

GENEALOGÍA DE CULTIVARES DE CAÑA DE AZÚCAR RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES A LA HOJA AMARILLA

Osmany de la C. Aday Díaz¹, María de la Luz La O Hechavarría², María de los Ángeles Zardón Navarro², Eida Rodríguez Lema², José María Mesa López², Yaquelín Puchadez Izaguirre³, Félix René Díaz Mujica¹.

1- Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar Centro - Villa Clara. Autopista Nacional Km 246, Ranchuelo, C.P. 53100, Villa Clara, Cuba. e-mail: subdfito@epica.vc.azcuba.cu.

2- Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). Carretera CUJAE Km 1 1/2. Boyeros, C.P. 19390. La Habana. Cuba. e-mail: mesa@inica.azcuba.cu; lao@inica.azcuba.cu.

3- Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar Oriente-Sur. Palma Soriano, Santiago de Cuba, Cuba. e-mail: ypuchades@etica.ciges.inf.cu.

RESUMEN

Este trabajo se realizó en la colección de germoplasma del Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). Se diagnosticó por método serológico la presencia del *Virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar* (SCYLV). Se trazó la genealogía de cultivares comerciales y ancestros que forman parte de la base genética de este cultivo en Cuba, así se determinó la posible selección por resistencia a SCYLV en el programa de mejora. Fue evaluada la presencia de síntomas de esta enfermedad en 27 cultivares explotados en el período comprendido del año 1965 al 2008 y en 37 ancestros. En la colección evaluada, fueron identificados 18 ancestros con posible resistencia a SCYLV. De los cultivares comerciales más explotados en los períodos de 1965 a 1999 y desde el año 2000 hasta la fecha, el 45,45% y 81,25%, respectivamente, se encontró infectado por SCYLV. Estos altos índices, se deben a que los programas de mejora desarrollados con anterioridad en el país, no incluyeron la resistencia a este virus. Se observó que los cultivares B77418, B63118 C323-68, C89-176 y My5514 no mostraron síntomas ni fueron positivos a la presencia del virus, por lo que podrían ser candidatos a progenitores resistentes a esta enfermedad. Se recomienda realizar cruces exploratorios, con los posibles candidatos a progenitores resistentes, para ampliar la base genética con cultivares resistentes a SCYLV.

Palabras clave: caña de azúcar, hoja amarilla, resistencia.

INTRODUCCION

La caña de azúcar (*Saccharum* spp.) es un importante cultivo tropical que suministra el 70% del azúcar que se consume en el mundo (1). Ofrece grandes posibilidades para ser utilizada como forraje verde en la alimentación de rumiantes debido a la alta digestibilidad de la fibra (2). Adicionalmente este cultivo adquiere importancia en los últimos años, debido a su uso en la obtención de biocombustible (3) y para la cogeneración de electricidad (4).

Su genoma puede ser uno de los más complejos estudiados hasta la fecha, debido a su alta poliploidía (12 X), con aproximadamente 120 cromosomas en clones comerciales y a su origen interespecífico (5).

Las enfermedades son una de las principales causas de reemplazo o sustitución de los cultivares. Uno de los principales patógenos en Cuba y en el mundo es el *Virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar* (SCYLV), que causa la enfermedad conocida como hoja amarilla (6, 4). Este virus pertenece al género *Polerovirus*, familia *Luteoviridae* (7). Su propagación por el mundo probablemente ocurrió durante los programas de intercambio del germoplasma internacional (8).

Los síntomas que produce este virus, fueron informados por primera vez en Hawai en 1989 (9). En Cuba se ha confirmado su presencia desde 1999 (10, 11).

Estudios realizados por Komor en el 2010 (12) en Hawaii, sobre la genealogía de cultivares susceptibles y resistentes a SCYLV, indican que la resistencia puede ser heredada tanto del progenitor femenino como del masculino. Los objetivos del presente estudio fueron: determinar la infección por SCYLV en cultivares comerciales y ancestros que forman parte de la base genética en Cuba; y estudiar la genealogía de cultivares comerciales, para determinar dónde pueden estar las fuentes de resistencia a esta enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en la colección de germoplasma del Instituto 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. El área se encuentra ubicada a una altitud de 25 msnm, en un suelo clasificado como Ferralítico Rojo Compactado (II Clasificación de Suelos de Cuba) (13), Hypereutri-Rhodic Ferrasol (14) o Rhodic Eustrtox (15), con una precipitación media anual de 1538 mm y temperatura media anual de 24,1 °C.

