

FITOPLASMAS Y VIRUS DE LA HOJA AMARILLA EN EL GERMOPLASMA Y COLECCIONES DE CAÑA DE AZÚCAR EN LA REGIÓN CENTRAL DE CUBA

Osmany de la C. Aday Díaz,¹ Antonio China Martínez,² José María Mesa,² María La O Hechavarría,³ María de los Ángeles Zardón Navarro,³ Félix R. Díaz Mujica,¹ Héctor Jorge Suárez,³ Irenaldo Delgado Mora,¹ Luis Felipe Machado Toledo,¹ Susana Reyes Pérez,¹ Javier Barroso Medina¹ y Ailyn Gallardo Martínez¹

¹ Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar Villa Clara-Cienfuegos. Autopista Nacional Km 246, Ranchuelo, Villa Clara, Cuba, C. P. 53100, epica@vcl.cu

² Estación Provincial de Investigaciones de la Caña de Azúcar de Matanzas. Jovellanos, Matanzas, Cuba, C. P. 42600, epica@atenas.inf.cu

³ Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar. Carretera al central Martínez Prieto Km 2½, Boyeros, C. P. 19390, La Habana, mesa@inica.minaz.cu; lao@inica.minaz.cu

RESUMEN

Se realizó un estudio con el objetivo de determinar la presencia de síntomas característicos del fitoplasma del amarillamiento de la hoja (SCYP) y del virus de la hoja amarilla (SCYLV), así como detectar la presencia de estos patógenos en el germoplasma y variedades comerciales en la región central de Cuba. En Villa Clara, SCYP fue detectado en el 76,7 % de las muestras procesadas. La existencia de síntomas similares a los descritos para SCYP y SCYLV se identificaron en colecciones de trabajo y de hibridación en la provincia de Sancti Spiritus, con una incidencia de los síntomas en el 83,0 % de los genotipos evaluados. Las mayores fuentes de resistencia podrían estar en las formas originales de *S. spontaneum* y de *S. sinense*, en los híbridos de *S. sinense*, de *S. spontaneum* y de *S. officinarum* x *S. spontaneum*, así como también de un reducido número de híbridos comerciales de interés y utilidad para el mejoramiento genético. Los resultados permitieron identificar 172 genotipos que no han presentado síntomas de estas enfermedades. En muestras de plantas con síntomas característicos de SCYLV y SCYP en la colección de germoplasma, solo el 21,05 % resultó positivo a SCYLV, hecho que podría atribuirse a la presencia del fitoplasma SCYP.

Palabras claves: virosis, fitoplasmas, caña de azúcar, germoplasma

ABSTRACT

A study to determine the presence of characteristic symptoms of sugar cane leaf yellows phytoplasma (SCYP) and sugar cane yellow leaf virus (SCYLV), as well as to detect the presence of these pathogens in germplasm and commercial varieties was carried out in the central region of Cuba. In Villa Clara, SCYP was detected in 76.7 % of the processed samples. Symptoms similar to those described for SCYP and SCYLV were identified in hybrids and work collections in Sancti Spiritus province, with 83.0 % of symptoms incidence of evaluated genotypes. The best resistance sources seem to be in original stocks of *S. spontaneum* and of *S. sinense*, in hybrids of *S. sinense*, *S. spontaneum* and *S. officinarum* x *S. spontaneum*, as well as in a reduced number of commercial hybrids. These types may be useful for the genetic breeding programs. In germplasm 172 symptom less genotypes were identified. However, in these symptomatic samples only 21.05 % was confirmed positive to SCYLV, fact that could be attributed to the presence of phytoplasma SCYP.

Key words: viroses, phytoplasmas, sugar cane, germplasm

INTRODUCCIÓN

El síndrome de la hoja amarilla de la caña de azúcar (SCYLS) fue informado por primera vez en Hawaii en 1989 [Schenck, 1990; Schenck y Hu, 1991] y en Brasil en 1990 [Vega *et al.*, 1997]. Desde entonces se ha informado a numerosos países productores de caña de azú-

car de todos los continentes [Garcés *et al.*, 2005]. En la Reunión Internacional de Germoplasma de Caña de Azúcar e Intercambio, celebrada en Brisbane en junio de 1995, se concluyó que el SCYLS es uno de los peligros potenciales más serios que enfrenta el cultivo de la

caña de azúcar en el ámbito internacional [Bailey *et al.*, 1996]. Dos patógenos se asocian a este síndrome: un virus y un fitoplasma. Los síntomas que causan ambos patógenos son idénticos [Smith *et al.*, 2001]. Para diferenciar la enfermedad causada por virus de la del fitoplasma, el Comité para los Nombres Comunes de Enfermedades de las Plantas de la Sociedad Internacional de Patólogos de Plantas (ISPP) sugirió nombrar *la hoja amarilla* a la ocasionada por el virus SCYLV, y *amarillamiento de la hoja* a la causada por el fitoplasma SCYP, sugerencia que fue aceptada por el Comité de Patología de la Sociedad Internacional de Tecnólogos de la Caña de Azúcar (ISSCT) en su VII Taller, sostenido en Baton Rouge, Louisiana, en 2003 [Rott *et al.*, 2005].

