

Diferencias histológicas y fitopatológicas de cultivares de caña de azúcar frente a *Puccinia melanocephala* en tres localidades de Cuba.

R. Acevedo¹, Ana C. Luque², Isabel Alfonso¹, M. Debes², Eida Rodríguez¹, María La O¹, María A. Zardón¹, Yordanka Rufín¹, G. Marrero¹, J. Delgado¹, H. García¹, Mónica Tamayo¹, Katia Batista¹ y Marta E. Arias²

1. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA), MINAZ, Cuba. acevedo@inica.minaz.cu

2. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina.

Introducción

La roya parda de la caña de azúcar, cuyo agente causal es *Puccinia melanocephala* Sydow y P. Sydow (= *Puccinia erianthi* Padwick y Khan), ha causado pérdidas económicas importantes en la producción azucarera mundial, llegando a provocar una disminución del 50 % en el rendimiento agrícola de las cosechas. En Cuba en la zafra 1979-1980 se afectaron considerablemente los ingresos al país, al dejar de exportar 1 350 000 toneladas de azúcar debido a los daños producidos por la enfermedad (Alfonso, 1987; Sandoval, 2001; Rodríguez *et al.*, 2005a). Se estimó que se perdieron además unos 805 millones de pesos por concepto de sustitución de la variedad B4362 y la adquisición adicional de maquinaria agrícola, implementos e insumos agroquímicos (Rodríguez *et al.*, 2005b; Alfonso *et al.*, 2006).

En Cuba se ha desarrollado un amplio programa de evaluación del comportamiento de cultivares existentes en áreas experimentales y de producción, elaborándose escalas y métodos de evaluación en condiciones de campo y laboratorio (Alfonso, 1987; Rodríguez *et al.*, 2005b). El avance de las investigaciones y las medidas tomadas ha permitido reducir de forma notable la presencia de ataques intensos de esta patología en las áreas cañeras. (Jorge *et al.*, 2003). No obstante se mantiene una estrecha vigilancia a esta enfermedad sobre todo al observarse variaciones en los síntomas y en el comportamiento de la resistencia de algunos cultivares.

El objetivo fundamental del trabajo fue relacionar las alteraciones histológicas con la expresión de la relación hospedante-patógenos de caña de azúcar frente a *P. melanocephala*.

Materiales y Métodos

En los centros de pruebas de resistencia a la roya ubicados en La Habana, Matanzas y Santiago de Cuba se estudiaron tres cultivares patrones que presentan diferentes grados de resistencia frente a la roya, B4362 (altamente susceptible, AS), My5514 (susceptible, S) y PR980 (resistente, R).

Muestras del tercio medio de las hojas +3 de 10 plantas por cultivar, fueron procesadas en microscopio óptico Leica DM 500 y electrónico de barrido Zeiss SUPRA 55 VP. Las fotos en microscopio óptico fueron tomadas con cámara digital Nikon Coolpix X 5400. Para la obtención de epidermis se utilizó la técnica de raspado de Metckalfe (D' Ambrosio de Argüeso, 1999), las cuales fueron teñidas con el colorante azul de cresilo brillante y se montaron en portaobjetos con agua-glicerina. También se hicieron cortes transversales a mano alzada, los cuales se colorearon y se prepararon de igual forma que la epidermis. Los caracteres morfológicos analizados fueron: espesor de cutícula (ECT), de epidermis (EEP) y de lámina foliar (ELF), además número de estomas (NES) y cantidad de espículas o agujones (CAPC) presentes en la epidermis abaxial. En el análisis fitopatológico se evaluó: presencia o ausencia de pústulas, porcentaje de área foliar afectada (AFA) y tamaño de la pústula mayor (TP_May). Estas evaluaciones se realizaron a los 3, 4, 6 y 9 meses de edad.

Los datos obtenidos se procesaron por análisis de varianza y comparación de medias por el método de Tukey. Además se empleó análisis discriminante para identificar las variables que más se asociaron a la afectación por roya, para lo cual, la variable

discriminatoria fue la resistencia a la enfermedad, representada en los tres cultivares patrones.

Resultados y Discusión

En la epidermis se observaron zonas de coloración parda (necrosis), principalmente próximas a los estomas. En cortes transversales se encontraron estructuras propias del hongo (pústulas y uredosporas) con ruptura de la epidermis abaxial. Estos síntomas (necrosis y ruptura de epidermis) fueron mas notables en los cultivares susceptibles B4362 y My5514, mientras que en el resistente PR980, se observaron escasas zonas necróticas y pocas estructuras fúngicas. En el microscopio electrónico de barrido se pudieron ver detalles más específicos de las esporas (Fig. 1).

