

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Evaluación de la resistencia a roya parda de la caña de azúcar en Cuba

Evaluation of sugarcane brown rust resistance in Cuba

Joaquín Montalván Delgado, Isabel Alfonso Terry, Eida Rodríguez Lema, Yaquelín Puchades Izaguirre, José Rodríguez Zayas, Osmany Aday Díaz, Omelio Carvajal Jaime y Javier Delgado Padrón

Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). Carretera al Central Manuel Martínez Prieto, Km 2½, Edificio IPROYAZ, Boyeros, Ciudad de La Habana, Cuba. CP 19390

E-mail: jmontalvan@eticacm.azcuba.cu

RESUMEN

En Cuba, la metodología que se utiliza al evaluar la resistencia a la roya parda (*Puccinia melanocephala* Sydow and P. Sydow) de la caña de azúcar, adolece de aspectos cuantitativos, así como de la definición de localidades representativas para las pruebas de resistencia y presenta limitada dotación de patrones. Para establecer nuevos criterios que contribuyan al perfeccionamiento del Sistema Evaluativo de Resistencia a la Roya Parda en el Programa de Mejoramiento de la Caña de Azúcar se estudiaron, durante el periodo 2007- 2015, seis patrones de reacción conocida y 11 cultivares comerciales, en las seis localidades de prueba del Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). Se registraron las variables, largo, cantidad y porcentaje de área foliar ocupada por pústulas, además del largo de la pústula mayor. Se ratificaron las seis localidades de prueba de resistencia. Las evaluaciones se deben realizar en el tercio medio de la hoja +3 de diez plantas, a los tres y cinco meses de edad, con una escala de evaluación que contiene nuevos criterios cuantitativos (área con pústulas y largo de la pústula mayor). Se incluyen como patrones los cultivares SP70-1284, C88-380 y C323-68. Se reclasifican C334-64, Ja60-5 y B4362. Se modifica la metodología de evaluación de la roya parda de la caña de azúcar en Cuba y se propone una nueva escala de evaluación de la enfermedad.

Palabras clave: área afectada, pústula, *Puccinia melanocephala*, resistencia, *Sacharum* spp.

ABSTRACT

In Cuba, the methodology used for the evaluation of resistance to sugarcane brown rust (*Puccinia melanocephala* Sydow and P. Sydow) lacks quantitative aspects, as well as the definition of representative localities for resistance tests and has limited patterning. In order to establish new evaluation criteria that contribute to the improvement of the Evaluative System of the Resistance to the brown rust in the Program of Improvement of the Sugar Cane in Cuba, during the 2007 – 2015, six patterns of known reaction and 11 commercial cultivars were study in 6 localities. The variables length, quantity and percentage of leaf area occupied by pustules and length of the major pustule were recorded. The six localities of resistance test were ratified and the evaluations must be carried

out in the middle third of the leave +3 of ten plants at three and five months of age, with an evaluation scale with new quantitative criteria (area occupied by pustules and length of the major pustule). Cultivars SP70-1284, C88-380 and C323-68 are included as standards. C334-64, Ja60-5 and B4362 are reclassified. The methodology for evaluating the brown rust of sugarcane in Cuba is modified and a new scale of evaluation of the disease is proposed.

Keywords: affected area, pustule, *Puccinia melanocephala*, resistance, *Sacharum* spp.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad roya parda de la caña de azúcar, ampliamente distribuida en casi todas las áreas cañeras del mundo (Muhammad y col., 2013; China y col., 2014), es causada por el hongo fitopatógeno *Puccinia melanocephala* Sydow & P. Sydow y está considerada entre las de mayor importancia por su afectación al cultivo (Peixoto y col., 2014). En la lucha contra esta enfermedad, el uso de cultivares resistentes, es la medida de control más efectiva, de ahí la importancia de contar con herramientas adecuadas (como escalas y metodologías de evaluación) para determinar la reacción de los mismos ante este patógeno (INICA, 2011; Stringer y col., 2013; Glaz y col., 2014; Zhao y col., 2015).

