

3249

UTILIZACION DE METODOS SEROLOGICOS EN EL
DIAGNOSTICO DEL VIRUS DEL RAYADO FINO DEL MAIZ*

Rodrigo Gámez,
Carlos Ramírez y
Carmen Rivera**

El rayado fino del maíz es causado por un virus (VRF) (Gámez, 1971,1973) frecuentemente asociado a este cultivo en Centro y Sur América. Bajo ciertas condiciones ecológicas y con genotipos determinados, el VRF puede alcanzar grados de incidencia elevados y causar efectos importantes en la producción del maíz, como se ha observado en Costa Rica y El Salvador (Díaz, A., 1976, Comunicación personal; Gámez y Cartín, 1973).

En estudios de diferentes aspectos de la enfermedad, pero en particular en los de epifitiología y mejoramiento del cultivo, es importante contar con métodos adecuados para el diagnóstico seguro de la enfermedad. El uso de la serología en el diagnóstico de virus de plantas presenta numerosas ventajas tanto por su alta especificidad y sensibilidad, como por la factibilidad de emplearse utilizando métodos rápidos, eficientes y simples. En el presente trabajo se describe la utilización del método serológico de inmunodifusión doble en geles de agar de Outcherlony, para el diagnóstico y detección del VRF.

Para la preparación del antisuero viral se utilizó un método de purificación del VRF basado en su extracción en solución tampón de fosfatos, pH 7,0; precipitación con polietilen glicol, y centrifugación en gradientes de densidad de sucrosa. Los antisueros contra el virus se prepararon en conejos, inyectándoles a intervalos regulares las preparaciones purificadas mezcladas con adjuvante completo de Freund o alginato de sodio (Gámez y Ramírez, 1975). El suero obtenido de los conejos inmunizados fue empleado en las pruebas de inmunodifusión en agar. Para este propósito se utilizó lonagar No. 2 (Oxoid, COLAB) al 1% en salina (NaCl 0.85%), con azida de sodio (NaN₃) al 0.1% como preservante. El agar se colocó en placas de Petri y una vez solidificado se perforó un agujero central de 5 mm y alrededor de él y en forma radial 6 agujeros, del mismo diámetro a una distancia de 5 mm. El antisuero se colocó en el hoy central y las muestras a probar alrededor. Tanto muestras purificadas como extractos crudos de hojas de plantas infectadas fueron probadas obteniéndose consistentemente reacciones positivas evidenciadas por la aparición en el agar de una banda blanca típica de precipitación

* "Trabajo presentado en la XXII Reunión Anual del PCCMCA, San José, Costa Rica, Julio de 1976"

** Centro de Investigación en Virología y Fisiología Celular, INISA, Universidad de Costa Rica.

del complejo antígeno-anticuerpo. Las reacciones eran visibles en un lapso de 24-48 horas. Ninguna reacción ocurrió entre el antisuero y los extractos de plantas sanas. Los extractos de hojas infectadas pudieron diluirse hasta 1/8 y aun dar reacción positiva, indicativo de que la concentración del virus en la planta es relativamente elevada.

El tamaño de los agujeros y la distribución empleada permite probar un número de 30 muestras por placa de Petri. El método y la técnica descritas han permitido también identificar rápida y específicamente el VRF en extractos crudos de plantas de maíz provenientes de diversas regiones de Costa Rica y Centro América, y recientemente de Colombia, Brasil y Uruguay (Kitajima, Gámez y Lin. 1975; e información no publicada).

REFERENCIAS

- GAMEZ, R. A new leafhopper-borne virus of corn in Central America. *Plant Dis. Repr.* 53, 929-932. 1969.
- GAMEZ, R. Transmission of rayado fino virus of maize (*Zea mays* L.) by *Dalbulus maidis* DeLong & Wolcott. *Ann. Appl. Biol.* 73, 285-292, 1973.
- GAMEZ, R. y CARTIN, F. El virus del rayado fino del maíz: observaciones adicionales sobre su efecto en la producción de plantas cultivadas. *In XIX Reunión Anual, Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos Alimenticios.* San José, Costa Rica, 1973.
- GAMEZ, R. y RAMIREZ, C. Purificación, serología y microscopía electrónica del virus del rayado fino del maíz. *In Resúmenes, Reunión Anual, División del Caribe, Sociedad Americana de Fitopatología.* CIAT, Cali, Colombia, Dic. 4-6, 1975. p. 43, 1975.
- KITAJIMA, E., GAMEZ, R. y LIN, M.T. Comparación serológica e histológica del virus del rayado fino del maíz de Costa Rica y el virus del rayado del maíz brasileño. *In Resúmenes, Reunión Anual, División del Caribe, Sociedad Americana de Fitopatología, CIAT, Cali, Colombia, 1975, p. 51, 1975.*