El virus parece estar más extendido en el mundo que el fitoplasma [Smith *et al.*, 2001]. La enfermedad causada por el virus SCYLV (*Sugar cane yellows leaf virus*) [Rott *et al.*, 2005] se encuentra distribuida en numerosos países cañeros, entre ellos Estados Unidos [Scagliusi y Lockhart, 2000], Brasil [Maia *et al.*, 2000], Mauricio [Parmessur *et al.*, 2002], India [Viswanathan, 2000], Colombia [Ángel *et al.*, 2002], Venezuela [Izaguirre-Mayoral *et al.*, 2002], Guatemala y Argentina [Moonan y Mirkov, 2002]. La enfermedad causada por el fitoplasma SCYP (*Sugar cane leaf yellows phytoplasma*) [Rott *et al.*, 2005] está informada en varios países como Sudáfrica [Cronjé *et al.*, 1998], Cuba [Arocha *et al.*, 1999; Arocha, 2000], Mauricio [Aljanabi *et al.*, 2001]; Australia [Tran-Nguyen *et al.*, 2000], India [Gaur *et al.*, 2008] y Brasil [Silva *et al.*, 2008]. El estrés acentúa el efecto de ambas enfermedades [Izaguirre-Mayoral *et al.*, 2002]. Se transmiten por los esquejes de semilla infectados y por insectos vectores. Por otro lado, no pueden eliminarse mediante tratamiento en agua caliente. La obtención de plantas sanas es solo posible por medio del cultivo de tejidos, aunque después de un período de dos años la incidencia puede estar en un rango desde el 20 hasta el 86 %, debido a la presencia de insectos vectores [Comstock y Miller, 2004; Abu Ahmad *et al.*, 2006a; Rott *et al.*, 2008].

En las pesquisas realizadas en Cuba, solo un pequeño porcentaje de cañas afectadas por el síndrome han presentado el virus (SCYLV), mientras que en la mayoría se detectó el fitoplasma [Arocha *et al.*, 1999; Peralta, *et al.*, 1999; Arocha, 2000; Arocha *et al.*, 2000; Arocha *et al.*, 2004; Arocha *et al.*, 2005a; Arocha *et al.*, 2006].

En 1999 el SCYLV se encontró distribuida en todas las provincias de Cuba, asociado principalmente a

fitoplasmas del grupo del Amarillamiento del Áster (16Sr-I). Solo un pequeño porcentaje de las cañas evaluadas presentó el virus [Arocha *et al.*, 1999; Arocha, 2000; Arocha *et al.*, 2000]. Los resultados de Arocha *et al.* (2006) revelaron la existencia de una amplia biodiversidad relacionada con los fitoplasmas asociados al SCYP, presentes en el país a partir de que se identificaron los grupos 16SrI, 16SrIII (Enfermedad X) y un posible nuevo subgrupo 16SrI. Por otro lado, los resultados de estos autores indicaron que el principal grupo fitoplásmico circulante en Cuba pertenece a un nuevo subgrupo denominado Fitoplasma Cubano del Amarillamiento Foliar, CScYLP.

En Cuba el germoplasma de la caña de azúcar está constituido por las diferentes especies de *Saccharum* e híbridos mejorados por el hombre, con distinta procedencia genética y geográfica, así como por los géneros relacionados y que pueden cruzarse con la caña de azúcar. Esta colección es imprescindible para el mejoramiento del cultivo o investigaciones relacionadas. La base genética de los cultivares explotados comercialmente en Cuba entre 1965 y 2008 está compuesta por 116 ancestros, de ellos 19 son formas originales, 73 formas híbridas y 24 formas de origen desconocido [Puchades *et al.*, 2009]. El presente estudio persiguió como objetivo determinar la presencia de síntomas característicos del fitoplasma del amarillamiento de la hoja (SCYP) y del virus de la hoja amarilla (SCYLV), así como detectar la presencia de estos patógenos en el germoplasma y variedades comerciales en la región central de Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las investigaciones se desarrollaron durante el período 2007-2009 en la colección de germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA) ubicado en la Estación Provincial de Investigaciones de la Caña de Azúcar en la provincia de Matanzas, en las colecciones de trabajo y de hibridación en Centro Nacional de Hibridación de la Caña de Azúcar en la provincia de Sancti Spíritus, así como en los Bloques Experimentales de la Estación de Matanzas y de Villa Clara.

La estación de la provincia de Matanzas se encuentra ubicada entre los 22°47'05" de latitud norte y 81°11'07" de longitud oeste, y altitud de 25 msnm, en un suelo clasificado como ferralítico rojo típico, una precipitación media anual de 1538 mm y temperatura media de 24,1 °C.

La estación de la provincia de Villa Clara se encuentra ubicada entre los 22°24'23" de latitud norte y 80°10'27" de longitud oeste, y altitud de 78,5 msnm. Los suelos se corresponden con pardo con carbonatos (pardo sialítico carbonatado), con una precipitación media anual de 1381 mm y temperatura media de 24,3 °C.

En Centro Nacional de Hibridación en Sancti Spíritus se encuentra ubicado entre los 22° 03' de latitud norte y los 79°26'52" de longitud oeste, y altitud de 120 msnm, en un suelo pardo sin carbonato (pardo sialítico sin carbonatos), precipitación media anual de 1564,68 mm y temperatura media de 23,5 °C.

Evaluación por el método de diagnóstico de campo

La incidencia de SCYP y SCYLV se evaluó en 30 variedades comerciales en el Bloque Experimental de Villa Clara, en la colección del germoplasma en Matanzas en 172 genotipos en 2007, y en 114 genotipos en 2009; también fueron evaluados 1365 genotipos en las colecciones de trabajo y de hibridación en Sancti Spíritus. En Villa Clara cada variedad se plantó en parcelas de 38,4 m² con una población lograda de 240 a 280 tallos; en Matanzas cada genotipo ocupó un área de 3 m lineales con una población de 27 a 45 tallos; en Sancti Spíritus los diferentes genotipos se plantaron en parcelas de 24 m² con una población de 135 a 180 tallos. En todos los casos el número de tallos de la población a evaluar dependió de las características de cada genotipo. La incidencia se determinó con el empleo del método de diagnóstico de campo propuesto por Arocha *et al.* (2004), el cual permite confirmar de manera rápida la presencia de la enfermedad, en el caso de plantas con síntomas y con valores de brix de la nervadura central de la hoja iguales o mayores de ocho. Se consideró además la escala de cuatro grados de China (2000) modificada por China *et al.* (2008). La lectura del brix refractométrico se realizó con un refractómetro de mano, en cinco plantas al azar por cada genotipo evaluado.

