

González, Gloria A.; San Pedro, J.; Arencibia, N.; Ruiz, M.; Fernandez, J.; Valdés, S.;  
Quijala, I.

Virus y fitoplasmas en el cultivo del maíz (*Zea mays*, L.) en Cuba. Distribución y  
diagnóstico

Fitosanidad, vol. 6, núm. 4, diciembre, 2002, pp. 3-6

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

La Habana, Cuba

Disponible en: <http://www.redalyc.org/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=209118293001>



*Fitosanidad*

ISSN (Versión impresa): 1562-3009

[nhernandez@inisav.cu](mailto:nhernandez@inisav.cu)

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal

Cuba

## VIRUS Y FITOPLASMAS EN EL CULTIVO DEL MAÍZ (*ZEA MAYS*, L.) EN CUBA. DISTRIBUCIÓN Y DIAGNÓSTICO

Gloria A. González,<sup>1</sup> J. San Pedro,<sup>2</sup> N. Arencibia,<sup>3</sup> M. Ruiz,<sup>4</sup> J. Fernández,<sup>1</sup> S. Valdés<sup>1</sup> e I. Quiñana<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba, CP 11600, c.e.: ggonzalez@inisav.cu

<sup>2</sup> Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Prolongación de Carbó no.40, Alturas de Perera y calle Holguín, Holguín

<sup>3</sup> Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera Siboney Km 6, Ternerito Lindo, Santiago de Cuba

<sup>4</sup> Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera Palmira Km 4, Cienfuegos

### RESUMEN

De plantaciones de maíz (*Zea mays*, L.) en Cuba se aislaron los virus del mosaico del maíz (MMV), del mosaico del pepino (CMV), un geminivirus y el fitoplasma del enanismo arbustivo del maíz (MBSD), constituyendo los más importantes por su diseminación el MMV y el MBSD. El primero está presente en las provincias de Pinar del Río, La Habana, Cienfuegos, Guantánamo y Santiago de Cuba, y el segundo en la provincia de Holguín. MMV se transmite sólo por *Peregrinus maidis*, y por el microscopio electrónico y óptico se observaron partículas baciliformes de 300 nm e inclusiones virales en el citoplasma, en el núcleo o en ambos, características de rhabdovirus. El fitoplasma, achaparramiento arbustivo del maíz, se transmite por su insecto vector *Dalbulus maidis* (De Long y Wolcott), y al microscopio electrónico y óptico se observaron cuerpos pleomórficos y coloreados con la tinción de Dienes, respectivamente.

Palabras clave: virus, fitoplasma, *Zea mays*

### ABSTRACT

Maize mosaic virus (MMV), cucumber mosaic virus (CMV), a geminivirus and the phytoplasma maize bushy stunt (MBSD), were isolated from maize in Cuba. The most important because of their dissemination were MMV and the MBSD. The first one is present in Pinar del Río, La Habana, Cienfuegos, Guantánamo and Santiago de Cuba provinces and the second one is present in Holguín. MMV was transmitted by *Peregrinus maidis* and bacilliform particles of 300 nm and inclusions occurred in the cytoplasm that were observed by electron and light microscopes in both, in the cytoplasm and in the nucleus. They have rhabdovirus characteristics. MBSD was transmitted by the vector insect *Dalbulus maidis* (De Long y Wolcott) and there were observed pleomorph and stained bodies by Dienes's stain.

Key words: virus, phytoplasma, *Zea mays*

### INTRODUCCIÓN

El cultivo del maíz (*Zea mays*, L.) se considera desde tiempos remotos como una importante fuente nutritiva. Constituye, junto al trigo y la cebada, una trilogía ampliamente distribuida en muchos países. Uno de los factores que afectan sus rendimientos es su susceptibilidad a numerosas enfermedades ocasionadas por virus y fitoplasmas, las que se transmiten por diferentes insectos vectores y causan síntomas variados en dependencia de la variedad, edad de la infección de las plantas y presencia o no en forma de complejo [Conti, 1990; Hruska, 1998].

En Cuba, con el objetivo de diversificar y enriquecer la dieta de la población, así como cumplir con el programa de recuperación ganadera, anualmente se siembran alrededor de 100 000 ha de maíz, lo que representa del

50 al 60% de las áreas dedicadas a los granos [Rabi, 1998].

