

BANANA STREAK VIRUS (BSV): CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS, EPIDEMIOLOGÍA E IMPORTANCIA ECONÓMICA

Elisa Javier Higginson

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5.^a B y 5.^a F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600, ejavier@inisav.cu

RESUMEN

El virus del rayado del plátano (BSV), agente causal de la enfermedad del rayado del plátano en el cultivo del plátano y el banano (*Musa* spp.), se reportó en la mayoría de las regiones cultivadoras del mundo donde afectó la productividad de este importante cultivo. Este pararetrovirus presenta secuencias de ADN integradas en el genoma de *Musa* que pueden activarse bajo condiciones de estrés ambiental y por cultivo in vitro para producir la infección episomal. Presenta además una gran heterogeneidad genómica y serológica que tornan la detección y el control de la enfermedad muy difíciles. Estas características inusuales han provocado que el BSV sea objeto de una especial atención, tanto de los virólogos como de los investigadores del banano en general, ya que constituye el mayor impedimento en el movimiento internacional de germoplasma, el mejoramiento genético y la propagación de biomasa de *Musa*.

Palabras claves: BSV, badnavirus, organización genómica, PCR

ABSTRACT

Banana streak virus (BSV), the causal agent of banana and plantain viral leaf streak disease, has been reported in most banana producing countries where it has affected the productivity of this important crop. This pararetrovirus has DNA copies integrated on *Musa* genome which are able to be activated under certain conditions like environmental stress and in vitro culture to produce episomal infection. Isolates of the virus are serological and genomically heterogeneous which makes the detection and disease control very difficult. Virologist and banana researchers in general have been taken special attentions to this virus that constitutes a major obstacle in international plantlets movement, the genetic breeding and *Musa* biomass propagation.

Key words: BSV, badnavirus, genome organization, PCR

INTRODUCCIÓN

Las bananas y plátanos (*Musa* spp.) constituyen una fuente de alimento para millones de personas en regiones tropicales y subtropicales del mundo. Los progenitores salvajes de los bananos son *Musa acuminata* (genoma A), *M. balbisiana* (genoma B), de las que provienen la mayoría de las variedades e híbridos comerciales, y en una menor contribución *M. schizocarpa* (genoma S) y *M. textilis* / *M. maclayi* (genoma T) [Daniells *et al.*, 2001; Carreel *et al.*, 2002].

El cultivo de estas musáceas resulta de gran interés para pequeños agricultores debido a que, por sus características de planta perenne, requiere de bajos costos de producción y se utilizan además para brindar protección a otros cultivos intercalados. Sus frutos poseen además un alto contenido de carbohidratos, vitamina C y un número importante de minerales [Tezenas du Montcel, 1991].

En los últimos años a estos cultivos los han afectado diferentes enfermedades. Entre las más comunes se

encuentran la sigatoka negra causada por *Mycosphaerella fijiensis* Morelet; la fusariosis, originada por *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl; la enfermedad del moko bacteriano, por *Ralstonia solanacearum* Smith, afectaciones en raíces y tallos causada por el nemátodo *Radopholus similis* Cobb y ocho virosis descritas, entre las que se encuentran *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) [Stover, 1972], *Banana bunchy top nanovirus* (BBTV) [Thomas y Dietzgen, 1991], *Banana bract mosaic virus* (BBrMV) [Bateson y Dale, 1995; Thomas *et al.*, 1997], *Banana mild mosaic virus* (BanMMV) [Caruana y Galzi, 1998], *Abaca mosaic virus* (AbaMV) [Thomas y Magnaye, 1999], *Banana die-back virus* (BDBV) [Hughes, 1998], *Banana virus X* (BVX) [Teycheney *et al.*, 2005; 2007] y *Banana streak badnavirus* (BSV) [Lockhart, 1986], causante de la enfermedad del rayado del plátano.

Hoy esta enfermedad es un serio obstáculo en el movimiento de germoplasma de *Musa*, así como en los programas de mejoramiento, pues nuevos híbridos resis-

tentes a la sigatoka negra y a enfermedades producidas por nematodos no se han incorporado a la producción porque frecuentemente están infectados por BSV [Geering *et al.*, 2001]. Estas infecciones se relacionaron con la presencia de secuencias de ADN del virus integradas en el genoma de *M. balbisiana*, que pueden activarse para producir la infección episomal [Le Provost *et al.*, 2006]. Por tal motivo, las restricciones cuarentenarias en la disseminación de variedades de plátano y banano se han fortalecido, lo que ha producido grandes pérdidas económicas, sobre todo en países y organizaciones involucradas en el comercio y producción de vitroplantas [Lockhart y Jones, 1999b].

En el presente trabajo se realiza una revisión del conocimiento actual sobre la enfermedad del rayado del plátano, las características biológicas de su agente causal, la epidemiología y su importancia económica.

Antecedentes de la enfermedad

La enfermedad del rayado del plátano fue observada por primera vez en Costa de Marfil por Lassoudiere (1974), quien señaló que los síntomas podían ocurrir en una o varias hojas de la planta, así como mostrarse o perderse cíclicamente. Luego una enfermedad similar se observó en el sur de Marruecos, en plantas de la variedad Cavendish Enano. En esta ocasión su agente causal —el virus del rayado del plátano— se aisló y caracterizó [Lockhart, 1986]. En la actualidad la patología se ha detectado en muchos de los numerosos clones de *Musa* spp. y sus subgrupos, así como en la mayoría de las regiones bananeras del mundo [Harper y Hull, 1998]. El virus probablemente se presenta dondequiera que los plátanos y bananos se cultiven, y se reportó en África, Europa (Islas Canarias y Madeira), Asia, norte de la Florida, América del Sur, América Central, Australia y las Islas del Pacífico [Jones y Lockhart, 1993; Diekmann y Putter, 1996; Lockhart y Jones, 1999b].