Evaluación por el sistema molecular nPCR/HaeIII

En Villa Clara se evaluaron 30 variedades comerciales. De cada una se seleccionaron dos tallos con síntomas de la enfermedad. De cada tallo seleccionado fueron separadas y colectadas la primera, segunda y tercera hoja con cuello visible (+1, +2 y +3). De cada muestra de hoja se tomaron 200 mg de la lámina de la hoja, se maceraron en nitrógeno líquido y se procedió a extraer el ADN por medio del juego RNeasy® Plant Mini Kit. Posteriormente se realizó la reacción en cadena de la

polimerasa anidada (nPCR) y la digestión enzimática con la enzima de restricción HaeIII, según indicaciones de Cronjé *et al.* (1998). El ADN total de 180 muestras foliares colectadas de las 30 variedades fue analizado mediante nPCR con iniciadores genéricos que amplifican la región del ARN ribosomal 16S de fitoplasmas, así como análisis de restricción con la enzima HaeIII. Como controles positivos y negativos se tomaron plantas de *Catharantus roseus* (L.) sanas e infectadas por fitoplasma.

Evaluación por impresión en membranas de nitrocelulosa (TBIA)

Se seleccionaron al azar y evaluaron 114 genotipos en la colección del germoplasma en Matanzas. De cada una se seleccionó un tallo con o sin síntomas de la enfermedad (según la observación visual). De cada tallo seleccionado fue separada y colectada la segunda hoja con cuello visible (+2), y de ella se separó el raquis de la lámina de la hoja (nervadura central de la hoja). Se realizó un corte transversal en el primer tercio basal del raquis de cada hoja con una cuchilla afilada, y de inmediato esta sección cortada del raquis se apretó firmemente en una membrana de nitrocelulosa hasta dejar una impresión clara de la hoja en la membrana. Posteriormente, para el revelado serológico, se agregó a la membrana un anticuerpo específico desarrollado por B. E. Lockhart, Universidad de Minnesota (Minneapolis), según Schenck *et al.* (1997), solo que el Fast Blue (azul rápido) se usó como el sustrato de la enzima [Comstock *et al.*, 1998]. A través de un estereoscopio se examinaron las impresiones de la hoja. Una muestra fue positiva a la presencia del SCYLV, cuando la impresión de los vasos del floema del raquis de la hoja se manchó de azul. Como controles positivos y negativos se tomaron plantas de la variedad Q124, sanas e infectadas por el virus.

Evaluación por el sistema molecular RT-PCR

Para la identificación del virus SCYLV se utilizó la transcripción reversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-RCP). Se partió de 200 mg de tejido de la lámina de la hoja de caña de azúcar, macerados en nitrógeno líquido, procedentes de los genotipos Q124, My645, Laica 96, CSG403-92 y C91-81. El ARN total se extrajo por medio del paquete RNeasy® Plant Mini Kit. Se sintetizó el ADNc a partir del ARN total, para lo que se utilizó el kit RT Promega, según recomendaciones del fabricante. Se realizó la RT-PCR a partir de ADNc, según Girad *et al.* (2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de la presencia de SCYP en variedades comerciales

De las 30 variedades comerciales evaluadas en Villa Clara en marzo de 2007 con el objetivo de determinar la presencia del fitoplasma del amarillamiento de la hoja, solo la variedad C86-503 no presentó ningún síntoma de enfermedad, ni tampoco en ella fue identificado

SCYP. En todas las demás variedades se detectó a SCYP, y fueron positivos al diagnóstico el 95 % de los tallos evaluados y el 76,7 % de las muestras procesadas (*Tabla 1*). Estos resultados demuestran que las principales variedades comerciales cultivadas en Cuba pueden ser infectadas por SCYP. Ello debe considerarse de acuerdo con la biodiversidad y distribución de los fitoplasmas asociados a esta enfermedad en el país, informados por Arocha *et al.* (2006).

Tabla 1. Diagnóstico de laboratorio de SCYP en las muestras de variedades comerciales por nPCR (Villa Clara, 2007)

Variedad	Brix de la hoja		Presencia de SCYP		Estado final
	Planta 1	Planta 2	Planta 1	Planta 2	
C90-501	10,6	13,0	+	+	Infectada
C1051-73	12,8	9,6	+	+	Infectada
C85-102	12,0	12,6	+	+	Infectada
C132-81	11,4	10,0	+	+	Infectada
C86-12	9,6	9,6	+	+	Infectada
C323-68	8,6	4,6	+	+	Infectada
C91-115	18,4	12,0	+	+	Infectada
C89-161	10,2	8,6	+	+	Infectada
C90-316	12,6	10,8	+	+	Infectada
C137-81	7,0	7,2	-	+	Infectada
SP70-1284	9,6	7,4	+	+	Infectada
Co997	11,6	11,4	+	+	Infectada
C90-350	17,0	16,2	-	+	Infectada
C86-165	15,4	16,6	+	+	Infectada
C120-78	8,8	14,6	+	+	Infectada
C87-51	14,2	10,8	+	+	Infectada
C90-250	9,6	10,6	+	+	Infectada
C90-317	14,2	8,8	+	+	Infectada
C86-56	11,4	10,4	+	+	Infectada
My55-14	8,0	7,8	+	+	Infectada
C89-147	9,0	9,2	+	+	Infectada
C86-156	16,0	15,6	+	+	Infectada
C89-148	7,0	9,0	+	+	Infectada
C86-456	6,0	11,8	+	+	Infectada
C90-105	13,0	14,8	+	+	Infectada
C86-503	6,6	5,6	-	-	No infectada
C88-380	10,0	10,2	+	+	Infectada
C89-176	14,4	15,0	+	+	Infectada
CP5243	9,0	14,0	-	+	Infectada
C87-252	11,8	11,0	+	-	Infectada

+: Presencia de enfermedad

-: Ausencia de enfermedad

Los resultados de este trabajo confirman una vez más la presencia del fitoplasma SCYP en variedades comerciales cultivadas en Cuba. Ello ya estaba informado por varios autores. Fontaniella *et al.* (2003) identificaron la presencia de SCYP en muestras de C120-78, y determinaron su afectación en la composición de los jugos. Arocha *et al.* (2005a) detectaron la presencia del fitoplasma SCYP en muestras colectadas en diferentes provincias de Cuba, en las variedades C87-51, C227-59, C323-68, C266-70, C1051-73, C140-81, C86-12, C86-456, C90-530 My5514, B63118, Co997 y CP52-43. A su vez confirmaron que SCYP está ampliamente distribuido en todo el país, y además refieren la alta capacidad de adaptación de este fitoplasma a los diversos ecosistemas. Los resultados del presente artículo también demuestra que existe un número importante de variedades comerciales no informadas anteriormente infectadas por SCYP.