Fue evaluada la presencia de síntomas de SCYLV en 27 cultivares de los más explotados comercialmente en Cuba en el período comprendido del año 1965 al 2008 y en 37 ancestros que forman parte de la base genética de los cultivares, que en diferentes etapas, jugaron su rol en la producción azucarera cubana en el período antes señalado según (16).

Para la observación de los síntomas de la enfermedad, cada ancestro fue evaluado en una parcela de tres metros lineales y se realizó una evaluación general de los síntomas en la población existente en cada caso, para ello se empleó la escala descrita por Chinae *et al.*, (2008) según las normas y procedimientos de evaluación de enfermedades en Cuba (17), (Tabla I).

Tabla I. Escala de cuatro grados para evaluar la severidad del síntoma de hoja amarilla de la caña de azúcar en Cuba, según Chinae *et al.* (2008) (17)

Grado	Descripción
1	No se observan síntomas de la enfermedad.
2	Coloración amarilla en el raquis de la hoja por el envés, que puede abrirse hacia las láminas foliares.
3	La coloración amarilla ocupa toda la superficie foliar, se produce necrosis en las hojas del ápice hacia abajo.
4	La coloración amarilla ocupa todo el follaje, la necrosis se extiende hacia el interior del tallo y al sistema radical, pueden morir varias plantas de una cepa y cepas completas.

El diagnóstico de SCYLV se realizó a través de la detección serológica por impresión en membrana de nitrocelulosa o Inmunoimpresión de Tejidos (Tissue blot immunoassay o TBIA) (18). De cada parcela e individuo evaluado, se seleccionaron plantas al azar con síntomas y asintomáticas para el amarillamiento de la hoja. Se colectó la hoja (+1), 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 se imprimió firmemente en una membrana de nitrocelulosa. El revelado serológico, se realizó con el anticuerpo específico desarrollado por B. E. Lockhart, Universidad de Minnesota (Minneapolis) (18).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio, asumimos que los individuos infectados por el virus son susceptibles. Consideramos como resistentes los individuos que a pesar de estar expuestos a la infección natural y una alta fuente de inóculo, por un período de 10 o más años, no han mostrado síntomas y además resultaron negativos a SCYLV por la prueba de TBIA. Una vez que una planta o cepa de un cultivar se ha infectado por SCYLV, esta permanecerá infectada durante toda su vida de explotación y los tallos que se utilicen como semilla tendrán además la capacidad de propagar el virus (12). El autor concluyó que, en las colecciones de germoplasma, se puede asumir firmemente, que el cultivar que nunca muestra infecciones por SCYLV es resistente, mientras que se pueden definir como susceptibles los cultivares infectados.

Se encontraron varios ancestros en estado asintomático pero infectados por SCYLV [B(30)-L-7, B6368, C15794, Co213, Co214, Co244, Co290, Co331, Co453, Loethers, POJ2364 y US1694] (Tabla II). En Florida, Estados Unidos, también se determinó la susceptibilidad de Co213 (19) y coinciden con los estudios de Komor en el 2010 (12) en la infección detectada en POJ2364.

Otros siete ancestros (B45181, Co221, Co281, CP43-64, EK2, NCo310, POJ100), presentaron síntomas similares a los descritos para esta enfermedad y resultaron negativos por TBIA, esto puede estar relacionado con varios factores tanto abióticos como bióticos (20) o a baja concentración de virus en las muestras probadas (falso negativo).

En relación a estos resultados, en Florida determinaron que NCo310 y POJ100 son susceptibles a esta enfermedad (19), por otro lado, estos autores determinaron además la resistencia del ancestro Kassoer. Las investigaciones sobre este tema, identificaron a los ancestros Mandalay y 96NG15 (Badila) como susceptible y resistente a SCYLV, respectivamente (12).

