

## NOTA DE INVESTIGACIÓN

Helena Reichel,<sup>1</sup> Silvio Belalcázar,<sup>2</sup>  
Gladys Múnera,<sup>3</sup> Emilio Arévalo<sup>3</sup>  
y Javier Narváez,<sup>1</sup>

## ABSTRACT

**Title: First Report of Banana Streak Virus (BSV) Infecting Plantain (*Musa AAB Simmonds*), Sugar cane (*Saccharum officinarum*) and Achira (*Canna edulis*) in Colombia**

Viruslike symptoms of yellow striate mosaic to necrotic streaks were observed on plantain leaves of the cultivar Dominico-Hartón (*Musa AAB Simmonds*) in the municipalities of Andes, Venecia and Hispania (Antioquia) and Tebaida and Montenegro (Quindío), Colombia. Symptoms sometimes included mosaic and swelling at the base of the pseudostem. Furthermore, in the neighborhood of the plantain crops, at the localities of Andes and Montenegro, it was observed respectively plants of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) with chlorotic foliar tissue and of achira (*Canna edulis* L.) with symptoms of mild mosaic in their leaves. The foliar tissue of symptomatic plants of these three species, was tested for banana streak virus (BSV) and cucumber mosaic virus (CMV) by double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) with commercial polyclonal antisera (Agdia Inc., Elkhart, IN). BSV was detected in samples of all plant species. In Plantain, 50% of the examined plants from the Antioquia region were infected by BSV, but not CMV; whereas, at the Quindío region, 60% of the plants were simultaneously infected by both viruses, as detected by DAS-ELISA. CMV was not detected in foliar tissue of either sugarcane or achira plants. Immunosorbent electron microscopy analysis (ISEM) of BSV infected foliar tissue of plantain and sugarcane, showed the presence of viral bacilliform particles measuring ca. 30 x 110 nm, typical of BSV. Up to our knowledge, this is the first report of BSV infecting *Musa* spp., *Saccharum officinarum* and *Canna edulis* in Colombia, and the first time that *Canna edulis* is reported as a host for this virus.

1. Programa Nacional de Biotecnología Agrícola, Corpoica, A.A. 240142 - Las Palmas, Santa Fe de Bogotá, Colombia; 2. Programa Regional Agrícola, Regional 9, Corpoica, A.A. 1287, Manizales, Colombia; 3. CRECED Suroeste, Occidente de Antioquia y Sur del Chocó, Regional 4, Corpoica, A.A. 51764, Medellín.

## Primer Reporte del Virus del Rayado del Banano (BSV) Afectando Plantaciones de Plátano (*Musa AAB Simmonds*), Caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y Achira (*Canna edulis*) en Colombia

## RESUMEN

En noviembre de 1995, en los Municipios de Andes, Venecia e Hispania (Antioquia), La Tebaida y Montenegro (Quindío), se observaron hojas de plantas del clon Dominico-Hartón (*Musa AAB Simmonds*) con rayas cloróticas y necróticas, síntomas que caracterizan la enfermedad del rayado del banano. En ocasiones las plantas presentaban síntomas de mosaico en el pseudotallo y el engrosamiento y/o rompimiento de la base del mismo. Además, en las cercanías de las plantaciones de plátano de los Municipios de Andes y Montenegro, se observaron respectivamente plantas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) con síntomas de clorosis y de achira (*Canna edulis*) con síntomas de mosaico leve en sus hojas. Muestras de tejido foliar de éstas tres especies de plantas fueron analizadas para detectar la presencia del badnavirus del rayado del banano (BSV) y del virus del mosaico del pepino (CMV), mediante la prueba serológica DAS-ELISA, empleando anticuerpos policlonales comerciales (AGDIA Inc., Elkhart, IN). En el caso del plátano, en la región de Antioquia únicamente se detectó el BSV en el 50% de las plantas sintomáticas analizadas, mientras que en el Quindío, el 60% de las plantas estuvieron infectadas simultáneamente por BSV y CMV. El BSV se detectó también en muestras de tejido foliar de caña de azúcar y achira, pero en ningún caso resultaron positivas para el CMV, según la prueba DAS-ELISA. El análisis mediante microscopía electrónica de inmunoabsorbancia (ISEM) del tejido foliar de plátano y caña de azúcar infectado, indicó la presencia de partículas baciliformes típicas del BSV de aproximadamente 30 x 110 nm. Hasta donde conocemos, este es el primer reporte sobre la presencia del BSV afectando plátano, caña de azúcar y achira en Colombia y es la primera vez que se reporta a la achira como hospedero de éste virus en el mundo.

