

Genealogía de cultivares de caña de azúcar resistentes y susceptibles a la hoja amarilla

Genealogy of resistant and susceptible sugarcane cultivars to the yellow leaf

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

² Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). Carretera CUJAE Km 1 1/2. Boyeros, C.P. 19390. La Habana, Cuba

³ Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar Oriente-Sur. Palma Soriano, Santiago de Cuba, Cuba

E-mail: subdfito@epica.vc.azcuba.cu; mesa@inica.azcuba.cu; lao@inica.azcuba.cu; 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) para diagnosticar por el 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 y 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. 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.

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

ABSTRACT. This work was done at the seedbank of Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). The objective was to diagnose the presence of the *Sugarcane yellow leaf virus* (SCYLV) by serological method. The pedigree of commercial cultivars and ancestor lines, that are part of the genetic base of the cultivated sugar cane in Cuba, were traced back. In this way, a possible selection for resistance to SCYLV was determined in the breeding program. The presence of this disease symptoms was evaluated in 27 cultivars exploded during 1965 to 2008, and in 37 ancestor lines. In the evaluated collection, 18 ancestors with possible resistance to SCYLV were identified. 45,45% of the commercial cultivars more exploited during 1965 to 1999, and 81,25% from 2000 up to date, were infected by SCYLV. These high ratings may be linked to the fact that breeding programs developed previously in the country, did not include the resistance to this virus. It was observed that the cultivars B77418, B63118, C323-68, C89-176 and My5514 were tested negative not only for the symptoms but also to the presence of SCYLV virus, and they could be candidates for resistant parents to this disease.

Key words: sugar cane, yellow leaf, resistance.

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar (*Saccharum* spp.) es un importante cultivo tropical que suministra el 70 % del azúcar que se consume en el mundo (Le Cunff *et al.*, 2008). Además, ofrece grandes posibilidades para ser utilizada como forraje verde en la alimentación de rumiantes debido a la alta

digestibilidad de la fibra (Jorge *et al.*, 2002). Adicionalmente este cultivo adquiere importancia en los últimos años, debido a su uso en la obtención de biocombustible (Arruda, 2011) y la cogeneración de electricidad. (Izquierdo *et al.*, 2013)

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. (D'Hont, 2005)

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 (Chinea et al., 2012; Izquierdo et al., 2013). Este virus pertenece al género *Polerovirus*, familia *Luteoviridae* (D'Arcy y Dormier, 2005). Su propagación por el mundo probablemente ocurrió durante los programas de intercambio del germoplasma internacional. (Rott et al., 2007)

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) (Hernández et al., 1999), Hyperutri-Rhodic Ferrasol (FAO-UNESCO, 1988) o Rhodic Eustrtox (Soil Survey Staff, 2003), 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

Los síntomas que produce este virus, fueron informados por primera vez en Hawaii en 1989 (Schenck y Hu, 1991). En Cuba se ha confirmado su presencia desde 1999. (Arocha et al., 1999; Aday et al., 2011)

Estudios realizados por Komor (2010) 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; e investigar la genealogía de cultivares comerciales, para determinar dónde pueden estar las fuentes de resistencia a esta enfermedad.

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. (Puchades et al., 2011)

Para la observación de los síntomas de la enfermedad, cada ancestro fue evaluado en una parcela de tres metros lineales. Primeramente se realizó una evaluación general de los síntomas en la población existente en cada caso, con el empleo de la escala descrita por Chinea et al., (2008) (Tabla 1) según las normas y procedimientos de evaluación de enfermedades en Cuba descritos por Jorge et al. (2011)

Tabla 1. Escala de cuatro grados para evaluar la severidad del síntoma de hoja amarilla de la caña de azúcar en Cuba

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.

Posteriormente el diagnóstico de SCYLV fue realizado a través de la detección serológica por impresión en membrana de nitrocelulosa o Inmunoimpresión de Tejidos (Tissue blot immunoassay o TBIA) según Schenck et al. (1997).

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) a la que después de separarle el raquis de la lámina de la hoja (nervadura central

de la hoja), se le realizó un corte transversal en el primer tercio basal del raquis con una cuchilla afilada, y se imprimió firmemente en una membrana de nitrocelulosa. El revelado serológico, se realizó con

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio fue asumido que los individuos infectados por el virus son susceptibles. Los individuos resistentes son los 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 mostrados síntomas y resultaron negativos a SCYLV por la prueba de TBIA. De acuerdo con los criterios de Komor (2010), 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. 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 infectados por SCYLV [B (30)-L-7, B6368, C15794, Co213, Co214, Co244, Co290, Co331, Co453, Loethers, POJ2364 y US1694] (Tabla 2). Comstock *et al.* (2005) en Florida, Estados Unidos, también determinaron la susceptibilidad de Co213 y coinciden con Komor (2010) 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 pero resultaron negativos por TBIA, esto puede estar relacionado con varios factores tanto abióticos como bióticos (Zardón *et al.*, 2012) o a bajas concentraciones de virus en las muestras probadas (falso negativo)

En relación a estos resultados, Comstock *et al.* (2005) determinaron que NCo310 y POJ100 son susceptibles a la enfermedad; por otro lado, estos autores determinaron la resistencia del ancestro Kassoer. Las investigaciones de Komor (2010), sobre este tema, identificaron a los ancestros Mandalay y 96NG15 (Badila) como susceptible y resistente a SCYLV, respectivamente.

el anticuerpo específico desarrollado por B. E. Lockhart, Universidad de Minnesota (Minneapolis), según Schenck *et al.* (1997).