El primer reporte oficial de la enfermedad en Cuba se realizó en la variedad Mysore [Jones y Lockhart, 1993], y más tarde en el híbrido FHIA-21 [Font *et al.*, 1998]. Este último se introdujo en el país durante la década de 1990 como parte de los programas de mejoramiento del cultivo del plátano, debido a su gran potencial agrícola y su resistencia a la sigatoka negra. Posteriormente la enfermedad se reportó en las variedades Gran Enano, Pisang Awak, CEMSA ¾ y en la mayoría de los híbridos FHIA [Luis Pérez Vicente, comunicación personal, Miranda, 2003].

Clasificación

El BSV pertenece al género Badnavirus, cuyos miembros tienen partículas baciliformes de aproximadamente 30 x 150 nm, las cuales contienen un genoma de ADN circular de doble cadena de 7,4 kb [Lockhart y Olszewski, 1994]. El género badnavirus, perteneciente a la familia *Caulimoviridae*, incluye virus de plantas en los que el material genético es una molécula de ADN que se replica a partir de un ARN intermediario, mediante la enzima transcriptasa inversa, codificada por el genoma viral [Medberry *et al.*, 1990]. A excepción de *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV), los badnavirus ocurren en cultivos propagados vegetativamente en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Además de *Musa* spp., pueden infectar la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), cacao (*Theobroma cacao* L.), piña (*Ananas comosus* L.), pimienta negra (*Piper nigrum* L.), cítricos (*Citrus* spp.) y ñame (*Dioscorea* spp.). Es interesante señalar que a excepción de *T. cacao* y *Kalanchoe* sp., los huéspedes naturales de los Badnavirus son plantas cuyos centros de origen, tanto como los de diversidad, se encuentran en el sur y sureste de Asia [Lockhart y Olszewski, 1994].

La enfermedad del rayado del plátano la causan muchas especies de BSV con diferencias serológicas y genómicas. Además de BSV-OL, BSV-cav, BSMysV BSV-GF, BSV-IM, un número mayor de especies de BSV se han identificado. Harper *et al.* (2005) describieron la compleja situación de la enfermedad en Uganda, donde 12 nuevas especies de BSV se reportaron en diferentes variedades de *Musa*, en las que algunas de ellas provocaban infecciones mixtas.

La causa de la gran variabilidad de BSV no se ha determinado hasta el momento; pero al igual que ocurre con otros pararetrovirus, es probable que sea debido a mutaciones que ocurren durante la replicación viral por retrotranscripción y por eventos de recombinación entre secuencias virales y el genoma del huésped [Schoelz y Wintermantel, 1993].

Síntomas de la enfermedad del rayado del plátano

El síntoma foliar de infección más característico de la enfermedad es el rayado clorótico que se torna necrótico posteriormente. La lámina de la hoja puede aparecer más estrecha, gruesa y tornarse rasgada. Otros síntomas incluyen la atrofia de la planta, rajaduras en el pseudotallo, constricción de los racimos, alteración de

la filotaxis, es decir, las hojas se ordenan en un solo plano en lugar del patrón en espiral normal, y en casos severos se observa además necrosis de la hoja cigarro y necrosis interna y colapso del pseudotallo [Lockhart, 1995]. La infección puede causar que los racimos se emitan lateralmente a través del pseudotallo debido a la oclusión de la salida de la flor, reducción en el peso y retraso en su aparición, y por consiguiente, retraso de la cosecha. Los frutos se necrosan interna y externamente, cambian su sabor y sus cáscaras son más delgadas y muy propensas a rajaduras [Lockhart y Jones, 1999b; Daniells *et al.*, 2001].

Los daños causados por BSV son particularmente severos cuando las plantas se someten a prácticas culturales deficientes, estrés provocado por la falta de agua y por otras enfermedades, así como la competencia con malezas por los nutrientes del suelo [Hughes, 1998].

Una característica importante de esta virosis es que la expresión de los síntomas es intermitente y permanecen ausentes por largos períodos [Lockhart y Jones, 1999b]. Las plantas pueden no mostrar daños en todas las hojas, y se ha comprobado que las variaciones de temperatura afectan la expresión. Dahal *et al.* (1998a) demostraron que a temperaturas de 22°C las plantas infectadas manifiestan un aumento en la intensidad de

los síntomas, mientras que al transferirlas hacia un ambiente entre 28-35°C ocurría un decrecimiento notable de los daños.

Organización genómica del BSV y replicación viral

El genoma de la especie BSV-OL, aislada de la variedad Obino L'Ewai (genoma AAB de *Musa*) de Nigeria, fue completamente secuenciado [Harper y Hull, 1998], aunque se han determinado también secuencias genómicas parciales de aislados de las variedades Mysore, Goldfinger y Williams [Geering *et al.*, 2000]. La talla del genoma es de 7389 kb [Harper y Hull, 1998] (*Fig. 1*). El típico ADN encapsidado de los badnavirus tiene una discontinuidad en cada cadena. La discontinuidad de la hebra sin sentido (–) se encuentra adyacente al extremo 3' de un sitio de unión para el ARN de transferencia para metionina [Medberry *et al.*, 1990], mientras que la posición de la discontinuidad en la hebra con sentido (+) de BSV-OL no se ha mapeado hasta el momento. Como convenio, la numeración de la secuencia de nucleótidos del genoma de BSV comienza en el extremo 5' del sitio de unión del ARN t para metionina.

El genoma de BSV contiene tres marcos de lectura abiertos u Open Reading Frames (ORF) y una gran región intergénica de 956 nucleótidos entre los marcos de lectura 3 y 1 (*Fig. 1*).