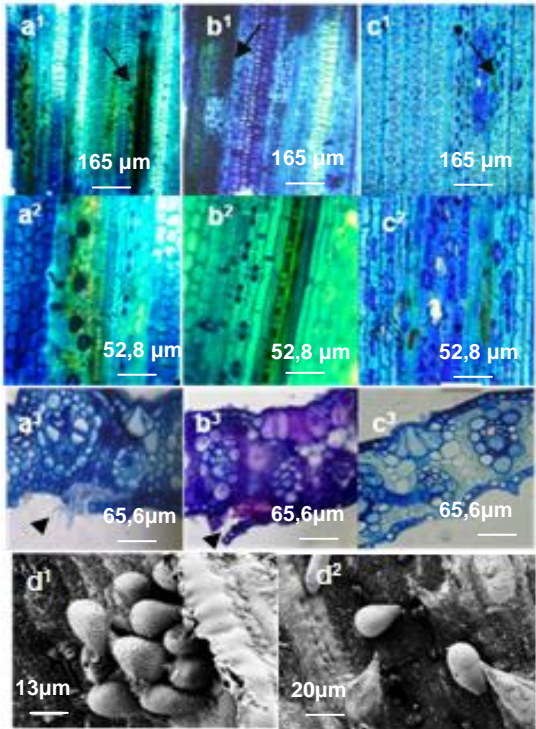


Fig.1. Epidermis abaxial y cortes transversales de hojas de los tres cultivares de caña analizados (a¹-a³:B4362, b¹-b³: My5514, c¹-c³: PR980), así como esporas del hongo al microscopio electrónico de barrido (d¹-d²). Zonas necróticas (flechas), detalle de zona necrosada (a², b², c²), pústula y ruptura epidermis abaxial (cabeza de flecha)

En la Fig. 2 se muestra el comportamiento de los cultivares en condiciones de campo con relación al porcentaje de plantas con pústulas y de área foliar afectada.

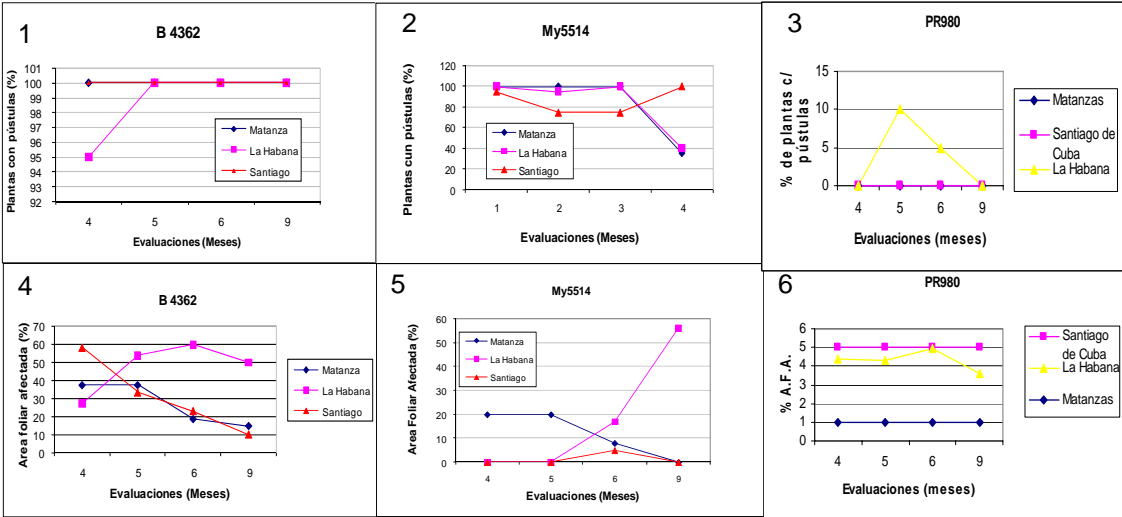


Fig.2. Porcentaje de plantas con pústulas (1, 2, 3) y área foliar afectada (4, 5, 6) de los tres cultivares estudiados.

En las tres localidades los mayores valores siempre se presentaron en B4362 (AS) y My5514 (S) al contrario de PR980 (R). Todos lo anterior indica que existe correspondencia entre los resultados obtenidos en las observaciones al microscopio óptico de los tejidos y la respuesta huésped-patógeno de los cultivares.