**Palabras Claves:** Virus del rayado del banano, BSV, virus del mosaico del pepino, CMV, plátano, *Musa* spp., *Saccharum officinarum*, *Canna edulis*.

## INTRODUCCIÓN

EL PLÁTANO y el banano (*Musa* spp.) son alimentos básicos en la canasta familiar de los colombianos y su exportación constituye un factor importante en la generación de divisas para el país. De igual manera, la industria derivada del cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es un renglón sobresaliente en la economía nacional. Las enfermedades causadas por virus limitan la producción de estos cultivos. El único virus reportado en Colombia afectando plantaciones de plátano y banano (Belalcázar, 1991; Castaño *et al.*, 1995), es el virus del mosaico del pepino (CMV). Por su parte, el virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV) es la única enfermedad de etiología viral reportada en este cultivo en Colombia (CENICANA, 1987).

La enfermedad del rayado del banano, es causada por el virus del rayado del banano (BSV), el cual fue reportado por

primera vez en 1974 en Costa de Marfil, Africa, donde ocasionó pérdidas hasta de un 90% en banano Cavendish, cultivar Poyo (AAA) (Lockhart, 1993). Esta enfermedad ha sido reportada casi en todas las regiones en donde se cultivan plátano y banano, incluyendo Australia, Asia, Africa y varios países de Centro y Sur América, como Honduras, Ecuador, Venezuela y Brasil (Jones, 1994).

El BSV es un miembro del grupo de los badnavirus (Plotz *et al.*, 1994), caracterizados por tener un genoma circular de ADN de cadena doble de 7.4 kb, contenido dentro de partículas baciliformes de aproximadamente 119±8 x 27±3 nm. Las plantas afectadas por BSV presentan inicialmente un rayado clorótico continuo o interrumpido en las hojas, y perpendicular a la nervadura central. El rayado clorótico se convierte luego en un rayado necrótico (Lockhart, 1986). Las plantas



presentan menor crecimiento y vigor, racimos pequeños, deformes y menor rendimiento (Plotz *et al.*, 1994). El virus suele encontrarse en bajas concentraciones en el tejido foliar infectado y debido a la periodicidad en la aparición o expresión de los síntomas, se recomiendan períodos de cuarentena entre 9 y 12 meses, en estas plantas (Frison y Putter, 1989).

Como la mayoría de los badnavirus, el BSV tiene un rango restringido de hospederos. El otro hospedero reconocido es la caña de azúcar. El BSV es transmitido de manera semipersistente entre plantas de banano por el insecto *Planococcus citri*, conocido como "cochinilla o chinche harinoso de los cítricos". Además, puede ser transmitido mediante inoculación mecánica de plantas de banano a caña de azúcar, a través de la semilla y mediante propagación vegetativa (Lockhart, 1988).

A finales de noviembre de 1995, se visitaron diferentes plantaciones de plátano cv. Dominico-Hartón (*Musa AAB Simonds*) en la zona cafetera de los Departamentos de Antioquia y Quindío en Colombia, los cuales presentaban síntomas de rayado clorótico y necrótico, semejantes a los causados por la enfermedad del rayado del banano. Se observaron también síntomas de clorosis en las hojas de plantas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) sembradas en plantaciones vecinas. Se inició una investigación con el objetivo de identificar el agente causal de ésta enfermedad en plátano y caña de azúcar. En éste estudio se demuestra que el agente causal del rayado clorótico observado en los cultivos de plátano y caña de azúcar en la región antioqueña es el BSV. Además se encontró que la achira (*Canna edulis*) es un nuevo hospedero del BSV.