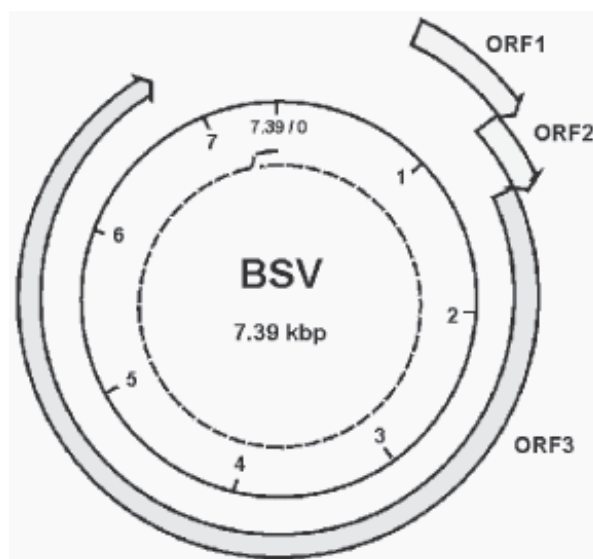


Figura 1. Organización del genoma de BSV-OL. El círculo completo representa la molécula de ADN. El círculo discontinuo del centro muestra el mapa del ARN transcripto. El arco más externo indica la posición de los 3 ORF [Tomada de Harper y Hull (1998) y reproducida por Kluwer Academic Publishers].

Los ORF codifican para dos pequeñas proteínas de 20,8 kDa (ORF1) y 14,5 kDa (ORF2) y una poliproteína de 208 kDa (ORF3) [Harper y Hull, 1998]. La función de las dos primeras no se ha determinado claramente: sin embargo, se han hecho estudios con otros Badnavirus que sugieren que la proteína de 14,5 kDa participa en el ensamblaje de la partícula viral [Cheng *et al.*, 1996; Stavolone *et al.*, 2001]. Esta proteína tiene en su extremo carboxilo un dominio corto, hidrofóbico y básico que lo proveen de la habilidad de unir ARN de simple cadena con ADN doble cadena (Jacquot *et al.*, 1996; 1997). La proteína además presenta un motivo superenrollado que le permite interactuar con ella misma para formar tetrámeros, los cuales a su vez pueden interactuar con otras proteínas virales y celulares [Stavolone *et al.*, 2001]. Los componentes de la poliproteína de 208 kDa en orden desde el extremo amino hasta el carboxilo son la proteína de movimiento célula-célula, la proteína de la cápside, la aspartil proteinasa y la replicasa con los dominios transcriptasa inversa y RNasa H. Se postula que la poliproteína de 208 kDa es procesada por la aspartil proteinasa para producir las unidades funcionales, aunque los sitios de corte no se han determinado [Medberry *et al.*, 1990; Harper y Hull, 1998].

Durante la replicación viral el ADN del virus se transporta al núcleo y sus discontinuidades se reparan y forman minicromosomas, por asociación del ADN covalentemente cerrado superenrollado con las histonas

del huésped [Hull, 2001]. El ADN minicromosomal se transcribe mediante la ARN polimerasa II ADN dependiente, codificada por el huésped [Hull, 2001]. La secuencia de ADN que actúa como promotor está situada cerca del extremo izquierdo de la gran región intergénica, y se superpone con la región codificante en su extremo 5'. La caja TATA putativa del promotor de BSV-OL se localiza en la región 7231-7237 del genoma, y la transcripción comienza en el nucleótido 7260 o 7261 [Harper y Hull, 1998]. El producto de la transcripción es un ARN más largo que el genoma terminalmente redundante —el ARN pregenómico—, el cual va a tener dos funciones en el citoplasma de las células infectadas: servir como molde para la replicación a través de la transcripción reversa, y como un complejo ARN mensajero policistrónico para la síntesis de proteínas virales [Rothnie *et al.*, 1994].

La secuencia líder 5' del ARN pregenómico de BSV-OL tiene 644 nucleótidos y se encuentra dentro de la gran región intergénica. Esta secuencia contiene muchos pequeños marcos de lectura abiertos no funcionales (sORFs). Estudios recientes realizados para la determinación de la estructura secundaria de esa región revelan que se pliega para formar un lazo estable de 37 nucleótidos delante del codón de inicio del ORF1, y que requiere de un complejo mecanismo de migración no lineal de los ribosomas para la traducción eficiente del primer gran ORF (ORF1) [Pooggin *et al.*, 1999] (*Fig. 2*).



Figura 2. Organización estructural de la secuencia líder del ADN pregenómico de BSV-OL.

El reconocimiento ribosomal del ARNm se cree que comienza en el primero de los pequeños sORFs de solo seis codones de longitud y situado cinco nucleótidos a la izquierda de la estructura de lazo. Cuando el ribosoma alcanza esta estructura, sus subunidades se separan y se vuelven a ensamblar cerca del comienzo del ORF1, en la región o secuencia de aterrizaje del ribosoma o *shunt landing site* [Pooggin *et al.*, 1999], la cual se encuentra situada inmediatamente después de la estructura de lazo (Fig. 2). Esta región es rica en codones de inicio AUG en un contexto rico en AU que la hace un elemento cis importante para el control del reinicio de la traducción [Pogging *et al.*, 1999]. En BSMysV se identificó cadena abajo de la secuencia de aterrizaje, un codón CUG en la región 568-570 y en marco con el codón de parada del ORF1, que a pesar de no ser un codón de inicio convencional, pudiera potencialmente funcionar como tal [Geering *et al.*, 2005]. En esta misma especie se determinó que una gran región entre la secuencia líder y el ORF3 carece de codones de inicio AUG, excepto el codón de inicio del ORF2, que se encuentra en un pobre contexto. Se postula que la traducción de los ORF2 y ORF3 probablemente ocurra a través de un proceso de reconocimiento gradual del ARNm [Geering *et al.*, 2000], en el que solo un porcentaje del complejo de la traducción va a iniciar el proceso en el codón de inicio CUG del ORF1; otra fracción lo hará en el codón de inicio del ORF2 y una gran parte de los ribosomas continuarán en ORF3. Por tanto, la combinación del mecanismo de migración no lineal de los ribosomas, junto al de reconocimiento gradual de la secuencia aseguran la traducción eficiente del ARNm policistrónico de BSV [Geering *et al.*, 2005].

