pruebas de infectividad y serología. La confirmación de la transmisión del SYBV, en todos los casos, estuvo basada en la sintomatología y en pruebas serológicas de doble difusión en agar (1). El antisuero contra el SYBV fue obtenido en el Laboratorio de Virología Vegetal de la Facultad de Agronomía de la UCV, Maracay (10). La evaluación de los síntomas se iniciaba a los 4-5 días después de la inoculación y continuaba hasta los 30 días, cuando se realizaba la última evaluación. También se realizó una prueba de infectividad en sorgo cv QL-11, inoculando mecánicamente con savia de plantas de maíz cv Bonanza infectadas por punción vascular con SYBV.

Resultados y discusión

Transmisión mecánica convencional. El SYBV fue transmitido mecánicamente a plantas de sorgo cv Atlas, lográndose sólo 8 % de transmisión (cuadro 1). Los síntomas aparecían a los 15-20 días después de la inoculación y consistían inicialmente de pequeñas manchas amarillas, que posteriormente se transformaban en estrías o bandas cloróticas, paralelas a las nervaduras. Cuando varias bandas cloróticas coalescían, total o parcialmente, las plantas evidenciaban síntomas de un mosaico severo. El bajo porcentaje de transmisión mediante inoculación

mecánica, el tiempo en aparecer los síntomas en las plantas inoculadas y la sintomatología presentada por las plantas de sorgo cv Atlas coincide totalmente con lo citado por otros investigadores para el SYBV (10, 16, 18).

Ninguno de los tratamientos probados (cuadro 1) permitió superar el 12,02 % de transmisión alcanzado por el testigo, representado por el uso de buffer fosfato de potasio 0,1 M, pH 7,5 en el proceso de extracción de la savia infectiva. Sin embargo, las disoluciones amortiguadoras (buffers), rango de pH, molaridad y concentración del resto de

Cuadro 1. Porcentaje de infección en plantas de sorgo cv Atlas inoculadas mecánicamente con el virus del bandeo amarillo del sorgo, usando al momento de la extracción de la savia infectiva diferentes aditivos (1:3-5, p/v) ⁽¹⁾.

Tratamiento	% de infección	PS/PI ⁽²⁾
1% K ₂ HPO ₄ + 0,1% Na ₂ SO ₃	9,52	10/105
1% K ₂ HPO ₄ + 0,5% Mg ₂ Si ₃ O ₈ .5H ₂ O	8,03	11/137
Dilución del jugo infectivo 1/10, v/v en buffer fosfato de potasio 0,1 M, pH 7,5	10,56	15/142
Buffer fosfato de potasio, pH 7,5		
0,5 M	7,44	9/121
0,1 M (testigo)	12,02	22/183
0,02 M	9,09	12/132
Buffer borato de sodio, pH 7,5		
0,5 M	4,35	5/115
0,1 M	7,08	9/127
0,02 M	7,79	12/154
Buffer citrato de sodio, pH 7,5		
0,5 M	8,00	10/125
0,1 M	9,68	15/155
0,02 M	7,75	9/116
Buffer Tris-HCl, pH 7,5		
0,5 M	8,00	14/175
0,1 M	10,00	12/120
0,02 M	9,86	14/142
Buffer fosfato de potasio, 0,1 M		
pH 6,0	7,87	10/127
pH 7,0	11,72	17/145
pH 8,0	10,49	17/162
Buffer borato de sodio 0,1 M		
pH 6,0	4,42	5/113
pH 7,0	5,98	7/117
pH 8,0	6,48	7/108
Buffer citrato de sodio 0,1 M		
pH 6,0	5,48	8/146
pH 7,0	7,45	12/161
pH 8,0	6,20	8/129
Buffer Tris-HCl 0,1 M		
pH 6,0	7,28	11/151
pH 7,0	9,46	14/148
pH 8,0	8,21	11/134
Buffer fosfato de potasio 0,1 M, pH 7,5 +		
0,01 M cisteína	9,40	11/117
0,01 M Na-DIECA	8,86	14/158
0,01 M EDTA	9,89	18/182
0,1% ácido tioglicólico	8,55	13/152
0,1% sulfito de sodio (Na ₂ SO ₃)	10,00	12/120
0,3% mercaptoetanol	4,35	6/138
1,0% nicotina	6,09	12/197

⁽¹⁾ Evaluación realizada a los 30-35 días después de la inoculación mecánica.