Es por ello que el objetivo de este trabajo, fue realizar ajustes a la metodología para la evaluación de resistencia a roya parda de la caña de azúcar en Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante el periodo 2007-2015 se realizó un experimento, replicado en seis Estaciones Experimentales (Quivicán, Jovellanos, Ranchuelo, Florida, Guaro y Palma Soriano), con la finalidad de realizar nuevos ajustes a la metodología actual de evaluación a la roya parda de la caña de azúcar. Se plantaron 11 cultivares (actualmente en explotación comercial) que representaban en diciembre 2015 el 46,30 % del área cañera nacional (INICA, 2016). Los cultivares seleccionados fueron: C1051-73, C132-81, C266-70, C323-68, C86-12, C86-503, C86-56, Co997, C88-380, C90-530 y SP70-1284. Además, se utilizaron como patrones de resistencia a la enfermedad para los ensayos en foco de infección los cultivares PR980 (AR), Ja64-11 (R) C334-64 (MR), Ja60-5 (S), My5514 (S) y B4362 (AS) (INICA, 2011).

Se utilizó un diseño experimental de bloque al azar con tres réplicas y se estudiaron las cepas en planta y retoño. Las evaluaciones fueron

realizadas sobre las hojas +1, +3 y +5 a los tres, cuatro, cinco, seis y nueve meses del cultivo. Se tomaron en cada réplica 2 cm² del tercio medio de cada hoja a 10 plantas. Se utilizó para ello una lupa graduada a 2 cm² (Tamayo, 2010). Los parámetros evaluados fueron cantidad de pústulas (CPUST), largo de la pústula más frecuente (LPUST), largo de la pústula mayor (LPM) y porcentaje de área ocupada por pústulas en los 2 cm² (PAOPUST).

Los datos se procesaron mediante análisis de varianza y prueba Tukey. Además, se usó el análisis factorial discriminante para determinar la importancia de las localidades y las edades óptimas de evaluación. Al definir la reacción de los cultivares y patrones, se aplicó el análisis de conglomerados con todas las variables estudiadas, según el método del vecino más cercano y la distancia Euclidiana. Los nuevos cultivares patrones fueron definidos a través de la comparación de los grupos formados por el Análisis de Conglomerados y los cultivares patrones de resistencia establecidos en las Normas Metodológicas (INICA, 2011).

Adicionalmente, se realizó un análisis de varianza de clasificación simple y pruebas de Tukey a los grupos aportados por el dendrograma, para las variables CPUST, LPUST, LPM y PAOPUST, y estableció un intervalo, con los valores máximos de estas para cada patrón. Eso permitió establecer una propuesta de rangos de reacción frente a la enfermedad que contribuyó a realizar nuevos ajustes a la metodología y escala actual, con la utilización de variables cuantitativas y tangibles.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis discriminante para las localidades mostró el 87,25 % de buena clasificación (Tabla 1), esto denota la importancia que tiene cada localidad de estudio, en la clasificación de cultivares, ya que en cada centros de prueba se

Tabla 1. Porcentaje de clasificación aportado por el análisis discriminante para las localidades

	Porcentaje de buena clasificación	Clasificados según modelo					
		Quivicán	Jovellanos	Ranchuelo	Florida	Guaro	Palma Soriano
Quivicán	78,62	401	0	0	41	67	1
Jovellanos	91,96	0	469	0	0	0	41
Ranchuelo	96,07	0	5	490	3	10	2
Florida	84,12	29	0	0	429	13	39
Guaro	83,72	38	0	0	4	427	41
Palma Soriano	89,02	28	0	0	28	0	454
Total	87,25	496	474	490	505	517	578

evalúan materiales diferentes. Por eso se sugiere mantener las seis localidades para realizar pruebas de resistencia y utilizar Quivicán, Ranchuelo, Florida y Palma Soriano para validar los cultivares de reacción susceptible.

Estos resultados corroboran lo expresado por Infante y col. (2009) cuando enuncian que la interacción genotipo-ambiente es un problema muy específico, por lo que se debe tener precaución al hacer generalizaciones de los casos. La interacción genotipo-ambiente es un fenómeno universal, que está presente en todos los estudios experimentales y durante todas las etapas de selección de cultivares, con las consecuencias generales y particulares de cada caso. Igualmente, Xavier y col. (2013) sugieren que para definir la reacción de los cultivares frente a la roya parda de la caña de azúcar estos deben ser evaluados en distintas localidades, ratificando

su categoría de resistencia para diferentes niveles de infección.