En el paso final de la replicación, el ARN pregenómico es convertido en ADN de doble cadena por acción de la reverso transcriptasa. En la síntesis de la hebra negativa el ARN^{met} funciona como cebador. En la positiva se piensa que el cebador sea un segmento rico en purinas que se produce por digestión del ARN pregenómico por la RNasa H, después que se ha sintetizado la hebra negativa [Medberry *et al.*, 1990]. Para algunos Badnavirus como RTBV existe una secuencia conservada rica en purinas en el extremo 5' de la secuencia líder que actúa como elemento regulador cis para el empaquetamiento de la partícula viral como parte de una señal para la encapsidación [Futterer *et al.*, 1988; Hay *et al.*, 1991]. En el proceso de reconocimiento no lineal del ARN mensajero los ribosomas pudieran dejar intacta la mayoría de la secuencia líder y de esta forma quedar expuesta la señal de encapsidación para

su interacción con la proteína de la cápside [Pooggin *et al.*, 1999]; por tanto, una acumulación de la proteína de la cápside en los estados tardíos de la infección pudiera conducir al reconocimiento de la señal de encapsidación y así al empaquetamiento del virus.

Los estudios sobre la biología molecular de BSV muestran que existen tres formas en las que el virus puede presentarse en la célula huésped [Hull y Harper, 1998]. Estas son la forma episomal encapsidada, en la que el genoma viral se encuentra encapsidado dentro de la proteína de la cápside. Esta forma se asocia con el desarrollo de los síntomas de la enfermedad, aunque puede aparecer en plantas asintomáticas. Otra de las formas es la episomal no encapsidada constituida por ADN viral superenrollado, que se acumula en el citoplasma por perturbaciones que ocurren durante el ciclo replicativo. La tercera forma es la integrada en la que el ADN viral aparece integrado dentro del genoma de la célula huésped.

Características de las secuencias de ADN de BSV integradas en el genoma de *Musa* spp.

En los pararetrovirus, la integración del ADN viral en el genoma del huésped no se requiere para la replicación; sin embargo, se tienen evidencias de secuencias de ADN de estos virus integradas al genoma nuclear de varias especies de plantas como petunia (*Petunia vein clearing virus* (PVCV)) [Richert-Poggeler *et al.*, 1996], tabaco (*Tobacco vein clearing virus* (TVCV)) [Lockhart *et al.*, 2000], arroz (*Rice tungro bacilliform virus* (RTBV)) [Harper *et al.*, 2002] y plátanos y bananos (*Banana streak badna virus*) [Harper *et al.*, 1999].

BSV-OL es particularmente común en nuevos híbridos de *M. acuminata* x *M. balbisiana* creados por los programas de mejoramiento [Harper *et al.*, 1999]. La infección por este aislado se cree que se produzca por activación de secuencias integradas del virus en el genoma B del huésped [Harper *et al.*, 1999; Ndowora *et al.*, 1999]. La secuencia integrada de BSV-OL en el genoma de la variedad Obino L Ewai (grupo *Musa* AAB) contiene dos segmentos de ADN viral correspondientes a las regiones 7264-5810 y 5530-7363 del genoma del virus. Estos fragmentos comprenden el genoma viral completo; sin embargo, se encuentran separados por una región de 6 kb que contiene muchos segmentos no contiguos y parcialmente invertidos de ADN viral. Otras evidencias recientes sugieren que al menos parte del genoma de BSMysV está integrado en el genoma B de varias especies de *Musa* cultivadas [Geering *et al.*, 2005].

La integración de secuencias de ADN viral dentro del genoma posiblemente ocurra a través de una recombinación no legítima [Hull, 2002; Ndowora *et al.*, 1999]. Su modelo de activación, propuesto por Ndowora *et al.* (1999), explica que se produce una recombinación homóloga entre los segmentos que flanquean la región de 6 kb, lo que conduce a su escisión del genoma huésped. Posteriormente tiene lugar una segunda recombinación entre los 98 pb de las secuencias directas repetidas que flanquean a la secuencia integrada, y el ADN viral es entonces circularizado y escindido del cromosoma.

Un estímulo para la activación de las secuencias integradas lo constituye el cultivo de tejido *in vitro* [Dallot *et al.*, 2001], una práctica que se utiliza para multiplicar plántulas una vez que se han creado los híbridos. El fenómeno molecular exacto implicado en la expresión de secuencias de BSV integradas en el genoma de ciertos de estos híbridos tetraploides, como el FHIA, no se ha dilucidado hasta el momento. Se postula que el incremento de las rupturas cromosomales, los simples cambios de bases nitrogenadas o las alteraciones de la metilación del ADN asociados con el estado de proliferación del cultivo *in vitro* pueden conducir a la activación de estas secuencias integradas [Phillips *et al.*, 1994; Dallot *et al.*, 2001].

Se ha identificado otro tipo de secuencias de BSV integradas al genoma A de *Musa*, pero estas son incapaces de producir la infección episomal por ser incompletas y estar muy dispersas en el genoma del huésped [Ndowora *et al.*, 1999].

Geering *et al.* (2005) reportaron un gran número de secuencias de badnavirus integradas en el genoma de varias especies de *Musa* spp., a las que denominaron *virus endógenos de bananas* (BEV), las cuales no se asociaban necesariamente a la infección. Se postula que estas secuencias son fósiles moleculares de virus que existieron en poblaciones salvajes de *Musa* [Geering *et al.*, 2005] y que confieren a la planta resistencia al virus, a través de inducción de silenciamiento transcripcional, así como postranscripcional de genes de secuencias homólogas [Hull *et al.*, 2000], y por tanto se tiende a su conservación por presión selectiva.

La presencia de múltiples de sus copias pudiera facilitar la duplicación de genes endógenos por recombinación homóloga desigual, como ocurre con los retrotransposones cuando se insertan a cada lado de un gen endógeno [White *et al.*, 1994]. Otra de las ventajas evo-

lutivas de estas secuencias para los bananos sería la ocurrencia de grandes rearrreglos cromosomales en el huésped por recombinación homóloga de secuencias cercanamente relacionadas en *loci* distantes [Hughes y Coffin, 2001]. La especificidad de expresión de genes endógenos también puede verse afectada por la inserción de promotores de Badnavirus cerca de ellos [Matzke *et al.*, 2004].