Evaluación de las colecciones de trabajo y de hibridación

En las evaluaciones realizadas en febrero de 2007, en las colecciones de trabajo y de hibridación en la provincia Sancti Spiritus fue identificada la existencia de síntomas similares a los descritos para SCYLV y SCYP en el 83,0 % de los genotipos evaluados (*Tabla 2*). Se observaron coloraciones amarillas en el raquis de las hojas, que en ciertos genotipos se extiende a la lámina de las hojas, necrosis en las hojas desde el ápice hacia abajo, deterioro de los tallos y del sistema radical, así como valores de brix en el raquis de la hoja superiores a ocho. Estos síntomas están descritos por diferentes autores para referirse a la presencia de SCYLV y SCYP [Schenck, 1990; Cronjé *et al.*, 1998; Moutia y Saumtally, 1999; Arocha *et al.*, 1999; Lockhart y Cronjé, 2000; Joomun *et al.*, 2007; Khoodoo *et al.*, 2010]. Se observaron diferencias en la intensidad de los síntomas entre los genotipos evaluados. Ello coincide con los resultados publicados por Chinae *et al.* (2008). Estos autores se refieren a la expresión de los síntomas mediante una escala de cuatro grados que permitió agrupar a los diferentes genotipos evaluados en el germoplasma en las categorías *sin síntomas*, *ligero*, *medio* e *intenso*. La evaluación del SCYLV en el germoplasma en la provincia de Matanzas, realizada durante cinco años consecutivos (1995-1999), permitió conocer su propagación de forma natural desde el 12,9 al 52,5 % de los genotipos, y la existencia de una alta fuente de inóculo [Chinae *et al.*, 2008].

De acuerdo con el origen genético, la presencia de los síntomas fue observada en las formas originales evaluadas de *S. sinense* y *S. officinarum*, en el 60 y el 75,93 %, respectivamente, mientras que en *S. barberi* y *S. robustum* la incidencia fue del 100 %. En los híbridos en diferentes etapas de avance generacional la menor incidencia de los síntomas se observó en los de *S. sinense* y de *S. spontaneum* en relación con los de *S. robustum*. La cifra de híbridos comerciales con posible infección por SCYLV o por SCYP alcanzó el 83,69 % de los genotipos evaluados.

Los resultados de Peralta *et al.* (1999) y los publicados por Chinae *et al.* (2008), con el empleo del método de diagnóstico de campo basado en los síntomas y el brix de la hoja, en la evaluación de 2798 genotipos de la colección de germoplasma de Matanzas, demostraron la existencia de síntomas similares a los descritos para SCYLV y SCYP en 1469 de esos genotipos (52,5 %). De acuerdo con el origen genético, estos autores determinaron la presencia de esos síntomas en *S. barberi*, *S. officinarum*, *S. sinense* y *S. robustum* en el 16,67 %, 19,54 %, 31,25 % y 100,0 % respectivamente, mientras que en las formas originales de *S. spontaneum* no detectaron ninguno de los síntomas atribuidos a estas enfermedades. En los híbridos en diferentes etapas de avance generacional la menor incidencia de los síntomas fueron observados en los de *S. sinense*, así como de *S. spontaneum* por *S. officinarum*, mientras que en los híbridos comerciales la incidencia alcanzó el 59,20 %.

Los resultados que se presentan en este trabajo y los de Peralta *et al.* (1999) y Chinae *et al.* (2008) referidos anteriormente indican que las mayores fuentes de resistencia ante SCYP y SCYLV podrían estar en las formas originales de *S. spontaneum* y de *S. sinense*, en los híbridos de *S. sinense*, de *S. spontaneum* y de *S. officinarum* por *S. spontaneum*, así como también de un reducido número de híbridos comerciales de interés y utilidad para el mejoramiento genético. Estos resultados coinciden con los presentados por Schenck *et al.* (1997) en Hawaii, y por Comstock *et al.* (2002) en Florida. Ellos plantean que los clones de *Sacchaum spontaneum* parecen ser una buena opción para la obtención de resistencia a SCYLV, ya que estos han presentado una baja incidencia de infección por este patógeno. En Florida el cruzamiento de *S. officinarum* por *S. spontaneum* ha dado como resultado una alta proporción de descendencia con resistencia a SCYLV [Comstock *et al.*, 2002]. Otra alternativa para el mejoramiento podría ser el uso de clones comerciales

que estén informados como resistentes a estas enfermedades [Comstock y Miller, 2003]. El conocimiento científico y los resultados de las investigaciones que se llevan a cabo en la actualidad en otras

regiones y países productores de caña de azúcar, en relación con la resistencia a SCYP, son aún insuficientes.