⁽²⁾ PS = plantas con síntomas; PI = plantas inoculadas.

las sustancias probadas han sido mencionadas como aditivos que incrementan la eficiencia de la inoculación mecánica con diferentes virus de plantas (2, 14, 20, 21, 26).

Estas pruebas de transmisión mecánica fueron repetidas dos veces con la finalidad de conocer preliminarmente si había una respuesta favorable con los diferentes tratamientos que permitiera orientar el diseño de un experimento para evaluar estadísticamente las diferencias entre tratamientos. Sin embargo, los resultados fueron similares en ambas ocasiones, sin incremento en el porcentaje de infección con relación al testigo.

Los tratamientos empleados favorecen la inoculación mecánica por varias razones, las cuales se citan a continuación: La solución extractora a base de 1% K_2HPO_4 + 0,1% Na_2SO_3 ha sido recomendada por Walkey (26) para la inoculación mecánica de numerosos virus. El K_2HPO_4 previene la acidificación de la savia extraída, y su pH alto puede remover taninos (2). El sulfito de sodio (Na_2SO_3) reduce la acción de la polifenoloxidasas, evitando la oxidación (26).

Hecht-Poinar y Yarwood (17) encontraron que el uso de 1% K_2HPO_4 + 0,5% $Mg_2Si_3O_8 \cdot 5H_2O$ durante la inoculación mecánica incrementaba de manera considerable la infectividad, aunque estos componentes por separado tenían poco efecto. Según estos autores esta mezcla actúa inactivando inhibidores de la infección y absorbiendo ribonucleasa del hospedante. Diluir la savia infectiva (1/10) en solución buffer o en agua aumenta la infección, ya que elimina el efecto de los inhibidores (2, 14, 21, 26).

El sulfito de sodio, el ácido tioglicólico, el mercaptoetanol y la cisteína son añadidos frecuentemente al buffer para preservar los virus que pierden infectividad rápidamente por oxidación (2, 14, 20, 26). Además, evitan la absorción de componentes del huésped a las partículas virales (20, 26).

Los agentes quelantes DIECA y EDTA también favorecen la inoculación mecánica. El DIECA evita la inactivación de los virus debido a la actividad de oxidasas, actuando como agente reductor (2, 14). El EDTA evita la oxidación de polifenoles, remueve ribosomas y polirribosomas del hospedante (26) y minimiza la agregación de partículas por metales divalentes (20). Algunos inactivadores como los taninos se combinan con las partículas virales y las precipitan, evitando de esta manera la infección. Esta pérdida de infectividad se puede evitar agregando 1% nicotina (2, 14, 21).

El agregado de disoluciones amortiguadoras o tampones (buffers), especialmente fosfatos, puede facilitar la infección en inoculaciones mecánicas, especialmente en el caso de algunos virus difíciles de transmitir por savia infectiva. La adición de fosfato de potasio o de sodio a los jugos extraídos aumenta la infectividad, lo cual se debe a la acción predisponente que ejerce en las células del hospedante (4). El tipo, cantidad y proporción de diferentes iones en el inóculo afecta de manera considerable su infectividad (14). La clase de buffer a usarse (fosfato, borato, citrato, etc.) en el inóculo puede variarse hasta determinar cuál es el más apropiado para una combinación dada de virus-hospedante. Las soluciones buffer son comúnmente

usadas a concentración de 0,01 a 0,1 M y a pH 6 a 9 (8).

Con base en los resultados de la transmisión mecánica del SYBV y lo expuesto en párrafos anteriores, pareciera que el bajo porcentaje de transmisión se debe a factores intrínsecos del virus y no a procesos oxidativos, inestabilidad, acción de inhibidores o a la poca concentración de viriones. El SYBV alcanza una alta concentración en los tejidos infectados, lo cual ha quedado evidenciado en los procesos de purificación (10,18).