Epidemiología

BSV se propaga vegetativamente por cormos y por propagación *in vitro*. En muchos programas de mejoramiento de bananos y plátanos la progenie estéril con características agronómicas deseables, que incluyen resistencia a enfermedades y plagas, usualmente se propagan clonalmente por cultivo de tejidos. La propagación por esta vía puede contribuir a la diseminación del virus. El manejo exitoso del BSV requiere de la detección del virus en material infectado para evitar que se propague. Se ha demostrado también que los pseudocóccidos *Planococcus citri* Risso, *Saccharicoccus sacchari* Cockerell y *Planococcus minor* Maskell pueden actuar como vectores semipersistentes, cuando el virus persiste en el vector solo por pocos días [Lockhart y Jones, 1999b; González *et al.*, 2002]. Otros cóccidos que colonizan *Musa* spp., como *Dysmicoccus brevipes* Cockerell, posiblemente transmitan BSV [Matilde-Ferrero y Williams, 1995]. Se conoce que el BSV puede transmitirse también por semillas [Daniells *et al.*, 1995].

Por otra parte, algunos badnavirus que afectan la caña de azúcar y los bananos están relacionados serológicamente [Lockhart y Autrey, 1988], y es posible que exista un movimiento del virus entre estos dos cultivos. Este es el caso de RTBV que se ha logrado transmitir a bananos por agroinoculación y por pseudocóccidos, y en este huésped produce síntomas típicos de la infección por BSV [Bouhida *et al.*, 1993; Lockhart, 1995].

Métodos de diagnóstico de la enfermedad

La detección de BSV incluye varios métodos como la inspección de las plantas para la detección visual de los síntomas, la identificación de las partículas virales mediante microscopía electrónica en extractos de savia parcialmente purificada y los métodos serológicos: ensayo sobre inmunosorbente ligado a enzima (ELISA) y técnicas basadas en los ácidos nucleicos que incluyen hibridización por *dot-blot* y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) [Lockhart y Olszewski, 1993].

1. Inspección visual de los síntomas

La inspección visual de los síntomas causados por BSV no resulta un método de diagnóstico seguro, ya que se necesitan largos períodos para que se desarrollen. Las variaciones de temperatura afectan la expresión, y los daños pueden confundirse con los causados por CMV por aquellas personas que no estén familiarizados con la infección [Lockhart y Olszewski, 1993]. El virus además no se transmite mecánicamente [Lockhart, 1986], y solo se conoce a la caña de azúcar como hospedante alternativo [Lockhart y Autrey, 1988].

2. Microscopía electrónica

La microscopía electrónica en inmunosoportes (ISEM) es una metodología que requiere de un personal altamente calificado y un equipamiento sofisticado [Lockhart y Olszewski, 1993]. No puede además diferenciar los diversos aislados del virus [Agindotan *et al.*, 2006]. Las condiciones ambientales a las que crecen las plantas afectan la concentración viral [Dahal *et al.*, 1998a], y esto puede hacer cuestionable la detección del virus por microscopía electrónica en la savia infectada.

3. ELISA

El ELISA es una técnica serológica que se utiliza rutinariamente para detectar virus en plantas; sin embargo, en sus variantes ELISA-DAS o en ELISA-TAS, un anticuerpo específico que funcione bien con un determinado aislado del virus puede fallar en la detección de virus heterólogos o distantemente relacionados. Debido a la amplia variabilidad serológica del BSV, su detección se hace muy difícil [Lockhart y Olszewski, 1993]. Una solución que resuelve parcialmente este problema es el uso de mezclas de aislados del virus o cepas para desarrollar anticuerpos policlonales [Hu *et al.*, 1991]; pero debido a que no se cuenta con una colección mundial de plátanos y bananos, la total diversidad serológica de BSV es desconocida. Para ampliar el espectro de las variantes de BSV detectadas serológicamente, Ndowora y Lockhart (2000) utilizaron a *Sugarcane bacilliform virus* (SCBV), que está cercanamente relacionado con el BSV para lograr la más amplia diversidad de antígenos representativos y obtener una mezcla de anticuerpos (PMX2RC) que reacciona con diferentes aislados de BSV; sin embargo, es probable que otros aislados desconocidos no puedan ser detectados, por lo que existe una necesidad creciente de nuevos métodos de diagnóstico que sean menos dependientes de las características serotípicas del virus [Agindotan *et al.*, 2006].

4. Reacción en cadena de la polimerasa PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ha utilizado en numerosos estudios para la detección rápida, sensible y confiable de BSV [Lockhart y Olszewski, 1993]. Cuando se realiza a partir del ADN total de *Musa* no puede discriminar la forma episomal del virus de sus secuencias integradas al genoma nuclear de *Musa*. En 1998 Harper *et al.* propusieron un procedimiento que combina la captura inmunológica de partículas de BSV con anticuerpos preparados contra una gran diversidad de aislados y la amplificación de fragmentos de ADN mediante PCR [Ndowora y Lockhart, 2000]. Este método se aplica actualmente en el muestreo y la vigilancia epidemiológica del germoplasma de bananos, producido a partir de materiales cuarentenados y para evaluar la total extensión de la infección por BSV [Harper *et al.*, 1998].

Importancia económica de la enfermedad

Actualmente la enfermedad del rayado del plátano se encuentra ampliamente distribuida en Asia, Australia, muchos países de África y América. En Uganda se reportó un serio brote de BSV en 1996 [Tushmireirwe *et al.*, 1996]. En Costa de Marfil se han estimado pérdidas entre el 7-90% en los cultivos de bananos y plátanos, y se han atribuido a la enfermedad del rayado del plátano [Harper *et al.*, 2005; Daniells *et al.*, 2001].

En regiones de Costa Rica y Ecuador, el BSV ha causado síntomas severos en frutos de Cavendish, Valery y Robusta, que los hace no aptos para su comercialización. Ha provocado además distorsión en el pseudotallo, y por consiguiente un aumento de la susceptibilidad a infecciones bacterianas que pueden eventualmente provocar la muerte de la planta [Lockhart y Jones, 1999b].