Tabla 2. Incidencia de síntomas similares a SCYLV y SCYP en las colecciones de trabajo y de hibridación (Sancti Spíritus, 2007)

Origen genético	Total evaluados	Con síntomas	Porcentaje
<i>S. barberi</i>	1	1	100,00
<i>S. officinarum</i>	54	41	75,93
<i>S. robustum</i>	5	5	100,00
<i>S. sinense</i>	5	3	60,00
Selección noble de <i>officinarum</i>	1	1	100,00
F1 de <i>S. robustum</i>	6	5	83,33
F1 de <i>S. spontaneum</i>	5	1	20,00
F1 de <i>S. sinense</i>	1	0	0,00
F1 intergenérico <i>Pennisetum</i> por <i>Saccharum</i>	2	0	0,00
F1 intergenérico <i>Sorghum</i> por <i>Saccharum</i>	1	1	100,00
F1 (<i>H. S. spontaneum</i>)	2	1	50,00
F1 (<i>S. barberi</i> o de <i>S. sinense</i>)	1	0	0,00
F1 (<i>H. S. robustum</i>)	5	5	100,00
F1 (<i>H. S. sinense</i>)	2	1	50,00
F2 <i>Triespecífico</i> (<i>S. off.</i> , <i>S. rob.</i> , <i>S. spon.</i>)	1	1	100,00
BC1(<i>H. S. spontaneum</i>)	16	14	87,50
BC1 (<i>H. S. robustum</i>)	3	3	100,00
BC1 (<i>H. S. sinense</i>)	6	5	83,33
BC1 <i>Triespecífico</i> (<i>S. spon.</i> , <i>S. off.</i> , <i>S. rob.</i>)	1	1	100,00
BC1 de <i>S. robustum</i> con <i>S. officinarum</i>	1	1	100,00
Híbrido natural	1	1	100,00
Híbridos comerciales	1245	1042	83,69
Total	1365	1133	83,00

Debería explotarse más el germoplasma para la búsqueda de resistencia SCYP y SCYLV por su amplia diversidad genética y las fuentes de resistencia presentes. Los bancos de germoplasmas resguardan la fuente de variabilidad requerida por los mejoradores de plantas para el desarrollo de cultivares que permiten al agricultor superar las limitaciones naturales a fin de obtener mayores beneficios de su actividad, así como asegurar la fuente contra la erosión genética [Becching *et al.*, 1994, citado por Demey, 2008].

Los 1365 genotipos evaluados en las colecciones de trabajo y de hibridación en la provincia de Sancti Spíritus

también se evaluaron en marzo de 2007, en colección de germoplasma de Matanzas. Como resultado se determinó la existencia de 172 genotipos, que en ambas localidades no presentaron síntomas de SCYP y SCYLV. En estos individuos podrían existir posibles fuentes de resistencia a estas enfermedades (*Tabla 3*). La ausencia de síntomas en estos genotipos pudiera atribuirse a la resistencia a SCYLV y SCYP, si se tiene en consideración la evaluación del germoplasma anteriormente realizada [China *et al.*, 2008], la propagación del SCYP en 2005 en el 39 % en la región central y el 36 y 26 en la occidental y oriental, respectivamente [Arocha *et al.*,

2006], y la presencia de los síntomas en las provincias de Villa Clara y Cienfuegos en el 87,15 y el 90,5 % de los campos evaluados, respectivamente, y una incidencia promedio entre el 38 y el 47 % [Aday *et al.*, 2009], lo que evidencia un alto nivel de inóculo y de infección natural. Por otro lado, en ninguna de las localidades donde se desarrolló el presente estudio se realizó control alguno de los insectos vectores de estas enfermedades, y las atenciones de limpieza, cultivo y fertilización se hicieron de acuerdo con las exigencias de las plantaciones y requerimientos del suelo. Con frecuencia se observó el principal vector del SCYLV, *Melanaphis*

sacchari [Abu Ahmad *et al.*, 2006b] y del SCYP, *Saccharosydne saccharivora* [Arocha *et al.*, 2005b]. Las especies de *Saccharum* (incluidos cultivares tradicionales y nuevos, así como parientes silvestres) son los únicos hospedantes naturales del SCYLV, mientras que Arocha *et al.* (2005c) determinaron la presencia de SCYP además en *Cynodon dactylon*, *Coniza canadensis*, *Sorghum halepense* y *Macroptilium latyroides*, malezas que crecen próximo a los campos de caña. Los genotipos relacionados en la *Tabla 3* deberán someterse a diagnóstico por el sistema molecular para determinar si están infectados o no, a pesar de no mostrar síntomas.

Tabla 3. Genotipos que no han presentado síntomas similares a SCYP y SCYLV en la colección de germoplasma de Matanzas y en las colecciones de trabajo y de hibridación de Sancti Spíritus, con posible resistencia (Cuba, 2007)

Origen	Genotipos
EE. UU.	CP33-224, CP60-1, L61-17, PB50-10
Cuba	57-150-4, Cubana, C24192/88, C260-46, C521-46, C6-55, C66-53, C209-59, C151-63, C297-63, C298-63, C445-64, C450-64, C14-65, C437-68, C149-73, C293-73, C134-78, C156-77, C245-79, C267-80, C275-80, C124-81, C156-82, C143-91, C6590, C85-154, C85-212, C85-214, C85-292, C85-474, C86-410, C86-536, C86-551, C87-257, C88-187, C89-246, C89-302, C89-505, C90-390, C91-113, C92-203, C92-379, C95-93, CC1-83, CC4-83, Ja55-487, Ja64-2, My5515, CH64(21), My5763, My5764
	CSR179-80, CSR57-82, CSR155-83, CSR331-83, CSR263-84, CSR225-88, CSR234-88, CSR62-89, CSR69-91
	CSG11-90, CSG276-90, CSG6-92, CSG14-92, CSG172-92, CSG232-92, CSG249-92, CSG295-92, CSG2-96, CSG25-96, CSG26-96, CSG27-96, CSG34-96, CSG38-96, CSG43-96, CSG44-96, CSG48-96, CSG57-96, CSG60-96, CSG62-96, CSG65-96, CSG67-96, CSG72-96, CSG1-98, CSG6-98, CSG11-98, CSG47-98, CSG51-98, CSG81-98, CSG87-98, CSG9-98, C91-98, CSG94-98, CSG102-98, CSG108-98, CSG111-98, CSG01-357, CSG01-355, CSG01-356, CSG01-358, CSG01-363, CSG01-364, CSG01-366, CSG01-367, CSG86-502, CSG86-504, CSG87-252, CSG87-506, CSG87-515, CSG87-517, CSG87-519, CSG87-520, CSG89-505, CSG89-256, CSG89-259, CSG89-506, CSG90-252, CSG90-262, CSG90-265, CSG90-272, CSG90-289, CSG90-293
	SCL3, SCL8, SCL30, SCL32
Australia	Pindar
Java	Keong Java
Guyana	D200-36
Desconocido	Bodas de Oro, Caiara, Karia, Lakhapur, Mantenga, SW111, Ventha, WI86-20
Barbados	B1753, B35207, B35250, B38155, B39250, B42261, B43391, B45116, B73317, B74222, B77522, B77590, B80250, B80583, B80676, B8084, DB66/113
Nueva Guinea	21NG15, 51NG46, 63NG80
Nueva Caledonia	NC39, NC40
India	Chittan
Mauricio	M31/45
México	Mex53-150, Mex54-105, Mex56-414, Mex58-363
Puerto Rico	PR902
Brasil	CB41-76, RB785448