#### Materiales y Métodos

**Material vegetal.** Se recolectaron muestras de tejido foliar con síntomas de rayado clorótico y necrótico, así como tejidos del pseudotallo de plantas de plátano de la variedad Dominico-Hartón, en plantaciones cercanas a los municipios de Andes, Hispania y Venecia, Departamento de Antioquia y La Tebaida y Montenegro en el Departamento del Quindío (Figura 1). Además se recolectaron muestras de tejido foliar con síntomas de clorosis de plantas de caña de azúcar y achira, encontradas en las cercanías de las plantaciones de plátano, en las localidades de Andes y Montenegro, respectivamente.

**Serología.** Las muestras fueron analizadas mediante la prueba serológica DAS-ELISA (Adams y Clark, 1977). Se emplearon



**Figura 1.** Mapa de Colombia donde se indican los Municipios de Venecia (1), Hispania (2) y Andes (3), localizados en el departamento de Antioquia; y los Municipios de Tebaida (4) y Montenegro (5) en el departamento del Quindío.

anticuerpos policlonales comerciales (Agdia, Inc. Elkhart, IN) para detectar el virus del mosaico del pepino (CMV) y el virus del rayado del banano (BSV). El antisuero para BSV corresponde a una mezcla de varios antisueros policlonales obtenidos a partir de las cepas de Marruecos (BSV-Ma), Ruanda (BSV-Rw) y Trinidad-Mysore (BSV-My).

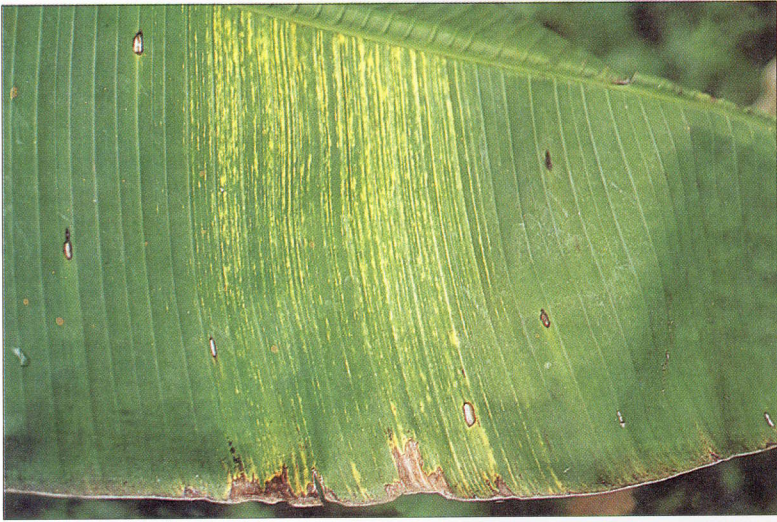
**Microscopía electrónica.** Se realizó la prueba de serología específica para microscopía de transmisión (Immunosorbent electron microscopy - ISEM). Para realizar ésta prueba, el tejido foliar se maceró en tampón fosfato 0.01 M, pH 7.6, en una relación 1:10 (p/v) y se centrifugó a 8.000 g durante 15 min. Se recolectó el sobrenadante y se conservó a 4°C. Se colocó una gota de una dilución 1:100 del antisuero para BSV en tampón fosfato 0.01 M, pH 7.6, sobre rejillas de cobre recubiertas con collodión y se incubaron a temperatura ambiente durante 5 h (Roberts *et al.*, 1984). Las rejillas se lavaron con el tampón solo, se colocaron sobre una gota del sobrenadante obtenido del macerado de tejido infectado y se incubaron a 4°C por 24 h. Después de la incubación, las rejillas se lavaron con agua destilada, se tiñeron negativamente con acetato de uranilo al 2% durante 2 min y se observaron al microscopio electrónico de transmisión (HITACHI HU-12A).