Inoculación con pistola a presión. Con la aplicación del inóculo mediante una pistola a presión la transmisión del SYBV se incrementó de 8 % hasta 65-80 %, lo que representó un incremento significativo (aprox. 65 %). Los síntomas se hacían evidentes a los 12-18 días después de la inoculación, y no diferían de los descritos previamente en sorgo para esta virosis. Giorda *et al.* (15) incrementaron el rango de hospedantes del SYBV mediante el uso de esta misma técnica, con una presión de 6,3 kg/cm².

Toler y Hebert (25), mediante el uso de pistola a presión, lograron 80-100 % de transmisión con el virus del mosaico de la avena (*Oat mosaic virus*, OMV). Este virus es transmitido en la naturaleza por un hongo, y mecánicamente en una proporción relativamente baja (30%). El virus del mosaico de la caña de azúcar (*Sugarcane mosaic virus*, SCMV) y el virus del mosaico enanizante del maíz (*Maize dwarf mosaic virus*, MDMV) también han sido transmitidos a sorgo por este método en una alta proporción, generalmente, en inoculaciones masivas (7,24). El MDMV y el SCMV son

transmitidos fácilmente mediante inoculación mecánica (6,23). Buzen *et al.* (3) también emplearon esta técnica con éxito para inocular plantas de millo con el virus del mosaico del panicum (*Panicum mosaic virus*, PMV) y su virus satélite asociado, utilizando una presión de 6-7 kg/cm².

La mayor eficiencia de la pistola a presión en la inoculación viral se debe, probablemente, al mayor número de heridas de manera uniforme en las células y al incremento en el área cubierta, lo cual se traduce en un mayor número de sitios de infección (25). En la inoculación del MDMV con pistola, el uso de altas presiones y alto número de partículas incrementan la susceptibilidad del genotipo de sorgo (24).

Transmisión mediante punción vascular de semillas de maíz. Esta metodología también permitió un incremento considerable en la transmisión del SYBV, lográndose hasta 60-85%. Las plantas emergieron a los 4-5 días después de la siembra. Los síntomas generalmente se presentaban en la primera hoja de las plantas infectadas; sin embargo, en algunos casos esto ocurría en la segunda o tercera hoja. La sintomatología que presentaban las plantas infectadas fue similar a la obtenida mediante inoculación mecánica.

Los resultados obtenidos en esta investigación coinciden con los obtenidos por Louie (19) con el MWLMV al generar esta metodología. Este autor transmitió eficientemente (>90%) al MWLMV a través de punción vascular de semillas de maíz cv Seneca Chief sin causar daños teratogénicos o letales al desarrollo de las plántulas. Además, transmitió de manera menos eficiente

otros virus que infectan al maíz (*Maize chlorotic dwarf waikavirus*, MCDV; *Maize dwarf mosaic potyvirus*, MDMV; *Maize streak geminivirus*, MSV; *Maize mosaic rhabdovirus*, MMV; *Maize rayado fino marafivirus*, MRFV; *Maize rough dwarf fijivirus*, MRDV; *Maize subtle mosaic virus*, MSMV y *Wheat streak mosaic potyvirus*, WSMV), los cuales son transmisibles o no mecánicamente. El MWLMV no se transmite mecánicamente (19).

La técnica de inoculación mecánica con alfileres para la transmisión mecánica de virus de plantas no es nueva, ya que fue ampliamente utilizada en los primeros estudios de transmisión de virus de plantas. Sin embargo, ha sido reemplazada casi en su totalidad por la inoculación por frotación de la savia infectiva con la incorporación de un abrasivo (20,26).