Al analizar las edades de evaluación con relación a las variables estudiadas (Figura 1), se pudo apreciar la tendencia a la disminución de los valores a partir de la máxima expresión a los cinco meses, disminuyendo gradualmente al incrementarse la edad del cultivo. Los conteos de pústulas a los tres y nueve meses resultaron inferiores a los efectuados en las restantes evaluaciones; esto no implica la exclusión de la primera evaluación debido a que a esa edad la planta es suficientemente joven para que el patógeno se establezca en su tejido foliar.

Las mayores manifestaciones de la enfermedad se presentan a los 150 días de edad del cultivo, pero disminuyen las afectaciones en edades superiores a los seis meses. Según Infante y col. (2009), varios autores hacen alusión a la relación

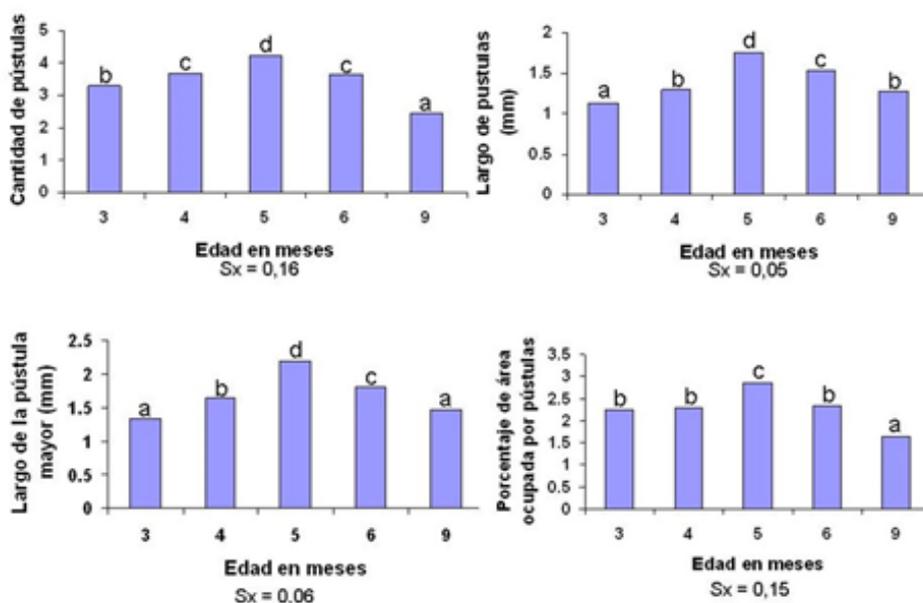


Figura 1. Variables analizadas en las diferentes edades durante la cepa de caña planta

*Letras desiguales difieren al $p \leq 0,01$

de la edad con la manifestación de la enfermedad y expresan que las plantas jóvenes (de dos a seis meses) son más sensibles, por lo que a menudo la severidad disminuye con la edad.

Los resultados obtenidos son similares a los logrados anteriormente en Cuba y otros países cañeros, ratificando que el periodo de máxima manifestación de la enfermedad coincide con las edades comprendidas entre los tres y cinco meses. Esto permite dirigir las evaluaciones de roya parda de la caña de azúcar hacia este periodo de desarrollo fenológico del cultivo e introducir adecuaciones a las metodologías actuales de evaluación. La tabla 2 muestra los resultados del análisis discriminante para las diferentes edades de evaluación, manifestando que el porcentaje de buena clasificación para las edades tres, cinco y nueve meses son las mejores clasificadas, sin existir grandes diferencias entre las dos últimas edades. Esto confirma lo expuesto anteriormente, al considerar que con las evaluaciones a los tres y cinco meses de edad se puede llegar a conclusiones satisfactorias de la reacción ante la enfermedad, y descartar los nueve meses porque, aunque se aprecia un 92,32 % de buena clasificación, no aporta nuevos elementos al manifestar afectaciones inferiores todos los individuos.

Los resultados obtenidos aportan nuevos elementos a las metodologías actuales de evaluación al simplificar las evaluaciones a solo dos. Se sugiere eliminar las de los cuatro, seis y nueve meses de edad del cultivo, lo que significa ahorro de recursos e incrementa la eficiencia del sistema evaluativo. Al analizar el análisis de conglomerado (Figura 2), se observa la formación de siete grupos, lo que permite realizar una clasificación correcta de los individuos.