#### Resultados

**Sintomatología.** La Figura 2 muestra los síntomas de rayado clorótico y necrótico, observados en hojas del clon de plátano Dominico-Hartón. El rayado clorótico se presenta en bandas de color amarillo y/o anaranjado, perpendiculares a la nervadura central de las hojas, las cuales posteriormente se tornan necróticas. En algunas plantas con síntomas de rayado en las hojas, también se observaron síntomas de mosaico en el pseudotallo, acompañado de necrosis interna, así como un cuarteamiento en la base del pseudotallo (yaguas o calcetas), debido al hinchamiento de éste (Figura 3). Los síntomas que se observaron en las hojas de caña de azúcar fueron de rayas cloróticas de longitudes diferentes, paralelas a la nervadura central de las hojas (Figura 4). En las hojas de achira se observaron síntomas de un leve mosaico (Figura 5).

**Serología.** El BSV se detectó mediante la prueba serológica DAS-ELISA en 10 de las 20 muestras de tejido foliar de Dominico-Hartón analizadas (50%), provenientes del Departamento de Antioquia. En éste material no se detectó la presencia de CMV. Sin embargo, en las muestras de tejido foliar de plantas sintomáticas obtenidas de plantaciones de las localidades de Tebaida y Montenegro, Departamento del Quindío (Fig.1), se logró detectar por serología la

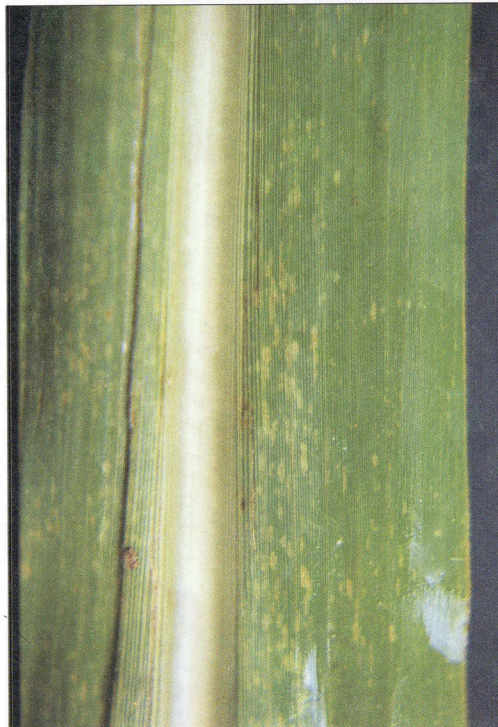




**Figura 2** Síntomas de rayado clorótico (A) y de rayado necrótico (B) en hojas de plátano de la variedad Dominico-Hartón infectadas por el BSV.



**Figura 3** Síntomas de hinchamiento y cuarteamiento del pseudotallo en plantas de plátano de la variedad Dominico-Hartón infectada por BSV.