Las pérdidas económicas en algunas variedades es actualmente muy difícil de determinar, pues muchos clones parecen estar universalmente afectados. Este es el caso de la variedad Mysore (AAB), en la que el rayado clorótico y necrótico de las hojas expresado uniformemente en todas las plantas se atribuyó inicialmente a un desorden genético [Geering *et al.*, 2005].

El BSV se ha convertido en un serio obstáculo en el movimiento de germoplasma de *Musa*, así como en los programas de mejoramiento [Dieckmann y Putter, 1996]. Muchos híbridos resistentes a la sigatoka negra y a enfermedades producidas por nemátodos no se han podido incorporar a la producción porque frecuentemente están infectados por este virus [Dallot *et al.*, 2001].

Geering *et al.*, 2001]. Esta virosis, además, ha sido causa del fortalecimiento de las restricciones cuarentenarias para la diseminación de variedades, lo que ha producido grandes pérdidas económicas, sobre todo en países y organizaciones involucradas en el comercio y producción de vitroplantas de plátano y banano [Lockhart y Jones, 1999b].

En Cuba, hasta la fecha el BSV está considerado un organismo cuarentenado; sin embargo, a partir del conocimiento de su presencia en la variedad Mysore [Jones y Lockhart, 1993] en los híbridos FHIA [Font *et al.*, 1998], se hace necesario mantener una estricta vigilancia epidemiológica de los cultivos de plátano y banano, y la realización de estudios de diagnóstico y distribución de la enfermedad, principalmente en híbridos FHIA, por ser estos de gran potencial agrícola y de gran aceptación tanto de los productores como de los consumidores.

REFERENCIAS

- Agindotan, B.; S. Winter; D. Lesemann; A. Uwaifo; J. Mignouna; J. Hughes; G. Thottappilly: «Diversity of *Banana Streak Virus* in Nigeria and Ghana: Twice as Many Sources Detected by Immunoelectron Microscopy (IEM) Than Detected by TAS-ELISA or IC-PCR», *African Journal of Biotechnology* 5 (12):1194-1203, Kenya, 2006.
- Bateson, M.F.; J. L. Dale: «*Banana Bract Mosaic Virus*: Characterization Using Potyvirus Specific Degenerate PCR Primers», *Arch. Virol* 140:5151-527, Austria, 1995.
- Bouhida, M.; B. E. L. Lockhart; N. E. Olszewski: «An Analysis of the Complete Nucleotide Sequence of a Sugarcane Bacilliform Virus Genome Infectious to Banana and Rice», *J. Gen. Virol.* 74:15-22, Inglaterra, 1993.
- Carauna, M. L.; Z. Galzi: «Identification of Uncharacterised Filamentous Viral Particles on Banana Plants», *Acta Horticulturae* 490:323-335, Holanda, 1998.
- Carreel, F.; D. González de León; P. Lagoda; C. Lanaud; C. Jenny; J. P. Horry; H. Tezenas du Montcel: «Ascertaining Maternal and Paternal Lineage Within *Musa* Chloroplast and Mitochondrial DNA RFLP Analyses», *Genome* 45:679-692, Canadá, 2002.
- Cheng, G.; H. M. Rothnie; X. He; T. Hohn; J. Futterer: «Efficient Transcription from *Rice tungro Bacilliform Virus* Promoters Requires Elements Downstream of the Transcription Start Site», *J. Virol* 70:8411-8421, Estados Unidos, 1996.
- Dahal, G.; J. Hughes; G. Thottappilly; B. E. L. Lockhart: «Effect of Temperature on Symptom Expression and Reliability of Banana Streak Badnavirus Detection in Naturally Infected Plantain Banana (*Musa spp.*)», *Plant Disease* 82 (1):16-21, Estados Unidos, 1998a.
- Dallot, S.; P. Acuña; C. Rivera; P. Ramírez; F. Cote; B. E. L. Lockhart; M. L. Caruana: «Evidence That the Proliferation Stage of Micropropagation Procedure Is Determinant in the Expression of Banana Streak Virus Integrated into the Genome of the FHIA 21 Hybrid (*Musa AAAB*)», *Arch. Virol.* 146:2179-2190, Austria, 2001.
- Daniells, J.; J. E. Thomas; M. Smith: «Seed Transmission of Banana Streak Virus Confirmed», *Infomusa* 4 (1):7, Francia, 1995.