Los cultivares My5514, C323-68 y Ja60-5 reaccionan como susceptibles ante la enfermedad roya parda de la caña de azúcar, pero con diferentes

intensidades de afectación, lo que posibilita su inclusión como patrones, aunque en diferentes categorías. El cultivar C334-64 y C88-380 presentan reacción moderadamente susceptible, y SP70-1284 moderadamente resistente, por lo que deben ser incluidos como nuevos patrones, pues mantuvieron similar respuesta, con valores próximos a la media general.

Estos resultados devienen en un perfeccionamiento de las metodologías actuales al contar con un mayor número de patrones, lo que permite mejorar la caracterización y clasificación en lo referente a la reacción de los cultivares frente a esta enfermedad. Al analizar los resultados, para la conformación de la escala, se tuvo en cuenta, los valores máximos obtenidos por los patrones de reacción estable en las distintas variables a considerar en las evaluaciones (Tabla 3 y 4).

La integración de los resultados obtenidos durante el proceso de investigación permite realizar modificaciones a la metodología actual. Las enmiendas que se sugieren a la misma se reflejan en la siguiente propuesta.

Propuesta de nueva metodología para la evaluación de roya parda de la caña de azúcar en las etapas finales del esquema de obtención de cultivares en Cuba

Los experimentos se desarrollarán en Quivicán, Jovellanos, Ranchuelo, Florida, Guaro y Palma Soriano, durante el período comprendido entre los meses de septiembre a octubre, paralelo al desarrollo de los estudios replicados de ciclo de frío. De esa manera se hace coincidir las condiciones favorables del desarrollo de la enfermedad con la etapa de mayor susceptibilidad de la planta.

Se utilizará un diseño experimental de bloques al azar con tres réplicas. Cada parcela contará con 9,60 m² (un surco de seis metros de longitud y 1,60 de ancho) por réplica. Los genotipos se

Tabla 2. Porcentaje de clasificación aportado por el análisis discriminante para las edades de evaluación

Edades (meses)	Porcentaje de buena clasificación	Clasificados según modelo (meses)				
		Tres	Cuatro	Cinco	Seis	Nueve
Tres	76,96	471	134	7	0	0
Cuatro	45,42	159	278	131	44	0
Cinco	90,52	0	0	554	57	1
Seis	66,50	21	104	80	407	0
Nueve	92,32	0	0	0	47	565
Total	74,35	651	516	772	555	566

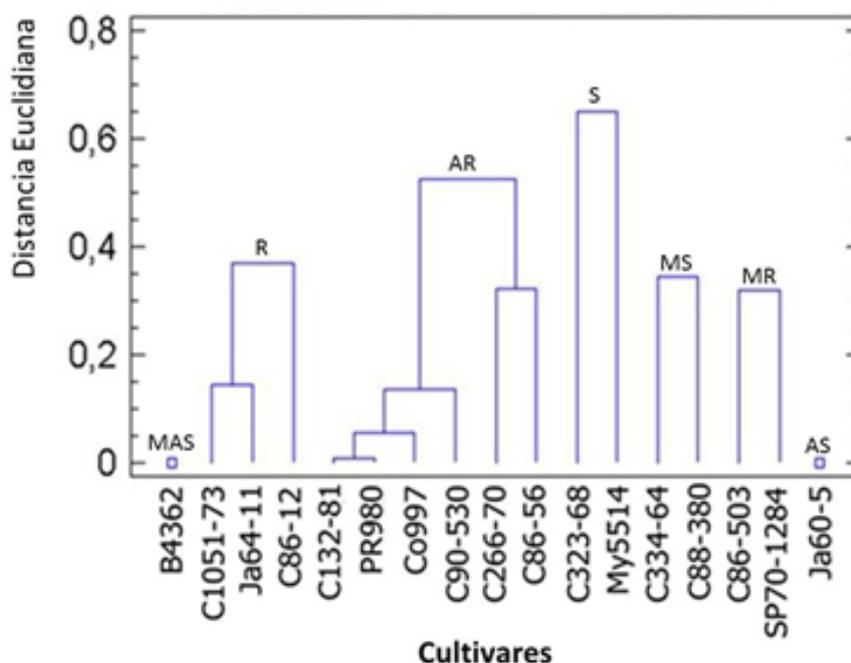


Figura 2. Grupos formados según la reacción de los cultivares evaluados

Los patrones utilizados en las metodologías actuales para las pruebas de resistencia frente a la roya parda de la caña de azúcar PR980 (AR), Ja64-11 (R) y My5514 (S) mantuvieron su reacción ante la enfermedad (INICA, 2011). Los cultivares C334-64 (MR), Ja60-5 (S), y B4362 (AS), utilizados como MR, S y AS se reclasifican como MS, AS y MAS respectivamente. El grupo con las menores afectaciones quedó conformado por C1051-73, C132-81, C266-70, C86-12, C86-56, C90-530 y Co997, así como los patrones de marcada resistencia a la enfermedad PR980 y Ja64-11.