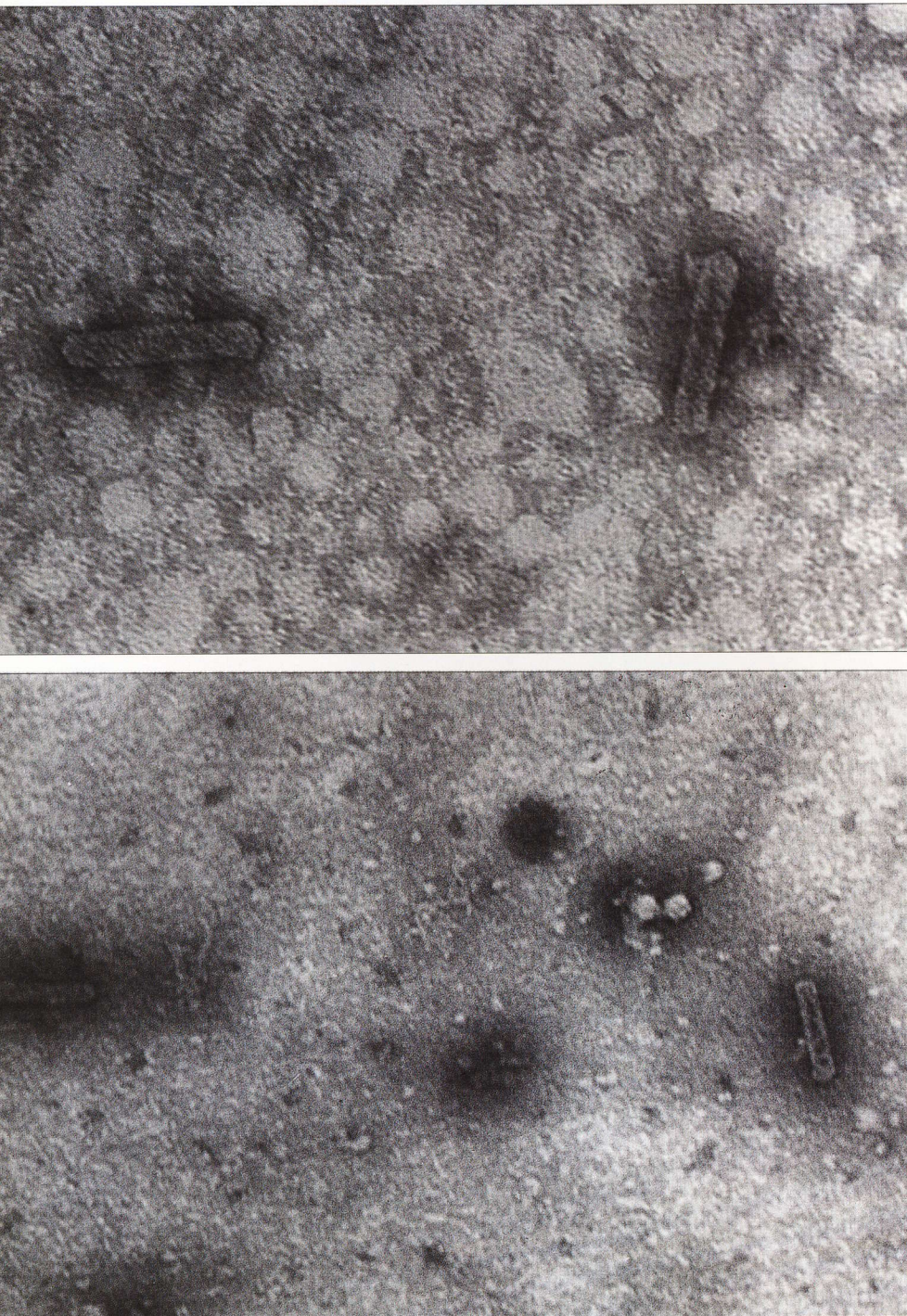


**Figura 4** Síntomas de clorosis en hojas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) infectada por BSV.



**Figura 5** Síntomas de mosaico leve en hojas de achira (*Canna edulis*) infectada por BSV.





**Figura 6** Microfotografía de partículas baciliformes de BSV en tejido foliar de plátano (A) y de caña de azúcar (B).

presencia simultánea de BSV y CMV en 13 de 22 plantas analizadas (60%); aunque se encontraron también plantas infectadas separadamente por cada virus. Así mismo se detectó la presencia de BSV en extractos de tejido del pseudotallo de plantas que presentaban síntomas de rayado clorótico en las hojas. El análisis serológico de tejido foliar de caña de azúcar y achira también resultó positivo para BSV, pero negativo para CMV.

*Microscopía electrónica.* La prueba ISEM de los extractos foliares de plantas de plátano y caña de azúcar que resultaron positivas mediante serología, permitió determinar la presencia de partículas baciliformes de aproximadamente 30 X 110 nm, características de BSV (Figura 6).