- Daniells, J. W.; A. D. W. Geering; N. J. Bryde; J. E. Thomas: «The Effect of Banana Streak Virus on the Growth and Yield of Dessert Bananas in Tropical Australia», *Ann. Appl. Biol.* 139:51-60, Inglaterra, 2001.
- Diekmann, M.; C. A. Putter: *Technical Guidelines for the Safe Movement of Germplasm*, no. 15 *Musa*, FAO/IPGRI, 1-26, Roma, 1996.
- Font, C.; I. Curbelo; J. Fernández; S. Váldes; D. Pereira: «Detección de partículas baciliformes en híbridos de plátano (*Musa spp.*) FHIA-21 en Cuba», *Fitosanidad* 2 (1 y 2):3-5, Cuba, 1998.
- Futterer, J.; K. Gordon; J. M. Bonneville; H. Sanfacon; B. Pisan; J. Penswick; T. Hohn: «The Leading Sequence of Caulimovirus Large RNA Can Be Folded Into Large Stem-Loop Structure», *Nucleic Acids Research* 16:8377-8390, Inglaterra, 1988.
- Geering, A. D. W.; L. A. McMichael; R. G. Dietzgen; J. E. Thomas: «Genetic Diversity Among *Banana Streak Virus* Isolates from Australia», *Virology* 90 (8):921-927, Estados Unidos, 2000.
- Geering, A. D. W.; N. E. Olszewski; G. Dahal; J. E. Thomas; B. E. L. Lockhart: «Analysis of the Distribution and Structure of Integrated *Banana Streak Virus* DNA in a Range of *Musa* Cultivars», *Molecular Plant Pathology* 2 (4):207-213, Inglaterra, 2001.
- Geering, A. D. W.; N. E. Olszewski; G. Harper; B. E. L. Lockhart; R. Hull; J. Thomas: «Banana Contains a Diverse Array of Endogenous Badnaviruses», *J. Gen. Virol* 86:511-520, Inglaterra, 2005.
- González, G.; C. Font, E. Miranda: «*Planococcus minor* (Markell), vector del virus del estriado del plátano BSV», *Fitosanidad* 6 (2):47-48, Cuba, 2002.
- Harper, G.; G. Dahal; G. Thottappilly; R. Hull: «Detection of Episomal Banana Streak Badnavirus by IC-PCR», *Journal of Virological Methods*, 79:1-8, Holanda, 1998.
- Harper, G.; R. Hull: «Cloning and Sequence Analysis of *Banana Streak Virus* DNA», *Virus Genes* 17 (3):271-278, Estados Unidos, 1998.
- Harper, G.; J. O. Osuji; J. S. Heslop-Harrison; R. Hull: «Integration of Banana Streak Badnavirus into the *Musa* Genome: Molecular and Cytogenetic Evidence», *Virology* 255:207-213, Estados Unidos, 1999.
- Harper, G.; D. Hart; S. Mull; R. Hull: «Detection of *Banana Streak Virus* in Field Samples of Bananas from Uganda», *Ann. Appl. Biol.* 141:247-257, Inglaterra, 2002.
- Harper, G.; D. Hart; S. Mout; R. Hull; A. Geering; J. Thomas: «The Diversity of *Banana Streak Virus* in Uganda», *Arch. Virol* 150 (12):2407-2420, Austria, 2005.
- Hay, J. M.; M. C. Jones; M. L. Blakebrogh; I. Dasgupta; J. W. Davies; R. Hull: «An Analysis of the Sequence of an Infectious Clone of *Rice Tungro Bacilliform Virus*, a Plant Pararetrovirus», *Nucleic Acids Research* 19:2615-2621, Inglaterra, 1991.
- Hu, J. S.; D. Gonsalves; M. Maixner; D. Golino: «Comparison of Rapid Detection Assays for Grapevine Leaf Roll Disease Associated Closteroviruses», *Vitis* 30:87-95, Alemania, 1991.
- Hughes, J.: «Banana Streak badnavirus Research at International Institute of Tropical Agriculture», Proceedings of a workshop of the PROMUSA Virology working group held in Montpellier, January 19-21, Francia, 1998, pp. 28-33.
- Hughes, J. F.; J. M. Coffin: «Evidence for Genomic Rearrangements Mediated by Human Endogenous Retroviruses During Primate Evolution», *Nat. Genet.* 29:487-489, Estados Unidos, 2001.
- Hull, R.; G. Harper: «*Banana Streak Virus* Studies at the John Innes Centre», Proceedings of a workshop of the PROMUSA Virology working group held in Montpellier, January 19-21, Francia, 1998, 48-51.
- Hull, R.; G. Harper; B. Lockhart: «Viral Sequences Integrated Into Plant Genomes», *Trends in Plant Science*, 5:362-365, Inglaterra, 2000.
- Hull, R.: *Mathew's Plant Virology*, Academic Press, San Diego, Estados Unidos, 2002.
- Jacquot, E.; L. S. Hagen; M. Jacquemond; P. Yot: «The Open Reading Frame 2 Product of *Cacao Swollen Shoot Badnavirus* Is a Nucleic Acid-Binding Protein», *Virology* 225:191-195, Estados Unidos, 1996.