Tabla 3. Rangos de afectación de las distintas variables en los cultivares patrones

Patrón	Cepa caña planta				Cepa retoño			
	PAOPUST	LPM	CPUST	LPUST	PAOPUST	LPM	CPUST	LPUST
PR980	0,26	0,79	1,18	0,40	0,08	0,42	0,40	0,42
Ja64-11	1,05	1,33	8,22	0,78	3,89	2,47	15,5	2,44
SP70-1284	6,00	3,33	12,00	2,47	3,59	3,05	8,78	2,34
C334-64	4,79	5,11	15,00	3,11	6,69	4,72	30,33	3,50
C88-380	5,20	3,89	16,00	2,56	5,30	3,20	23,22	2,89
My5514	7,49	6,77	24,00	3,79	9,21	6,11	15,61	5,43
C323-68	11,72	6,05	21,00	3,83	10,37	5,67	12,88	4,00
Ja60-5	19,64	5,05	32,83	4,28	8,55	5,60	32,50	5,43
B4362	48,78	10,00	31,94	7,94	28,38	10,78	24,22	7,47

Leyenda: PAOPUST: Porcentaje de área ocupada por pústulas; LPM: Largo de la pústula mayor; CPUST: Cantidad de pústulas; LPUST: Largo de la pústula más frecuente

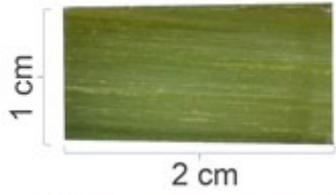
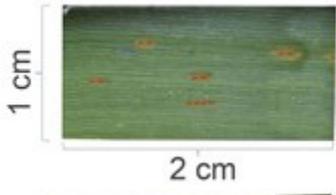
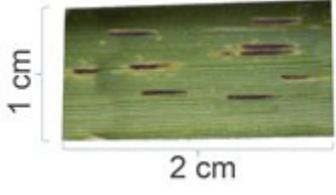
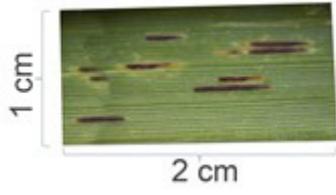
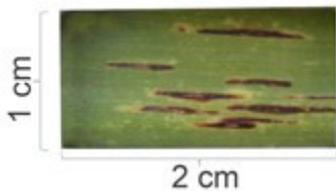
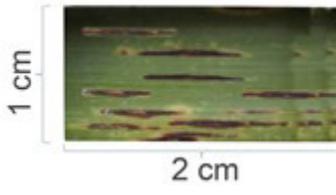
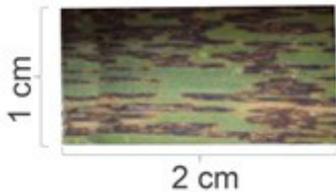
distribuyen al azar, cada dos cultivares y en los bordes, se planta el patrón B4362 para incrementar y homogeneizar la presión de inóculo.

Se utilizan como cultivares patrones de resistencia PR980 (AR), Ja64-11 (R), SP70-1284 (MR), C334-64 y C88-380 (MS), My5514 y C323-68 (S), Ja60-5 (AS) y B4362 (MAS), ubicados de forma aleatoria, como el resto de los cultivares. Las evaluaciones serán en los plantones centrales de cada surco, en la hoja +3

(tercer hoja con cuello visible), de 10 plantas, a los 3 y 5 meses de edad durante la cepa de caña planta.