Al considerar los resultados anteriores y la referencia bibliográfica citada, se identificaron 16 ancestros con posible resistencia a SCYLV (Tabla 2). Cada uno de ellos puede 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 al origen y 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)

De los cultivares comerciales estudiados que fueron explotados fundamentalmente entre 1965 y 1999, el 45,45 % se encontró infectado por SCYLV (Tabla 3), algunos de ellos en estado asintomático. La mayoría 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. Del grupo

de cultivares comerciales más explotados en la etapa desde el año 2000 hasta la fecha, 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) por lo que podrían ser evaluados en la búsqueda de marcadores moleculares y genes asociados con la resistencia a SCYLV. Del mismo modo deben ser considerados los cultivares no infectados C323-68 y C89-176; aunque en ambos casos el progenitor masculino es susceptible y se desconoce la resistencia del femenino (no evaluado)

Tabla 2. 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

Tabla 3. 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	-
B83118	1	-	C87-51	4	+
Ja80-5	3	+	C323-68	2	-
Ja84-19	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 la infección, 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. También el cultivar CB44-52 no se determinaron síntomas ni infecciones por SCYLV, pero no es un buen candidato ya que sus padres son susceptibles al 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. Asimismo 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;

mientras que 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 sobre 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 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.

CONCLUSIONES

1. En la colección de germoplasma en Cuba existen 16 ancestros con posible resistencia a SCYLV.
2. El 55 % de los ancestros evaluados en este estudio mostraron susceptibilidad a la infección por el virus.
3. 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.
4. 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.
5. Los cultivares B77418, B63118, C323-68, C89-176 y My5514 son candidatos a progenitores resistentes a esta enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aday, de la C. O.; A. China; J.M. Mesa; María La O Hechavarría; María Zardón; F.R. Díaz; H. Jorge; I. Delgado; L.F. Machado; Susana Reyes; J. Barroso; Ailyn Gallardo: "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): 195-204, 2011.
2. Arocha, Yaima; L. González; Esther L. Peralta; P. Jones: "First report of virus and phytoplasma pathogens associated with Yellow Leaf Syndrome of sugarcane in Cuba". *Plant Disease* 83: 1171, 1999.
3. Arruda, P: "Perspective of the sugarcane industry in Brazil". *Tropical plant biology*, 4: 3-8, 2011.
4. China Martín, A.; E. Rodríguez; G. Pérez; A. China Horta; Y. Pérez: "Actualización del inventario de enfermedades de la caña de azúcar detectadas en Cuba". *Revista ATAC*, No. 1, enero-abril: 33-37, 2012.
5. 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 Jubille Congress*, Guatemala, January 30 - February 4, 2005.
6. D'Arcy, C.J.; L.L. Domier: "Luteoviridae". In: "Virus Taxonomy. VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses". C.M. Fauquet; M.A. Mayo; J. Maniloff; U. Desselberger and L.A. Ball (Eds). *Elsevier Academic Press*, New York, USA, 2005: pp. 891-900.
7. D'Hont, A.: "Unraveling the genome structure of polyploids using FISH and GISH: examples of sugarcane and banana". *Cytogenetic and Genome Research*, 109: 27-33, 2005.
8. FAO-Unesco: "Soils of the World". Revised Legend. FAO, Rome, 1988: 119 p.

9. Hernández, A.; J.M. Pérez; D. Bosch; L. Rivero: "Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba". Edit. AGRINFOR, Ciudad Habana, Cuba, 1999: 64 p.
10. Izquierdo, P.; A. Gutiérrez; J.I. Victoria; M.C. Ángel and J. López: "Molecular markers associated with resistance to *Sugarcane yellow leaf virus*". *Proceedings International Society Sugar Cane Technologists*, Vol. 28: 10 p., 2013.
11. Jorge, H.; Ibis M. Jorge; J.M. Mesa y N.A. Bernal: "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.
12. Jorge, H.; O. Suárez; H. García; I. Santana y Ibis M. Jorge: "Variedades de caña de azúcar para la alimentación del ganado vacuno. *Memorias del 48 Congreso de la ATAC*, La Habana, Cuba, 2002: 6 p.
13. 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): 379-388, 2010.
14. Le Cunff, L.; O. Garsmeur; L.M. Raboin: "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: 649-660, 2008.
15. Puchades, Y.; R. Rodríguez; J. Arteche; N. Bernal; H. Jorge y M.T. Cornide: "Base genética de los cultivares de la caña de azúcar, explotados comercialmente en Cuba entre 1965 y 2008". *Revista Cuba & Caña*, Nro. 1: 37-53, 2011.
16. Rott, P.; J.C. Comstock; B.J. Croft; A. Kusalwong and S.A. Saumtally: "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.
17. Schenck, Susan; J.E. Hu: "Update on the cause of the sugarcane yellow leaf syndrome". *Proceedings Hawaiian Sugar Technologists Association*, 1991: 45-49.
18. Schenck, Susan; J.S. Hu and B.E.L. Lockhart: "Use of a tissue blot immunoassay to determine the distribution of *Sugarcane yellow leaf virus* in Hawaii". *Sugar Cane*, 4: 5-8, 1997.
19. Soil Survey Staff: "Keys to Soil Taxonomy". USDA, Ninth Edition, 2003: 332 p.
20. Zardón, María A.; Araíz Gallo; J.M. Mesa; A. Arencibia; Loidy Zamora; Yamila Martínez; M. Sautié; M.A. Casas; María La O. Hechavarría: "Detección de infecciones mixtas en genotipos de caña de azúcar en Cuba". *Revista Protección Vegetal*, Vol. 27 (2): 77-84, 2012.

Recibido:07/11 /2012

Aceptado:13 /09 /2013