Es importante mencionar que Louie (19) obtuvo un alto porcentaje de transmisión del MWLMV usando un asistente de inoculación mecánico, mientras que en este estudio la inoculación se realizó manualmente, con un instrumento de inoculación sencillo, elaborado por los autores. No obstante, se logró un alto porcentaje de transmisión. Para el logro de estos resultados fue necesario afinar la técnica

previamente, ya que es más probable causar daños al desarrollo de la plántula manejando manualmente el inoculador (mango de madera que presentaba en uno de sus extremos tres alfileres No. 0), que al realizarlo con un asistente mecánico. Esto es necesario, ya que así como ocurre con otras técnicas, las variables implicadas en la transmisión deben ser optimizadas para cada combinación virus-huésped. Esta representa la primera cita de transmisión del SYBV por punción vascular de semillas de maíz.

Serología y pruebas de infectividad. La presencia del SYBV en las plantas infectadas mediante las tres técnicas utilizadas fue confirmada a través de la sintomatología y pruebas serológicas de doble difusión en agar. Todas las plantas infectadas manifestaron síntomas característicos del virus. Las pruebas serológicas practicadas a las muestras procedentes de estas plantas dieron resultados positivos para el SYBV en todos los casos. No se detectó contaminación en las plantas testigo. Las plantas de sorgo cv QL-11 inoculadas mecánicamente con savia de plantas inoculadas por punción vascular con SYBV exhibieron síntomas característicos del virus, lo cual constituye una recuperación exitosa del virus.

Conclusiones y recomendaciones

En conclusión, no se pudo mejorar la eficiencia de la inoculación mecánica convencional del SYBV. Sin embargo, pudo ser transmitido eficientemente a través de la inoculación mecánica con pistola a presión y mediante punción vascular de semillas de maíz. El hecho que el

SYBV se haya transmitido en una alta proporción por el uso de pistola a presión y por punción vascular de las semillas, sugiere que estos tipos de inoculación pueden facilitar el estudio de otros aspectos que contribuyan a aumentar el conocimiento sobre este virus. El primer

tipo de inoculación podría ser usado cuando se requiere infectar o conocer la reacción de un gran número de plantas y se dispone de suficiente inóculo y del equipo correspondiente, principalmente un compresor que alcance presiones de 60-100 lb/pulg² y una pistola que funcione a presión. El segundo método de inoculación (punción vascular de semillas) sería muy útil cuando se dispone de poco inóculo y se requiere una buena eficiencia, pero el número de semillas a inocular puede variar desde pocas a muchas. Ambos métodos podrían ser utilizados para multiplicar el SYBV y para realizar evaluaciones de materiales con el fin de determinar su reacción ante este virus.

En el caso de Venezuela, con la excepción del virus de la hoja blanca o estriado del maíz (*Maize stripe virus*,

MStpV), todos los demás virus que infectan al sorgo son transmitidos de manera fácil por vía mecánica (5, 9, 12, 13). Por lo tanto, si se dispone de un aislamiento que induce síntomas de estrías cloróticas (amarillentas) y se transmite mecánicamente en baja proporción, estas características evidencian la posibilidad de estar en presencia del SYBV. Para la inoculación mecánica, en este caso, sería recomendable utilizar al menos 50 plantas por repetición y dos repeticiones. Con base en lo antes expuesto, la presencia de síntomas característicos del SYBV puede ser un criterio muy importante para el investigador al momento de realizar la inoculación mecánica, considerando el conocimiento que se tiene actualmente de los virus que infectan al sorgo en Venezuela.

Agradecimientos

Los autores expresan su gratitud al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela por el financiamiento parcial de esta investigación a través del

proyecto No. 01-30-2411-94. Asimismo, a la Ing. Agr. Yris M. Mota A., por su ayuda en las pruebas de punción vascular de semillas de maíz.