Determinación de la presencia de SCYLV en la colección de germoplasma

Con el objetivo de determinar la presencia de SCYLV, en diciembre de 2009 se realizó la evaluación de 114 cultivares en la colección de germoplasma de la provincia de Matanzas, y junto a ello un diagnóstico mediante impresión en membranas de nitrocelulosa (TBIA) de 114 muestras de hojas. Las muestras se procesaron en el Centro Internacional de Cooperación en Investigaciones Agronómicas para el Desarrollo, Montpellier, Francia (CIRAD-INRA). Del total de las procesadas, 94 presentaron un brix mayor de ocho y otros síntomas característicos de SCYLV y SCYP; sin

embargo, de ellas solo 24 (21,05 %) resultaron positivos a SCYLV de acuerdo con el diagnóstico realizado (Tabla 4), hecho que podría atribuirse a la presencia del fitoplasma SCYP. Este ha sido predominante en pesquisas anteriores publicadas por Arocha *et al.* (1999), Peralta *et al.* (1999), Arocha (2000), Arocha *et al.* (2000), Arocha *et al.* (2004), Arocha *et al.* (2005a), Arocha *et al.* (2006). De las muestras asintomáticas, solo la del cultivar TUC507 mostró la evidencia positiva de la presencia del virus, la que se corroboró además por RT-PCR en los genotipos Q124, My645, Laica96-01, CSG403-92 y C91-81. En los 24 genotipos infectados no se habían detectado anteriormente en el país infecciones por SCYLV (Tabla 4).

Tabla 4. Resultado de la evaluación y diagnóstico por TBIA de genotipos de la colección de germoplasma de Matanzas (diciembre, 2009)

Genotipos	Brix	SCYLV	Genotipos	Brix	SCYLV	Genotipos	Brix	SCYLV
11-48-7	13,6	-	C89-148	5,0	-	ECL1-3-85	15,0	+
11-53-7	12,6	-	C89-162	10,0	-	ECL2-7-85	12,0	-
57-150-2	5,6	-	C91-301	4,0	-	Fiji	14,0	+
57-45-7	17,6	-	C91-81	14,6	+	Geel Muntok	8,4	-
57-45-13	7,0	-	C94-57	13,6	-	Gloria54	13,0	-
28NG289	13,0	-	C97-105	15,0	+	H77-25-45	14,6	-
51NG127	15,0	-	CC82-28	14,0	+	Ja64-19	15,0	+
51NG143	10,0	+	Co281	10,0	-	Java51	12,0	-
51NG23	13,0	-	Co453	13,6	+	L55-5	6,0	-
51NG55	8,0	-	Co997	8,2	-	L60-25	13,0	-
B35107	14,0	-	CP29-103	17,0	-	Laica96-01	16,0	+
B4362	5,2	-	CP52-43	12,0	-	Laica96-09	13,0	+
B49119	5,0	-	CP57-614	18,6	-	M202-46	13,6	-
B72356	15,0	-	CP62-258	16,0	-	Morada Antigua	13,0	-
B77311	5,6	-	CP63-306	12,0	-	Muk Che	13,6	-
B77491	17,0	+	CP72-2086	5,0	-	My5514	8,0	-
B77557	6,8	-	C. de Bengala	10,0	+	My5771	12,4	-
B77740	10,0	-	CSG16-74	9,0	-	My645	10,6	+
B8066	7,6	-	CSG21-93	11,6	-	NC29	16,2	-
C1051-73	15,0	+	CSG243-84	14,0	+	NCo310	9,0	-
C120-78	8,6	+	CSG245-92	11,0	+	PB50-6	3,6	-
C125-54	14,4	-	CSG254-93	4,0	-	PB50-8	15,0	-
C133-81	6,0	-	CSG256-91	15,0	+	PB50-12	10,0	-
C15792	12,0	-	CSG257-91	10,0	-	PB50-16	13,0	-
C165-63	5,0	-	CSG403-92	9,6	+	PMG89-118	14,6	-
C17-65	13,6	-	CSG51-91	11,6	-	POJ2878	4,8	-
C187-02	13,6	-	CSG87-506	15,0	-	Q124	15,0	+
C245-79	17,0	+	CSG86-510	11,0	-	Q47	14,0	+

C2514-88	11,0	–	CSG88-354	13,0	–	RB806043	10,0	+
C2515-88	18,0	–	CSG88-356(1)	9,4	–	SP71-1081	14,6	–
C68-60	13,0	–	CSG88-359	14,0	–	SP71-6080	10,0	–
C85-110	14,0	–	CSG88-360	15,0	–	SP71-799	13,0	–
C85-164	12,0	–	CSG88-362(4)	18,0	–	SP71-8110	9,0	–
C86-165	4,0	–	CSG90-286	10,6	–	SP76-3330	11,0	–
C86-503	11,0	–	CSG92-506	11,0	–	TUC507	5,0	+
C86-56	10,6	–	CSR116-78	10,6	–	US57-29-1	19,0	–
C87-252	6,8		CSR144-87	12,0		Yellow Bamboo	10,6	
C87-260	10,0	+	CSR289-83	9,6	–			
C89-147	5,6	–						