Considerando los resultados anteriores y la referencia bibliográfica citada, se identificaron 16 ancestros con posible resistencia a SCYLV (Tabla II), ellos pueden haber introducido resistencia a SCYLV en su progenie durante etapas de mejoramiento sucesivas, aún cuando la enfermedad era desconocida. Del mismo modo, los ancestros susceptibles fueron responsables de la susceptibilidad de las progenies seleccionadas en los programas de mejora. El 55% de los ancestros evaluados en este estudio han mostrado susceptibilidad a la infección por el virus.

Los ancestros con mayores posibilidades como recursos de resistencia a SCYLV, atendiendo a su origen y la resistencia de sus padres, podrían dividirse en cinco grupos:

- Grupo 1: 28NG251, Black Cheribon, Badila, Cristalina, D74, (formas originales de *Saccharum*).
- Grupo 2: B45181, CP28-11, CP43-64, Merceditas (se desconoce la resistencia de sus padres).
- Grupo 3: B49119, C51-53, EK2 (se desconoce la resistencia de la madre y el padre es susceptible).
- Grupo 4: Co221, Co281 (la madre es susceptible y se desconoce la resistencia del padre).
- Grupo 5: CP44-101, EK28, Kassoer (madre resistente y padre susceptible o se desconoce su resistencia).

Tabla II. Determinación de la infección por SCYLV en 37 ancestros de los cultivares de caña de azúcar en Cuba

Ancestro	Grado SCYLV	TBIA SCYLV	Ancestro	Grado SCYLV	TBIA SCYLV
28NG251	1	-	Co421	3	+
B(30)-L-7	1	+	Co453	1	+
B4098	3	+	CP28-11	1	-
B45181	2	-	CP43-64	2	-
B49119	1	-	CP44-101	1	-
B6368	1	+	EK2	3	-
Black Cheribon	1	-	Cristalina	1	-
C15794	1	+	D74	1	-
C431-62	2	+	EK28	1	-
C51-53	1	-	Fidji**	3	+
Co205	2	+	Merceditas	1	-
Co213*	1	+	NCo310*	2	-
Co214	1	+	Loethers	1	+
Co221	2	-	POJ100*	3	-
Co313	1	-	POJ2364**	1	+
Co331	1	+	POJ2878	3	+
Co244	1	+	Saretha	3	+
Co281***	3	-	US1694	1	+
Co290	1	+			

* Informadas como infectadas en Florida, por Comstock et al. (2005).

** Informadas como infectadas en Hawaii, por Komor (2010).

*** Informadas como no infectadas en Florida, por Comstock et al. (2005).

(-) significa ausencia del virus según TBIA.

(+) significa presencia del virus según TBIA.

De los cultivares comerciales estudiados, que fueron explotados fundamentalmente entre 1965 y 1999, el 45,45% se encontró infectado por SCYLV (Tabla III), algunos de ellos en estado asintomático. La mayoría de estos se han utilizado como progenitores en programas de mejoramiento en Cuba. De esta etapa, los genotipos B77418 y B63118 adquieren un mayor valor por las posibilidades de ser usados como progenitores resistentes a SCYLV. En el grupo de cultivares comerciales más explotados en Cuba, en la etapa del año 2000 hasta la fecha y que fueron evaluados en este estudio, se determinó que el 81,25% estaba infectado por el virus, con diferencias entre ellos en cuanto al grado de severidad de los síntomas. De este segundo grupo, los cultivares C323-68, C89-176 y My5514 podrían ser candidatos a progenitores resistentes a esta enfermedad.

Los cultivares comerciales B77418, B63118 y My5514, poseen progenitor masculino resistente (progenitor femenino no evaluado), estos podrían ser evaluados como progenitores resistentes en la búsqueda de marcadores moleculares y genes asociados con la resistencia a SCYLV. Del mismo modo deben considerarse los cultivares no infectados C323-68 y C89-176, aunque en ambos casos el progenitor masculino es susceptible y se desconoce la resistencia de progenitor femenino (no evaluado).