- Jacquot, E.; M. Keller, P. Yot: «A Short Basic Domain Supports a Nucleic Acid-Binding Activity in the *Rice Tungro Bacilliform Virus* Open Reading Frame 2 Product», *Virology* 239:352-359, Estados Unidos, 1997.
- Jones, D. R.; B. E. L. Lockhart: *Banana Streak Disease Musa Diseases*, Fact Sheet no. 1, INIBAP, Montpellier, Francia, 1993.
- Lassoudiere A.: «La Mosaïque dite à tirets du bananier Poyo en Côte d'Ivoire», *Fruits* 29:349-357, Francia, 1974.
- Le Provost, G.; M. Iskra-Caruana; I. Acina; P. Teycheney: «Improved Detection of Episomal *Banana Streak Viruses* by Multiplex Immunocapture PCR», *Journal of Virological Methods* 137:7-13, Holanda, 2006.
- Lockhart, B. E. L.: «Purification and Serology of a Bacilliform Virus Associated with Streak Disease of Banana», *Phytopathology* 76:995-999, Estados Unidos, 1986.
- Lockhart, B. E. L.; L. J. C. Autrey: «Occurrence in *Sugarcane* of *Bacilliform Virus* Related Serologically to *Banana Streak Virus*», *Plant. Dis.* 72:230-233, Estados Unidos, 1988.
- Lockhart, B. E. L.; N. E. Olszewski: *Serological and Genome Heterogeneity of Banana Streak Badnavirus: Implications for Detection in Musa germoplasm*, Breeding banana and plantain for resistance to disease and pest, CIRAD/INIBAP, Montpellier, Francia, 1993, pp. 105-113.
- : *Badnavirus Group. Encyclopedia of Virology*, vol. I, Academic Press, Nueva York, 1994, pp. 139-143.
- Lockhart, B. E. L.: «*Banana Streak Badnavirus Infection in Musa: Epidemiology, Diagnosis and Control*», Food and Fertilizer Technologies Centre, Technical Bulletin 143. Ed: Food and Fertilizer Technologies Center, Taiwán, 1995, p.11.
- Lockhart, B. E. L.; D. R. Jones: *Banana Mosaic. Diseases of Banana, Abaca and Ensete*, CABI Publishing, Wallingford, Inglaterra, 1999b, pp. 256-274.
- Lockhart, B. E.; J. Menke; G. Dahal; N. E. Olszewski: «Characterization and Genomic Analysis of Tobacco Vein Clearing Virus, a Plant Pararetrovirus That Is Transmitted Vertically and Related to Sequences Integrated in the Host Genome», *J. Gen. Virol.* 81:1579-1585, Inglaterra, 2000.
- Matilde-Ferrero, D.; D. J. Williams: «Recent Outbreaks of Mealybugs on Plantain (*Musa* spp.) in Nigeria Including a New Record for Africa and a Description of a New Species of *Planococcus Ferris* (Homoptera, Pseudococcidae)», *Bulletin de la Société Entomologique de France* 100:445-449, 1995.
- Matzke, M.; W. Gregor; M. F. Mette; W. Aufsatz; T. Kanno; J. Jakowitsch; A. J. M. Matzke: «Endogenous Pararetroviruses of Allotetraploid *Nicotiana tabacum* and Its Diploid Progenitors, *N. sylvestris* and *N. tomentosiformis*», *Biol. J. linn. Soc.* 82:627-638, Inglaterra, 2004.
- Medberry, S. L.; B. E. L. Lockhart; N. E. Olszewski: «Properties of *Commelina Yellow Mottle Virus*'s Complete DNA Sequence, Genomic Discontinuities and Transcript Suggest that Is a Pararetrovirus», *Nucl Acid Res* 18:5505-5513, Inglaterra, 1990.
- Miranda, E.: «Incidencia, sintomatología y diagnóstico del virus del estriado del plátano (BSV) en Cuba». Tesis en opción al grado de Máster en Bioquímica de las Proteínas, Universidad de La Habana, 2003.
- Ndowora, T. C.; G. Dahal; D. Lafleur; G. Harper; R. Hull; N. E. Olszewski; B. E. L. Lockhart: «Evidence that Badnavirus Infection in *Musa* Can Originate from Integrated Pararetroviral Sequences», *Virology* 255:214-220, Estados Unidos, 1999.
- Ndowora, T.; B. E. L. Lockhart: «Development of Serological Assay Detecting Serologically Diverse *Banana Streak Virus* isolates», Proceedings of the First International Conference on Banana and Plantain for Africa, *Acta Horticult.* 540:377-388, Holanda, 2000.
- Phillips, R. L.; S. M. Kaepler; P. Olhoft: «Genetic Instability of Plant Tissue Cultures: Breakdown of Normal Controls», *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91:5222-5226, Estados Unidos, 1994.
- Pooggin, M.; J. Futterer; K. G. Skyrabin; T. Hohn: «A Short Open Reading Frame Terminating in Front of a Stable Hairpin Is the Conserved Feature in Pregenomic RNA Leaders of Plant Pararetroviruses», *J Gen Virol* 80:2217-2228, Inglaterra, 1999.
- Richert-Poggeler, K. R.; R. J. Sheperd; R. Casper: «Petunia Vein Clearing Virus, a Pararetrovirus that Also Exists As a Retroelement in the Chromosome of Its Host», Abstract of the IX International Congress of Virology, August 11-16, Jerusalem, Israel, 1996, p. 16.
- Rothnie, H. M.; Y. Chapdelaine; T. Hohn: «Pararetroviruses and Retroviruses: a Comparative Review of Viral Structure and Gene Expression Strategies», *Adv Virus Res* 44:1-67, Estados Unidos, 1994.
- Schoelz, J. E.; W. M. Wintermantel: «Expansion of Viral Host-Range Through Complementation and Recombination in Transgenic Plants», *Plant Cell* 5:669-679, Estados Unidos, 1993.
- Stavolone, L.; E. Herzog; D. Leclerc; T. Hohn: «Tetramerization is a Conserved Feature of the Virion-Associated Protein in Plant Pararetroviruses», *J. Virol* 75: 7739-7743, Estados Unidos, 2001.
- Stover, R. H.: *Banana, Plantain and Abaca Diseases*, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, Inglaterra, 1972.
- Teycheney, P. Y.; A. Marais; L. Svanella-Dumas; M. J. Dulucq; T. Candresse: «Molecular Characterization of Banana Virus X (BVX), a Novel Member of the *Flexiviridae* family», *Arch Virol*, 150:1715-1727, Austria, 2005.
- Teycheney, P. Y.; I. Acina; B. Lockhart; T. Candresse: «Detection of *Banana Mild Mosaic Virus* and *Banana Virus X* by Polyvalent Degenerate Oligonucleotide RT-PCR (PDO-RT-PCR)», *Journal of Virological Methods* 142:41-492, Holanda, 2007.
- Tezenas du Montcel, H.: *The Core Programs of INIBAP. En bananas Diseases in Asia and the Pacific*, INIBAP, Francia, 1991, pp. 158-162.
- Thomas, J. E.; R. G. Dietzgen: «Purification, Characterization and Serological Detection of Virus-Like Particles Associated with Banana Bunchy Top Disease in Australia», *Journal of General Virology* 72:217-224, Inglaterra, 1991.
- Thomas, J. E.; A. D. W. Geering; C. F. Gambley; A. F. Kessling; M. White: «Purification Properties and Diagnosis of *Banana Bract Mosaic Potyvirus* and its Distinction from *Abaca Mosaic Potyvirus*», *Phytopathology* 83:698-705, Estados Unidos, 1997.
- Thomas, J. E.; L. V. Magnaye: *Abaca Mosaic. Diseases of Banana, Abaca and Ensete*, Cabi. Publishing, Wallingford, Nueva York, Estados Unidos, 1999, pp. 279-283.
- Tushmireirwe, W. K.; E. B. Karamura; R. Karyeije: «*Banana Streak Virus* and Unidentified Filamentous Virus Disease Complex of Highland Bananas in Uganda», *Infomusa* 5:9-12, Francia, 1996.
- White, S. E.; L. F. Habera; S. R. Wessler: «Retrotransposons in The Flanking Regions of Normal Plant Genes: a Role for Copia-Like Elements in the Evolution of the Gene Structure and Expression», *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91:11792-11796, Estados Unidos, 1994.