+: Presencia del SCYLV

–: Ausencia

La presencia del SCYLV en genotipos existentes en la colección de germoplasma de Matanzas se ha informado por varios autores. En los genotipos C132-81 y Ja64-11, en muestras procedentes de Cuba, Abu Ahmad *et al.* (2006a), desde Montpellier, Francia, informan la presencia de dos genotipos del virus, nombrados BRA-PER y CUB. También en muestras procedentes de Colombia estos autores determinaron en C1051-73 el genotipo CUB. La presencia del virus también ha sido informada por Comstock *et al.* (2005) en los genotipos Co281 y NCo310 y en POJ28-78 por Abu Ahmad *et al.* (2006a). En este estudio se evaluaron cuatro genotipos en los que otros autores han informado por la presencia de SCYLV, en muestras procedentes de otros países (Co281, NCo310, C1051-73 y POJ28-78); sin embargo, solo se detectó por TBIA la presencia del virus en C1051-73. Los resultados indican que un mismo genotipo puede infectarse por cualquiera de los dos patógenos y expresar los mismos síntomas, como es el caso de C1051-73, en el cual se ha detectado en diferentes momentos y localidades geográficas infecciones por SCYP y por SCYLV. Tales resultados coinciden con los obtenidos por Aljanabi *et al.* (2001) y Smith *et al.* (2001), en relación con la existencia de infecciones mixtas de ambos patógenos (SCYLV y SCYP). Estos pueden coexistir en una misma planta o en una misma localidad. También pueden presentarse infecciones mixtas de varios genotipos de SCYLV o de SCYP [Parmessur *et al.*, 2002; Abu Ahmad *et al.*, 2006a]. Hasta la fecha no existen informes acerca de la interacción que se produce cuando se presentan infecciones simultáneas de ambos patógenos.

CONCLUSIONES

- Se detectó a SCYP y fueron positivos al diagnóstico el 95 % de los tallos evaluados y el 76,7 % de las muestras procesadas en 29 variedades de caña de azúcar de importancia comercial en Villa Clara,
- La existencia de síntomas similares a los descritos para SCYLV y SCYP se identificó en las colecciones de trabajo y de hibridación en la provincia de Sancti Spiritus, con una incidencia de los síntomas en el 83,0 % de los genotipos evaluados.
- Las mayores fuentes de resistencia ante SCYP y SCYLV podrían estar en los híbridos de *S. sinense* y de *S. spontaneum*, así como también de un reducido número de híbridos comerciales de interés y utilidad para el mejoramiento genético.
- Se identificaron 172 genotipos que no han presentado síntomas de estas enfermedades en la colección de germoplasma y en las colecciones de trabajo y de hibridación en Cuba. En estos individuos podrían existir posibles fuentes de resistencia a estas enfermedades.
- En muestras de plantas con síntomas característicos de SCYLV y SCYP en la colección de germoplasma, solo el 21,05 % resultaron positivos a SCYLV, hecho que podría atribuirse a la presencia del fitoplasma SCYP.
- Un mismo genotipo puede infectarse por cualquiera de los dos patógenos y expresar los mismos síntomas.

RECOMENDACIONES

Considerar de importante la presencia en Cuba de SCYLV y SCYP en las principales variedades comerciales cultivadas y determinar su distribución geográfica en el país.

Los genotipos que no han mostrado síntomas de estas enfermedades deberán ser sometidos a diagnóstico por el sistema molecular para determinar si están infectados o no, y definir su posible empleo en programas de resistencia.

Determinar los genotipos del SCYLV existentes en el país.