Al realizar el análisis discriminante (Cuadro 1) se determinó que la presencia de pústulas (Pust) tuvo un peso significativo ($F= 90,001$) en la conformación del modelo de discriminación de variables, permitiendo corroborar el contraste existente entre los cultivares seleccionados para el estudio ante la roya, ya que en los susceptibles el porcentaje de plantas con pústulas y el de área foliar afectada siempre presentó valores altos (Fig. 2).

	Wilks'	F	p
NES	0,043	7,076	0,001
ELF	0,037	0,295	0,745
EEP	0,044	8,910	0,000
ECT	0,045	9,175	0,000
CAPC	0,037	0,727	0,487
AFA	0,039	3,066	0,052
Pust	0,118	90,009	0,000
TP_May	0,038	1,340	0,268

Cuadro 1. Resultado del análisis discriminante de las variables estudiadas. Número de estomas (NES), espesor de la lámina foliar (ELF), espesor de la epidermis (EEP), espesor de la cutícula (ECT), cantidad de agujones (CAPC), área foliar afectada (AFA), presencia de pústulas (Pust) y tamaño de la pústula mayor (TP_May).

El Cuadro 1 también muestra otras variables que resultaron altamente significativas, el espesor de la cutícula (ECT), espesor de la epidermis (EEP) y número de estomas (NES). Una cutícula más gruesa impide la penetración de los hongos, ya que constituye una barrera morfológica ante el ataque de este tipo de patógenos (Riederer y Müller, 2006), de igual manera ocurre con el espesor de la epidermis.

El espesor de la cutícula de los cultivares, en los tres sitios donde se montaron los experimentos, siempre la más gruesa se encontró en el resistente a la roya (PR980), con relación a los otros dos cultivares que son susceptibles. Esto se muestra en la Fig. 3, donde aparecen los resultados de los análisis estadísticos y las observaciones realizadas al microscopio óptico de la mencionada estructura.

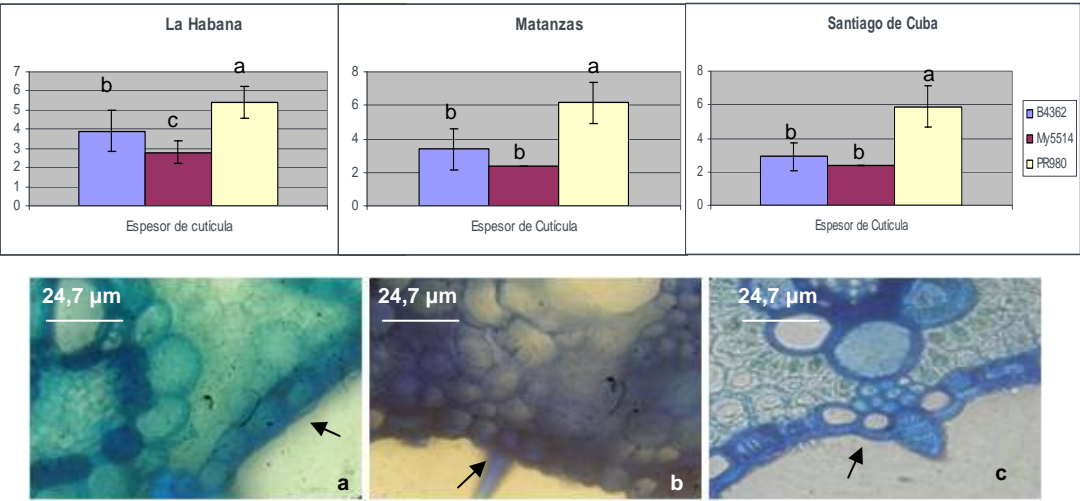


Fig. 3. Espesor de la cutícula en los tres cultivares de caña de azúcar en las regiones analizadas. Imágenes de la cutícula en la epidermis abaxial: a (B4362), b (My5514) y c (PR980).

Según Capote *et. al* (1992) los cultivares susceptibles a roya presentan una densidad estomática mayor en la superficie abaxial de las hojas con relación a los cultivares resistentes, ya que son sitios por donde puede penetrar este hongo.

Al hacer el gráfico de componentes principales (Fig. 4) con todas las variables estudiadas, se puede apreciar que se forman tres grupos bien definidos, que constituyen los tres cultivares. Se observa que existe una pequeña parte de la variedad susceptible dentro de la altamente susceptible, pero estas nunca se acercan a la resistente.