### Discusión

Basados en los síntomas observados y en los resultados de las pruebas serológicas DAS-ELISA e ISEM, en este estudio se determinó que el agente causal de la enfermedad que se observó inicialmente afectando plantaciones de plátano y caña de azúcar en el suroeste del Departamento de Antioquia, es el virus del rayado del banano. Además, el BSV se logró detectar en tejido foliar de achira con síntomas de mosaico leve. Hasta donde se conoce, este es el primer reporte sobre la presencia del virus del rayado del banano infectando a estos tres cultivos en Colombia y la primera vez que se reporta a la achira (*Canna edulis*) como hospedero del BSV. Hasta el momento, el BSV sólo se había reportado afectando a *Musa* spp. y *Saccharum officinarum*, obedeciendo al restringido rango de hospederos del grupo de los badnavirus, al cual pertenece el BSV.

El diagnóstico del BSV es difícil de realizar, debido a la heterogeneidad genómica y serológica de los diferentes aislamientos del BSV (Lockhart, 1993). La detección del BSV no se puede realizar mediante la técnica de análisis de la doble cadena de ARN (dsRNA), debido a que el virus no posee intermediarios replicativos de este tipo (su genoma consiste en ADN de doble cadena). De igual forma, la detección mediante la amplificación de fragmentos de su ADN genómico, empleando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es complicada por la gran variabilidad del virus. Además, la concentración del virus es generalmente baja, ocasionando incluso la desaparición periódica de los síntomas en las hojas y resultados negativos en los análisis serológicos (Lockhart, 1986). Posiblemente por las anteriores razones, algunas de las plantas sintomáticas de plátano y



caña de azúcar resultaron negativas para el diagnóstico del BSV.

El BSV puede ser transmitido por insectos vectores entre plantas de banano y mediante inoculación mecánica de banano a caña de azúcar (Lockhart y Autrey, 1988). Puesto que el BSV se detectó también en cultivos de caña de azúcar vecinos a las plantaciones de plátano en la localidad de Andes, Antioquia, y que anteriormente esta era una zona predominantemente cañera, es factible que el BSV haya sido transmitido de alguna manera (v. gr. insectos vectores) de la caña de azúcar al plátano. Sin embargo, como se anotó anteriormente, el BSV no había sido reportado en ninguno de estos dos cultivos en Colombia.

El BSV también pudo haber sido introducido y diseminado en el país, a través de la importación de material de siembra comercial de banano, producido *in vitro*, en laboratorios de países productores de este tipo de material, donde el BSV ya estaba presente. Es sabido que el BSV es difícil de erradicar por la técnica del cultivo *in vitro* de ápices meristemáticos, facilitando de esta manera su diseminación por la micropropagación masiva de materiales contaminados. La periodicidad en la expresión de los síntomas del BSV es un agravante del problema, dificultando la selección de plantas madres libres del virus.

En Musáceas, los síntomas producidos por el BSV se pueden confundir fácilmente con los ocasionados por el CMV. De esta manera, la presencia del BSV pudo haber pasado inadvertida por algún tiempo en las regiones productoras de plátano y banano de Colombia, especialmente en la zona cafetera de Antioquia y Quindío, en donde se produce cerca del 70% del plátano que se consume en el país (Belalcázar, 1991). En ésta región, el banano se cultiva intercalado con café y es frecuente encontrar pequeñas plantaciones de caña de azúcar para la producción de panela.

Actualmente, se adelanta un estudio en el suroeste antioqueño, tendiente a determinar la incidencia de este virus y su efecto en los rendimientos del cultivo de plátano. Igualmente, es necesario adelantar estudios que permitan establecer la distribución geográfica del BSV en el país, determinar el rango de especies hospederas y establecer la variabilidad de cepas de éste patógeno. Además, se debe investigar el uso de técnicas de termoterapia (tratamiento de la semilla con altas temperaturas), combinadas con

cultivo de meristemas, para la erradicación del BSV y la producción de material de siembra (semilla) libre del virus (Berg y Bustamante, 1974; Krikorian y Cronaver, 1984). Es importante igualmente, determinar qué germoplasma de *Musa* spp. colombiano es resistente o tolerante al BSV.