REFERENCIAS

- Abu Ahmad, Y.; M. Royer; J. H. Daugrois; L. Costet; J. M. Lett; J. I. Victoria; J. C. Girard; P. Rott: «Geographical Distribution of Four Sugarcane Yellow Leaf Virus Genotypes», *Plant Disease* 90 (9): 1156-1160, EE. UU., 2006a.
- Abu Ahmad, Y.; L. Rassaby; M. Roger; Z. Borg; K. S. Braithwaite; T. E. Mirkov; M. S. Irej; X. Perrier; G. R. Smith; P. Rott: «Yellow Leaf of Sugarcane Is Caused by at Least Three Different Genotypes of Sugarcane Yellow Leaf Virus, One of Which Predominates on the Island of Reunión», *Archives of Virology* 151: 1355-1371, Alemania, 2006b.
- Aday, O.; A. Chinea; F. R. Díaz; Y. Gil; L. Carmenate; M. Morales: «Incidencia del síndrome de la hoja amarilla de la caña de azúcar (YLS) en plantaciones comerciales de Villa Clara y Cienfuegos», *Revista ATAC* 3: 33-44, Cuba, 2009.
- Aljanabi, S.; Y. Parmessur; Y. Moutia; S. Saumtally; A. Dookun: «Further evidence of the association of a phytoplasma and a virus with yellow leaf syndrome in sugarcane», *Plant Pathology* 50: 628-636, EE. UU., 2001.
- Ángel, J. C.; M. C. Avellaneda; J. C. Victoria; M. Betancourt; C. Díaz; J. A. Arroyave; M. Castaño: «Purificación del virus del síndrome de la hoja amarilla de la caña de azúcar (Sugarcane Yellow Leaf luteovirus, SCYLV) y producción de antisuero», *Fitopatología Colombiana* 26 (1-2): 67-72, 2002.
- Arocha, Y.; L. González; E. L. Peralta; P. Jones: «First Report of Virus and Phytoplasma Pathogens Associated with Yellow Leaf Syndrome of Sugarcane in Cuba», *Plant Disease* 83: 1177, EE. UU., 1999.
- Arocha, Y.; P. Jones; I. Sumac; E. L. Peralta: «Detección de fitoplasmas asociados al síndrome de la hoja amarilla en Cuba», *Revista de Protección Vegetal* 15: 81-87, Cuba, 2000.
- Arocha, Y.: «Detección y caracterización molecular de los fitoplasmas asociados al síndrome del amarillamiento foliar de la caña de azúcar (YLS) en Cuba», Tesis en opción del grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Agraria de La Habana, 2000.
- Arocha, Y.; E. L. Peralta; P. Jones: «Validación del sistema de diagnóstico molecular de fitoplasmas asociados con el síndrome del amarillamiento foliar de la caña de azúcar (YLS) en Cuba y su comparación con el método de campo», *Revista Protección Vegetal* 19 (1): 19-25, Cuba, 2004.
- Arocha, Y.; R. Almeida; E. L. Peralta; O. Carvajal; P. Jones: «Update Data on Distribution of Yellow Leaf Syndrome (YLS) in Cuba», *Revista Protección Vegetal* 20 (2): 1-5, Cuba, 2005a.
- Arocha, Y.; M. López; M. Fernández; B. Piñol; D. Horta; E. L. Peralta; R. Almeida; O. Carvajal; S. Picornell; M. R. Wilson; P. Jones: «Transmission of Sugarcane Yellow Leaf Phytoplasma by the Delphacid Planthopper *Saccharosydne saccharivora*, a New Vector of Sugarcane Yellow Leaf Syndrome», *Plant Pathology* 54: 634-642, EE. UU., 2005b.
- Arocha, Y.; M. López; B. Piñol; M. Fernández; B. Picornell; R. Almeida; I. Palenzuela; M. R. Wilson; P. Jones: «*Candidatus Phytoplasma graminis* and *Candidatus Phytoplasma caricae*, Two Novel Phytoplasmas Associated with Diseases of Sugarcane, Weeds and Papaya in Cuba», *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55: 2451-2463, Canadá, 2005c.
- Arocha, Y.; B. Piñol; E. L. Peralta; R. Almeida; B. Picornell; P. Jones: «Biodiversidad y distribución de los fitoplasmas asociados con el síndrome del amarillamiento foliar (YLS) en Cuba», *Revista Fitosanidad* 21 (1): 8-15, Cuba, 2006.
- Bailey, R.; G. Bechet; P. Cronjé: «Notes on the Occurrence of Yellow Leaf Syndrome of Sugarcane in Southern Africa», *Proceedings South African Sugar Technologists Association* 70: 3-6, 1996.
- Chinea, M.; A. Martín; G. Pérez; O. Aday; L. Cabrera; J. R. Pérez; O. Carvajal; A. Chinea; G. Barroso; Y. Arocha; Y. Hidalgo; Y. Ruffin: «Comportamiento del germoplasma de la caña de azúcar ante el síndrome de la hoja amarilla en Cuba», Memorias CD ROM Congreso Científico del INCA, noviembre 24-28, La Habana, 2008.
- Comstock, J. C.; M. S. Irej; B. E. L. Lockhart; Z. K. Wang: «Incidence of Yellow Leaf Syndrome in CP Cultivars Based on Polymerase Chain Reaction and Serological Techniques», *Sugar Cane* 4: 21-24, EE. UU., 1998.
- Comstock, J.; J. D. Miller; R. J. Schnell: «Incidence of Sugarcane Yellow Leaf Virus in Clones Maintained in the World Collection of Sugarcane and Related Grasses at the United States National Repository in Miami, Florida», *Sugar Tech.* 3: 128-133, Alemania, 2002.
- Comstock, J.; J. D. Miller: «Incidence and Spread of Sugarcane Yellow Leaf Virus in Sugarcane Clones in the CP-Cultivar Development Program at Canal Point», *Journal American Society of Sugarcane Technologists* 23: 71-78, EE. UU., 2003.
- Comstock, J.; J. D. Miller: «Yield Comparisons: Disease-Free Tissue-Culture Versus Bud-Propagated Sugarcane Plants and Healthy Versus Yellow Leaf Infected Plants», *Journal American Society Sugar Cane Technologists* 24: 31-40, EE. UU., 2004.
- Comstock, J. C.; J. D. Miller; R. J. Schnell; T. Ayala-Silva: «Sugarcane Yellow Leaf Virus in the World Collection of Sugarcane and Related Grasses at Miami, Florida», Abstracts of Posters Silver Jubilee Congress, Guatemala, enero 30-febrero 4, 2005, 2005.
- Cronjé, C. P. R.; A. M. Timon; P. Jones; R. A. Bailey: «Association of a Phytoplasma with Yellow Leaf Syndrome of Sugarcane in Africa», *Ann. Appl. Biol.* 133: 177-186, EE. UU., 1998.
- Demey, J. R.: «Diversidad genética en bancos de germoplasma: un enfoque biplot», Tesis Doctoral, Universidad de Salamanca, España, 2008.
- Fntaniella, B.; C. Vicente; M. E. Legaz; R. Armas; C. W. Rodríguez; M. Martínez; D. Piñón; R. Acevedo; M. T. Salas: «Yellow Leaf Syndrome Modifies the Composition of Sugarcane Juices in Polysaccharides, Phenols and Polyamines», *Plant Physiology and Biochemistry* 41: 1027-1036, Holanda, Francia, 2003.
- Garcés, F. F.; C. Balladares; G. Quiridumbay; C. Muñoz: «Diagnosis of Leaf Fleck, Leaf Scald, Mosaic, Ratoon Stunting Disease in Commercial Fields and Quarantine in Ecuador», *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.* 25: 695-700, EE. UU., 2005.
- Gaur, R. K.; R. Raizada; G. P. Rao: «Sugarcane Yellow Leaf Phytoplasma Associated for the First Time with Sugarcane Yellow Leaf Syndrome in India», *New Disease Report* 16 (43): 1, EE. UU., 2008.
- Girard, J. C.; E. Fernandez; J. H. Daugrois; D. Roques; P. Roumagnac; P. Rott: «Genetic Diversity of *Sugarcane Yellow Leaf Virus* in a Sugarcane Selection Plot in Guadeloupe (FWI)», *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.* 27: 9, EE. UU., 2010.
- Izaguirre-Mayoral, M. L.; O. Carballo; C. Alceste; M. Romano; H. A. Nass: «Physiological Performance of Asymptomatic and Yellow Leaf Syndrome-Affected Sugarcane in Venezuela», *Journal of Phytopathology* 150 (1): 13-19, Alemania, 2002.