Tabla III. Determinación serológica de la presencia del virus en 27 cultivares comerciales explotados entre 1965 y 2013

Cultivares 1965-1999	Grado SCYLV	TBIA SCYLV	Cultivares 2000-2013	Grado SCYLV	TBIA SCYLV
B77418	1	-	My5514	1	-
B63118	1	-	C87-51	4	+
Ja60-5	3	+	C323-68	2	-
Ja64-19	2	-	C1051-73	3	+
C529-50	2	-	C120-78	3	+
C236-51	1	+	C132-81	3	+
CB44-52	1	-	C203-82	2	+
C227-59	2	+	C85-102	4	+
C266-70	3	+	C86-503	3	+
C1324-74	3	-	C86-56	3	+
C1616-75	2	+	C89-176	2	-
			C88-380	3	+
			C90-317	3	+
			C90-469	4	+
			CP52-43	2	+
			SP70-1284	3	+

(-) significa ausencia del virus según TBIA.

(+) significa presencia del virus según TBIA.

En el cultivar Ja64-19, no se determinó infección por SCYLV, sin embargo en este caso se desconoce la resistencia de sus padres y en la genealogía de su progenitor femenino se determinó la susceptibilidad en NCo310 y Co421, hasta llegar a su ancestro principal POJ2878. En el cultivar CB44-52 no se determinaron síntomas ni infecciones por SCYLV, pero este tampoco es un buen candidato ya que sus padres son susceptibles a este virus (POJ2878 x Co331).

En la genealogía de los cultivares susceptibles, se identificó la existencia de progenitores femeninos susceptibles en C86-56, C90-317, C90-469 y SP70-1284. También se identificaron progenitores masculinos susceptibles en la genealogía de C266-70, C236-51, C227-59, C1616-75, C87-51, C1051-73, C132-81, C85-102, C86-503. En el pedigrí de C120-78, C90-317 y C90-469, se determinó la susceptibilidad en ambos sentidos (femenino y masculino).

Este análisis demuestra que los programas de mejora y selección de la caña de azúcar con resistencia a otras enfermedades, desarrollados con anterioridad en Cuba, no seleccionaron cultivares para la resistencia a SCYLV. Debido al desconocimiento de la heredabilidad de la resistencia a esta enfermedad y de los recursos genéticos apropiados, hasta la fecha aún no se ha elaborado un programa de mejoramiento con ese fin. El empleo de progenitores susceptibles a SCYLV en Cuba, ha ido en ascenso en los últimos cuarenta años, ello se refleja en la susceptibilidad de los cultivares comerciales seleccionados y explotados, sobre todo en los últimos 13 años (Tabla III).

CONCLUSIONES

- En la colección de germoplasma en Cuba, existen 16 ancestros con posible resistencia a SCYLV.
- El 55% de los ancestros evaluados en este estudio han mostrado susceptibilidad a la infección por el virus.