Sin embargo, a partir del período 1997-1999 se han observado áreas de maíz con un porcentaje alto de plantas con síntomas similares a los producidos por virus y fitoplasmas, lo que dio lugar al desarrollo de este estudio, con los objetivos de determinar la distribución en Cuba y establecer la etiología de las patologías presentes.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Distribución en Cuba

Para conocer la distribución e incidencia de virus y fitoplasmas en Cuba se llevaron a cabo muestreos de plan-

taciones de maíz en los municipios de San Antonio de los Baños, Alquizar, Melena del Sur, Quivicán y Güines, de la provincia de La Habana, y áreas de las provincias de Pinar del Río, Cienfuegos, Holguín, Santiago de Cuba, Las Tunas y Guantánamo, donde se evaluó el 10% de los campos por el método de diagonales, y se observó, además, la presencia de vectores asociados o no al cultivo.

Para determinar la cantidad de plantas por evaluar y de muestras por tomar se estableció la siguiente escala (Tabla 1):

Tabla 1. Escala para las evaluaciones de plantaciones de maíz

Área (ha)	No. de plantas muestreadas	No. de muestras tomadas
0,1	200	20
0,3	300	30
0,5	500	50
1	800	80

### Síntomas

Los campos de maíz muestreados presentaban plantas con síntomas de clorosis y de estrías en forma de mosaico en las hojas jóvenes, disminución en el tamaño debido al acortamiento de los entrenudos, hojas con los bordes de un color rojo púrpura y proliferación de mazorcas pequeñas en las axilas de las hojas. Las muestras tomadas fueron adecuadamente identificadas, envueltas en papel humedecido y guardadas a 10° C para su conservación y posterior análisis. Con el objetivo de determinar los insectos vectores y evaluar la forma de transmisión, se realizaron colectas de insectos asociados al cultivo, por medio de dispositivos diseñados para esto, de manera que se mantuvieran vivos para trasladarlos al laboratorio y ser utilizados en los restantes ensayos.

### Caracterización biológica

#### 1. Transmisión por semillas

Se tomaron 100 semillas de maíz procedentes de plantas infectadas pertenecientes a siete lotes de la variedad FR-28, H-T-66, Vst-6, TGH y Francisco H. Canilla, Tucson, Argentino, SR-26, Criollo y Rosita, las que se sembraron en macetas en condiciones aisladas. Las observaciones visuales se realizaron semanalmente durante un mes.

#### 2. Transmisión mecánica

La transmisión mecánica se realizó a plantas sanas de maíz, después de una semana de germinación, mediante el método de frotación del macerado. Como inóculo

se utilizaron hojas con los síntomas descritos, y la maceración se realizó en morteros sumergidos en hielo con tampón fosfato 0,0025M y pH 7,8, que contenía mercaptoetanol al 0,5% + carbón activado en una relación 3:1:1. Las plantas testigo sólo fueron inoculadas con tampón y todas fueron mantenidas en condiciones aisladas.

#### 3. Transmisión por vectores

Para la transmisión mediante saltahojas se utilizaron aquellos que procedieron de colonias establecidas en plantas de maíz y que fueron previamente identificadas como *Peregrinus maidis* (Ashm) y *Dalbulus maidis* (De Long y Wolcott) [Rodríguez-León, comunicación personal].

Las pruebas se realizaron en cubículos o en pequeñas jaulas donde se colocaron de 2-20 macetas con dos plantas sanas cada una, a la vez de contar con plantas infectadas de maíz que sirvieron de inóculos, sobre las que se mantuvieron altas poblaciones de los insectos.

En el caso del *Peregrinus maidis* (Ashm) se determinó el número mínimo de ejemplares capaces de infectar las plantas de maíz y reproducir el virus.

#### 4. Microscopía óptica

La microscopía óptica se realizó mediante la técnica de tiras de epidermis [Christie y Edwardson, 1977], de Dienes [June y Stenens, 1979] y por la de abrasión [Ko et al., 1985] en un rango de 100-1 000 X.