En cuanto al control de la enfermedad del rayado del banano, se recomienda erradicar las plantas afectadas por BSV, el uso de material de siembra proveniente de plantaciones libres de la enfermedad o semilla certificada libre de virus. Además, es necesario el empleo de prácticas cuarentenarias (9-12 meses) para materiales introducidos de zonas o países en donde está presente el BSV (Jones, 1994). En lo posible, se debe evitar la siembra de *Musa* spp. en áreas adyacentes a cultivos hospederos del BSV. También se recomienda el control de los insectos vectores y desinfectar las herramientas de trabajo, especialmente cuando se manejan simultáneamente cultivos de Musáceas y caña de azúcar.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración de las bacteriólogas Diana Carrasquilla y Liliana Pachón y la valiosa asistencia técnica en los estudios de microscopía electrónica de Rosalía Pérez del Instituto Colombiano de Neurología.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Belalcázar, S. 1991. El Cultivo del Plátano en el Trópico. Manual de Asistencia Técnica No. 50. Comité de Cafeteros del Quindío, CIID, INIBAP, ICA, Cali, Colombia. pp. 278-279.
- Berg, L.N., and Bustamante, M. 1974. Heat treatment and meristem culture for the banana plant. *Trop. Agric. (Trinidad)* 36: 275-284.
- Krikorian, A.D., and Cronaver, S.S. 1984. Aseptic culture techniques for banana and plantain improvement. *Econ. Bot.* 38: 322-331.
- Castaño, M., Arroyave, J., Galves, G., and Morales, F. 1995. Cucumovirus afectando plantaciones de banano y plátano en Caicedonia (Valle del Cauca). *ASCOLFI INFORMA* 21: 14-15.
- Centro de Investigación de la Caña de Azúcar (CENICAÑA). Informe Anual, 1987-1989. Cali, Colombia.
- Clark, M.F., and Adams, A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-483.

Dodds, J.A., Morris, T.J., and Jordan, R. L. 1984. Plant viral double-stranded RNA. *Ann. Rev. Phytopathol.* 22:151-168.

Frison, E.A., and Putter, C.A.J. (eds). 1989. Technical guidelines for the safe movement of *Musa* germplasm. En: Food and Agriculture Organization, International Board for Plant Genetic Resources, Rome, pp. 23.

Jones, D.R. 1994. Risks involved in the transfer of banana and plantain germplasm. En: The Improvement and Testing of *Musa*: a Global Partnership. INIBAP, Montpellier, France, 93-93.

Lockhart, B.E.L. 1986. Purification and serology of a bacilliform virus associated with banana streak disease. *Phytopathology* 76: 995-999.

Lockhart, B.E.L., and Autrey, L.J.C. 1988. Occurrence in sugarcane of a bacilliform virus related serologically to banana streak virus. *Plant Dis.* 72: 230-233.

Lockhart, B.E.L., 1990. Evidence for a circular double-stranded genome in a second group of plant viruses. *Phytopathology* 80: 127-131.

Lockhart, B.E.L., and Olszewski N.E. 1993. Serological and genomic heterogeneity of banana streak badnavirus: Implications for virus detection in *Musa* germplasm, En: Breeding Banana and Plantain for Resistance to Diseases and Pests. Montpellier, France, pp. 105-113.

Ploetz, R.C., Zentmyer, G.A., Nishijima, W.T., Rohrbach, K.G., and Ohr, H.D. (eds). 1994. Banana Streak, En: Compendium of Tropical Fruit Diseases. APS, pp. 19-20.

Roberts, I.M., Robinson, D.J., and Harrison, B.D. 1984. Serological relationships and genome homologies among geminiviruses. *J. Gen. Virol.* 65: 1723-1730.