- De los cultivares comerciales más explotados de 1965 a 1999 y desde el año 2000 hasta la fecha, el 45,45% y el 81,25%, respectivamente se encontró infectado por SCYLV.
- La infección por el virus en los cultivares comerciales, se debe a la infección por SCYLV en la base genética de la caña de azúcar en Cuba y al uso de progenitores susceptibles.
- Los cultivares B77418, B63118, C323-68, C89-176 y My5514 podrían ser candidatos a progenitores resistentes a esta enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Le Cunff, L.; Garsmeur, O.; Raboin, L.M. Diploid/Polyploid Syntenic Shuttle Mapping and Haplotype Specific Chromosome Walking Toward a Rust Resistance Gene (Bru1) in Highly Polyploid Sugarcane (2n-12x-115). *Genetics*, 180, 2008, 649–660.
2. Jorge, H.; Suárez, O.; García, H.; Santana, I. y Jorge Ibis M. Variedades de caña de azúcar para la alimentación del ganado vacuno. *Memorias del 48 Congreso de la ATAC*, La Habana, Cuba, 2002: 6 p.
3. Arruda, P. Perspective of the sugarcane industry in Brazil. *Tropical plant biology*, 4, 2011, 3–8.
4. Izquierdo, P.; Gutiérrez, A.; Victoria, J.I.; Ángel, M.C. and López, J. Molecular markers associated with resistance to *Sugarcane yellow leaf virus*. *Proceedings International Society Sugar Cane Technologists*, Vol. 28, 2013, 10 p.
5. D'Hont, A. Unraveling the genome structure of polyploids using FISH and GISH: examples of sugarcane and banana. *Cytogenetic and Genome Research*, 109, 2005, 27–33.
6. Chinaa Martín, A.; Rodríguez E.; Pérez G.; Chinaa Horta, A.; and Pérez, Y. Actualización del inventario de enfermedades de la caña de azúcar detectadas en Cuba. *Revista ATAC*, No. 1, enero-abril, 2012, 33-37.
7. D'Arcy, C. J. and Domier, L.L. Luteoviridae. In: *Virus Taxonomy. VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Fauquet, C.M.; Mayo, M.A.; Maniloff, J.; Desselberger, U. and Ball, L.A. (Eds). *Elsevier Academic Press*, New York, USA, 2005, 891-900.
8. Rott, P.; Comstock, J.C.; Croft B.J.; Kusalwong, A. and Saumtally, S.A. Recent advances in research on sugarcane yellow leaf virus, the causal agent of sugarcane yellow leaf. In: *Proceedings International Society Sugar Cane Technologists*, 2007, Vol. 26, 968–977.
9. Schenck, Susan and Hu, J.E. Update on the cause of the sugarcane yellow leaf syndrome. *Proceedings Hawaiian Sugar Technologists Association*, 1991, 45-49.
10. Arocha, Yaima; González, L.; Peralta, Esther L. and Jones, P. First report of virus and phytoplasma pathogens associated with Yellow Leaf Syndrome of sugarcane in Cuba. *Plant Disease* 83, 1999, 1171.
11. Aday, de la C. O.; Chinaa, A.; Mesa, J.M.; Hechavarría, María La O; Zardón, María; Díaz, F.R.; Jorge, H.; Delgado, I.; Machado, L.F.; Reyes, Susana; Barroso, J. y Gallardo, Ailyn. Fitoplasmas y virus de la hoja amarilla en el germoplasma y colecciones de caña de azúcar en la región central de Cuba. *Revista Fitosanidad*, 15(4), 2011, 195-204.
12. Komor, E. Susceptibility of sugarcane, plantation weeds and grain cereals to infection by Sugarcane yellow leaf virus and selection by sugarcane breeding in Hawaii. *European Journal of Plant Pathology*, Vol. 129 (3), 2010, 379-388.
13. Hernández, A; Pérez, J.M.; Bosch, D.; Rivero, L. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Edit. AGRINFOR, Ciudad Habana, Cuba, 1999: 64 p.
14. FAO-Unesco. *Soils of the World. Revised Legend*. FAO, Rome, 1988: 119 p.
15. Soil Survey Staff. *Keys to Soil Taxonomy*. USDA, Ninth Edition, 2003: 332 p.
16. Puchades, Y.; Rodríguez, R.; Arteché, J.; Bernal, N.; Jorge, H. y Cornide, M.T. Base genética de los cultivares de la caña de azúcar, explotados comercialmente en Cuba entre 1965 y 2008. *Revista Cuba & Caña*, Nro. 1, 2011, 37-53.

17. Jorge, H.; Jorge, Ibis M.; Mesa, J.M. y Bernal, N.A. Normas y Procedimientos del Programa de Fitomejoramiento de la Caña de Azúcar en Cuba. 2da Ed. *Boletín Especial Cuba & Caña*, La Habana, Cuba, 2011: 348 p.
18. Schenck, Susan; Hu, J.S. and Lockhart, B.E.L. Use of a tissue blot immunoassay to determine the distribution of *Sugarcane yellow leaf virus* in Hawaii. *Sugar Cane*, 4, 1997, 5-8.
19. Comstock, J. C.; Miller, J.D.; Schnell, R.J. and Ayala-Silva, T. *Sugarcane Yellow Leaf Virus* in the World Collection of Sugarcane and Related Grasses at Miami, Florida. *Abstracts of Posters Silver Jubilee Congress*, Guatemala, January 30 - February 4, 2005: 1 p.
20. Zardón, María A.; Gallo, Araíz; Mesa, J.M.; Arencibia, A.; Zamora, Loidy; Martínez, Yamila; Sautié, M.; Casas, M.A.; Hechavarría, María La O. Detección de infecciones mixtas en genotipos de caña de azúcar en Cuba. *Revista Protección Vegetal*, Vol. 27 (2), 2012, 77-84.