Para la técnica de tiras de epidermis se tomó la zona del envés de hojas que presentaban moteado o mosaico típico y se realizaron cortes con una cuchilla aproximadamente de un milímetro antes de la bifurcación de una vena y otro corte a unos dos o tres milímetros después de ella. Las tiras así obtenidas se colocaron en cámara húmeda sobre gotas de solución colorante Azur A, durante 30 minutos, después sobre papel de filtro, y se lavaron con etanol absoluto para proceder al montaje sobre una gota de glicerina.

Para la preparación de las muestras por la técnica de abrasión se tomó el tejido infectado, se devastó y se cortaron fragmentos de 5 mm, decolorándolos en acetona. Posteriormente se lavaron y se contrastaron con Azur A y con la solución de Dienes durante 30 minutos, para proseguir con las observaciones.

#### 5. Microscopía electrónica

Las observaciones se realizaron por el método de tinción negativa [Hitchorn y Hills, 1965] y por la técnica de corte e inclusión, para la cual las muestras se fijaron en glutaldehído al 5% y se posfijaron en tetróxido de osmio, embebiendo el tejido en una mezcla de Spurr. Los cortes se realizaron en un ultramicrotomo YMT-4, y para ambas técnicas se utilizó acetato de uranilo como contrastante. Las muestras se observaron en un rango de 20 000 X.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los síntomas que se observaron con mayor frecuencia consistieron en plantas con rayas en forma de mosaico, enanismo y hojas secas (Tabla 2).

Mediante la microscopía electrónica, y con muestras con los síntomas antes descritos, se observaron partículas baciliformes de 300 nm de longitud pertenecientes

al grupo rhabdovirus, y que correspondieron al virus del mosaico del maíz, transmitido por el saltahoja *Peregrinus maidis* (Ashm), el que fue detectado en los muestreos, asociado al cultivo. En Cuba, Smith (1957) señaló la presencia de estos síntomas, limitándose sólo a este aspecto. Esta virosis se encuentra presente en Colombia, Ecuador y Venezuela, con una distribución moderada [De León y Morales, 1997].

Tabla 2. Resultados en el estudio realizado

Procedencia	Sintomatología	Diagnóstico			
		M/E	M/O	TM	TS
La Habana					
San Antonio de los Baños	No síntomas	0	0	0	0
Alquízar	No síntomas	0	0	0	0
Melena del Sur	Manchas cloróticas	-	CMV	+	0
Quivicán	Rayas y enanismo	MMV	-	0	0
Guines	Rayas y enanismo	MMV	-	0	0
Cienfuegos	Rayas y enanismo	MMV	-	0	0
Guantánamo					
Valle de Caujerí	Rayas y enanismo	MMV	-	0	0
Pinar del Río	Rayas y enanismo	MMV	-	0	0
Santiago de Cuba	Hojas cloróticas	-	Gemi	0	0
Holguín	Plantas achaparradas	MBSD	-	0	0

MMV: virus del mosaico del maíz; CMV: virus del mosaico del pepino; MBSD: micoplasma del enanismo arbutivo del maíz; TM: transmisión mecánica; TS: transmisión por semillas; 0: negativo; M/E: microscopía electrónica; M/O: microscopía óptica; Gemi: Geminivirus; -: no se realizó.

Otras enfermedades virales, como el enanismo estéril del maíz y el moteado clorótico del cereal, son ocasionadas por rhabdovirus, pero transmitidas por el saltahoja *Dalbulus maidis* (De Long y Wolcott) [Conti, 1990], no detectado en este estudio.

Los resultados negativos en cuanto a la transmisión mecánica y por semillas coinciden con lo planteado por otros autores [Granados, 1969].

Los síntomas de manchas cloróticas en las hojas de maíz correspondieron al virus del mosaico del pepino (CMV), perteneciente al grupo cucumovirus, y se evidenció por inclusiones amorfas al microscopio óptico, característica específica de este grupo, siendo el único representante que afecta al maíz. En Cuba su presencia es escasa y solamente se determinó en muestras procedentes de La Habana (Tabla 2), lo que coincide con De León y Morales (1997), quien lo detectó en algunas zo-

nas de Brasil en una incidencia muy baja. La transmisión de CMV es mediante áfidos, los que no fueron observados, debido quizás a la edad de la plantación al realizar los muestreos. La transmisión mecánica resultó positiva, pero no se detectó virosis en posturas provenientes de semillas de plantas infectadas.