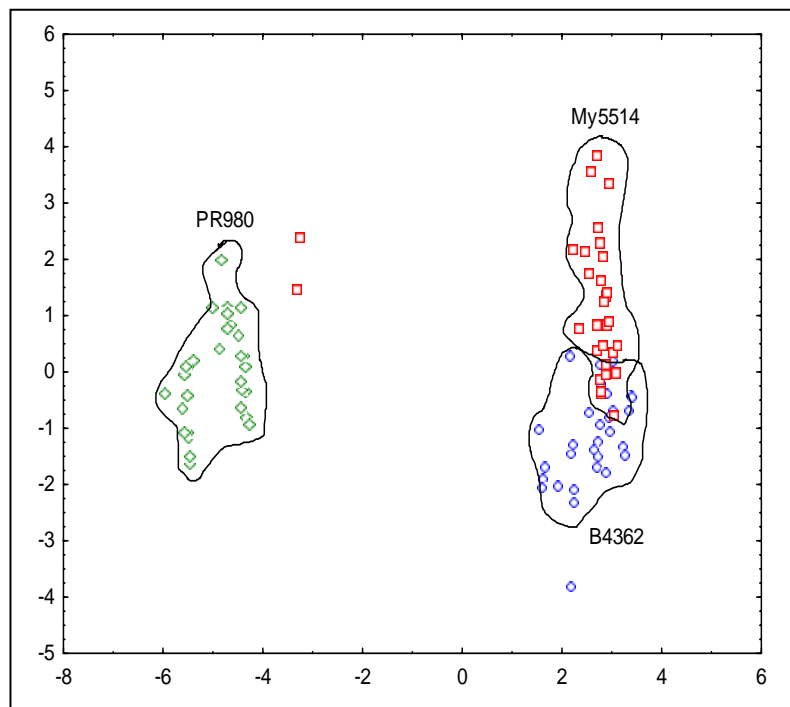


Fig. 4. Gráfico del análisis de componentes principales

Esto se corrobora con las distancias entre los grupos que representan a los cultivares, lo cual se presenta en el Cuadro 2, donde B4362 y My5514 están mucho más cercanos, pero bien alejados de PR980, que se separa completamente.

	Grupo 1 B4362	Grupo 2 My5514	Grupo 3 PR980
Grupo 1 B4362	0,00		
Grupo 2 My5514	5,86	0,00	
Grupo 3 PR980	58,23	55,36	0,00

Cuadro 3. Distancia entre grupos

Todos los resultados obtenidos indican que existen caracteres morfológicos como espesor de la cutícula (ECT), espesor de la epidermis (EEP) y número de estomas (NES) que se asocian a la resistencia de la roya, los cuales tienen la posibilidad de ser empleados como marcadores indirectos de la misma, para así ser utilizados en la selección temprana de cultivares.

Referencias

Alfonso, Isabel. Bases fitopatológicas para el control de la roya de la caña de azúcar en Cuba. Tesis de doctorado, INICA, 92 pp. (1987).

Alfonso, Isabel, González, R., Rodríguez, J., Montalván, J., Alfonso, F. La roya de la caña de azúcar en el programa de obtención y selección de variedades. XV Congreso Científico. III Taller de Mejoramiento y Conservación de Recursos Filogenéticos, INCA, p. 99 (2006).

Capote, M., Pérez, A.M., Pérez, O. Comparación de estructuras morfológicas en hojas de caña de azúcar con diferentes grados de resistencia a la roya. Cuba Azúcar, 1:15-18. (1992).

D' Ambrosio de Argüeso, A. Manual de técnicas en histología vegetal. Ed. Hemisferio Sur Bs. As. Arg. (1999).

Jorge, H., Jorge, Ibis, Rodríguez, Mérida, Bernal, N., García, H. et al. Informe Reunión Nacional de Variedades, Semillas y Sanidad Vegetal de Caña de Azúcar. PUBLINICA. Habana- Cuba. 136 pp. (2010).

Riederer, M., Müller, M. Biología de la cutícula de las plantas. Blackwell, 181 pp (2006)

Rodríguez, J., Rodríguez, Y., Martín, G., Peña, L., Ibarra, J., Daley, L. Recomendaciones para un Manejo Integral más eficiente y sostenible de plagas y enfermedades de la caña de azúcar en la Empresa Azucarera Fernando de Dios. Relevante en XVI Forum Provincial de Ciencia y Técnica. (2005a).

Rodríguez, M., Rodríguez, E., Alfonso, I. SEFIT: premisas para el desarrollo de una agricultura ecológica sostenible en la caña de azúcar Memorias 40 Aniversario del INICA, ISBN 959-246-122-8 (2005b).

Sandoval, Ileana. La roya de la caña de azúcar en Cuba. INISAV, La Habana, Cuba. 30 pp (2001).