Literatura citada

1. Ball, E. M. 1990. Agar double diffusion, plates (Ouchterlony): Viruses, p. 111-120. In: Serological methods for detection and identification of viral and bacterial plant pathogens. R. Hampton, E. Ball, and S. De Boer (Eds.). APS Press, Minnesota.
2. Bos, L. 1983. Introduction to plant virology. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, The Netherlands.
3. Buzen, F. G., C. L. Niblett, G. R. Hooper, J. Hubbard, and M. A. Newman. 1984. Further characterization of panicum mosaic virus and its associated satellite virus. *Phytopathology* 74: 313-318.
4. Fernández, M. V. 1995. Virus patógenos de las plantas y su control. Tomo I. Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria, Argentina.
5. Ferreira, I., M. J. Garrido y G. E. Trujillo. 1989. Virus de la hoja blanca del maíz infectando sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) en Maracay, Aragua. *Fitopatología Venezolana* 2: 23.
6. Ford, R. E., M. Tosic, and D. D. Shukla. 1989. Maize dwarf mosaic virus. Descriptions of plant viruses No. 341. Assoc. Appl. Biol. Wellesbourne, Warwick, U.K. 5 p.
7. Frederiksen, R. A. 1986. Compendium of sorghum diseases. American Phytopathological Society, Minnesota, EE.UU. 82 p.
8. French, E. R. y T. T. Hebert. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Costa Rica.
9. Garrido, M. J. 2000. First report of sugarcane mosaic virus strain MB infecting sorghum in Venezuela. *Journal of Plant Pathology* 82: 65.
10. Garrido, M. J., G. E. Trujillo y R. Cuello de Uzcátegui. 2000. Ocurrencia del virus del bandeo amarillo del sorgo en Venezuela. *Interciencia* 25: 321-327.
11. Garrido, M. J. y G. E. Trujillo. 1999. Transmisión del virus del bandeo amarillo del sorgo por punción vascular de semillas de maíz. *Fitopatología Venezolana* 12: 69 (Resumen).
12. Garrido, M. J. and G. E. Trujillo. 1993. Occurrence of johnsongrass mosaic virus on sorghum in Venezuela. *Plant Disease* 77: 847.
13. Garrido, M. J. y G. E. Trujillo. 1988. Identificación de una nueva raza del virus del mosaico enanizante del maíz (MDMV) en Venezuela. *Fitopatología Venezolana* 1: 77-81.
14. Gibbs, A. and B. Harrison. 1976. *Plant virology. The principles.* Edward Arnold, London.
15. Giorda, L. M., R. W. Toler, and J. D. Alexander. 1988. Host range studies of sorghum yellow banding, a newly recognized virus disease of grain sorghum and sorghum x sudangrass hybrid in Texas (Abstract). *Phytopathology* 78: 627.
16. Giorda, L. M., R. W. Toler, and G. Odvody. 1987. A virus disease of sorghum x sudangrass hybrid in Texas (Abstract). *Phytopathology* 77: 641.
17. Hecht-Poinar, E. I. and C. E. Yarwood. 1966. Magnesium trisilicate increases virus transmission. *Virology* 29: 351-353.
18. Klaassen, V. A. and B. W. Falk. 1989. Characterization of a California isolate of sorghum yellow banding virus. *Phytopathology* 79: 646-650.
19. Louie, R. 1995. Vascular puncture of maize kernels for the mechanical transmission of maize white line mosaic virus and other viruses of maize. *Phytopathology* 85: 139-143.
20. Matthews, R. E. F. 1991. *Plant Virology*, 3rd. ed. Academic Press, New York.
21. Noordam, D. 1973. Identification of plant viruses. Methods and experiments. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, The Netherlands.

22. Odvody, G. N., R. W. Toler, and J. Remmers. 1990. Occurrence and expression of sorghum yellow banding in south Texas. *Phytopathology* 80: 10.
23. Teakle, D. S., D. D. Shukla, and R. E. Ford. 1989. Sugarcane mosaic virus. Descriptions of plant viruses No. 342. Assoc. Appl. Biol. Wellesbourne, Warwick, U.K. 5 p.
24. Toler, R. W. 1985. Maize dwarf mosaic, the most important virus disease of sorghum. *Plant Disease* 69: 1011-1015.
25. Toler, R. W. and T. T. Hebert. 1965. Transmission of soil-borne oat mosaic virus increased by artist's airbrush inoculation. *Plant Disease Reporter* 49: 553-555.
26. Walkey, D. G. 1985. Applied plant virology. John Wiley & Sons, New York.