Los cortes ultrafinos realizados a muestras de plantas con achaparramiento, clorosis, hojas con las puntas de color rojo púrpura y acortamiento de los entrenudos, revelaron la presencia de cuerpos picnómorficos similares a micoplasmas no presentes en muestras de plantas sanas, síntomas observados en asociación con el saltahoja *Dalbulus maidis* (De Long y Wolcott), vector de estos patógenos.

En este sentido, Henríquez *et al.* (1998) indicaron que el síntoma de achaparramiento es un complejo formado por tres patógenos: un espiroplasma (*espiroplasma*

*kunkellii* Whitcomb *et al.*), un micoplasma (enanismo arbustivo del maíz) y un virus (virus rayado fino del maíz). En las observaciones realizadas no se detectaron espiroplasmas o micoplasmas helicoidales, ni presencia del virus en cuestión, por lo que podemos argumentar que el enanismo arbustivo del maíz no se encuentra en Cuba en infección compleja.

Está distribuido en la provincia de Holguín (Tabla 2) y en países como Bolivia, Brasil, Colombia, Paraguay y Venezuela [De León y Morales, 1997].

Las observaciones al microscopio óptico de las muestras de hojas cloróticas (Tabla 2) revelaron la presencia de inclusiones nucleares azules en las células del floema, características de geminivirus [Christie y Edwardson, 1977]. Los virus que pertenecen a este grupo y que infectan al maíz son el mosaico estriado del maíz y el mosaico estriado del clorofila, transmitidos por los saltahojas *Cicadulina mbila* y *Nesociutha pallid* [Bock, 1982] insectos no presentes en Cuba, por lo que es de mucho interés la continuidad en el estudio de este aspecto.

## REFERENCIAS

- Bock, K. R.: «Geminivirus diseases», *Plant Disease Reporter* 66 (3): 266-289, 1982.
- Christie, R. G.; J. R. Edwardson: *Light and electron microscopy of plant virus inclusion*, Fla. Agr. Exp. Stn. Monogr. Ser. 9, 1977.
- Conti, M.: «Virus e micoplasmi del maíz (*Zea mays*, L.)» II Conferenza Nazionale sul Mais, Ricerca, Economia, Ambiente. Grado (GO), Italia 19-21, 1990.
- De León, C.; F. Morales: «Determinación y efecto de enfermedades virosas del maíz en América del Sur». Reunión del Programa Regional de Maíz, marzo 1997.
- Granados, R. R.: «Maize Virus and Vectors», *Virus, Vectors and Vegetation*, Interscience Publication, New York, 1969, pp. 327-350.
- Henriquez, P.; D. Jeffers, S. Deal: «Detección de los patógenos del achaparramiento del maíz en Centroamérica usando ELISA y PCR». Memoria del XXXVIII Reunión Anual de la Sociedad Americana de Fitopatología. División del Caribe APS-CD, Nicaragua, 1998.
- Hitchourmy, J. H.; G. B. Hills.: «The Use of Negative Staining in the Electron Microscopy Examination of Plant Viruses in Crude Extracts», *Virology* 27: 526-540, 1965.
- Hruska, A.: «El achaparramiento del maíz en mesoamérica: historia y situación actual». Memoria del XXXVIII Reunión Anual de la Sociedad Americana de Fitopatología. División del Caribe APS-CD, Nicaragua, 1998.
- Ko, N. J.; F. W. Zettler; J. R. Edwardson; R. G. Christie: «Light Microscopy Techniques for Detecting Orchid Viruses», *Acta. Hort.* 116: 241-253, 1985.
- Rabi, O.; J. Mirabal; J. Hung.: «Comportamiento de variedades de maíz (*Zea mays*, L.) de introducción en siembras de secano con riego». XII Forum de Ciencia y Técnica, Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova, 1998.
- Smith, K. M.: *A Textbook of Plant Virus Diseases*, Second Edition, 1957.