Se utiliza una estación de muestreo de 2 cm² en el tercio medio de la hoja y determina la cantidad de pústulas, el largo medio de la pústula más frecuente y el largo de la pústula mayor. Estos datos permitirán realizar el cálculo del área ocupada por pústulas mediante la siguiente ecuación:

Tabla 4. Propuesta de Escala para la Evaluación de la Roya Parda en el Programa de Mejoramiento de la Caña de Azúcar en Cuba

GRADO	CATEGORÍA	SÍNTOMAS	
1	AR (Altamente resistente)	Síntomas poco visibles, presencia de clorosis y necrosis. Pueden presentarse pústulas de hasta 1 mm de largo que ocupan menos del 1 % del área foliar de 1 cm ² . Patrón PR980	
2	R (Resistente)	Presencia de puntos cloróticos y necróticos. Pústulas de 1,10 a 3 mm de largo, que pueden estar rodeadas de clorosis y ocupar de 1,10 al 4 % del área foliar de 1 cm ² . Patrón Ja64-11	
3	MR (Moderadamente Resistente)	Presencia de clorosis, necrosis y pústulas de 3,10 a 4 mm que pueden ocupar de 4,10 a 6 % del área foliar de 1 cm ² . Patrón SP70-1284	
4	MS (Moderadamente Susceptible)	Presencia de pústulas de 4,10 a 6 mm de largo que generalmente se encuentran rodeadas de un halo clorótico. También pueden presentarse en áreas necróticas. Las pústulas pueden ocupar de 6,1 a 7 % del área foliar de 1 cm ² . Cultivares patrones C334-64 y C88-380	
5	S (Susceptible)	Pústulas de 5,10 a 7 mm de largo rodeadas o no de área clorótica. Puede aparecer necrosis alrededor de las pústulas, las que pueden ocupar de 7,10 a 12 % del área foliar de 1 cm ² . Cultivares patrones My5514 y C323-68	
6	AS (Altamente Susceptible)	Pústulas de 5,10 a 7 mm de largo rodeadas o no de área clorótica. Puede aparecer necrosis alrededor de las pústulas, las que pueden ocupar de 12,10 a 20 % del área foliar de 1 cm ² . Patrón Ja60-5	
7	MAS (Muy Altamente Susceptible)	Pústulas mayores de 7 mm de largo que pueden unirse formando parches. Puede producirse amarillamiento y necrosado del área foliar. El porcentaje ocupada por pústula es mayor al 20 % del área foliar de 1 cm ² . Patrón B4362	

$$Pústulas / cm^2 (\%) = \frac{CPUST * LPUST * 0,38}{2} \quad (1)$$

(Montalván y col., 2017)

- Pústulas / cm² (%) = Área ocupada por las pústulas en cada cm²
- CPUST = Número de pústulas en los 2 cm²
- LPUST = Longitud de la pústula más frecuente en la muestra (mm)
- 0,38 = Ancho medio en mm de la pústula

Para definir la reacción de los cultivares se utilizará la escala propuesta. Además, se realizará una regresión lineal con los valores esperados y reales de los patrones para descartar la posible influencia del ambiente, lo que permite brindar un resultado más confiable de la reacción ante la enfermedad del material que se evalúa.

La aceptación o rechazo del material evaluado depende del grado de reacción:

- Aceptar todos los cultivares AR y R
- Los cultivares MR y MS que se seleccionen deben ser manejados adecuadamente
- Para definir la reacción de los cultivares S con perspectivas comerciales, estos deben ser probados en Quivicán, Ranchuelo, Florida y Palma Soriano, posteriormente debe trazarse la estrategia de manejo donde la prevalencia de la enfermedad sea baja
- Rechazar todos los cultivares AS y MAS

La aceptación de cultivares S, MR y MS en la metodología propuesta está condicionada a un correcto manejo de los mismos y permite en un entorno de resistencia, el cultivo y explotación de los comprendidos en esta categoría que manifiesten un alto potencial agroproductivo.

CONCLUSIONES

Las localidades de Quivicán, Jovellanos, Ranchuelo, Florida, Guaro y Palma Soriano son útiles para evaluar la resistencia a la roya parda de la caña de azúcar.

Excepto Jovellanos y Guaro, las localidades se proponen para definir los cultivares MR, MS y S.

Las edades óptimas para evaluar la reacción de los cultivares ante la enfermedad son a los tres y cinco meses de edad del cultivo, período en el

que se presentan las mayores manifestaciones de los síntomas.

Se perfecciona la metodología, mediante el uso de una escala cuantitativa de 7 grados para evaluar la resistencia a la roya parda de la caña de azúcar, donde se reafirman los patrones actuales e incorporan SP70-1284 (MR) y C88-380 (MS). Se reclasifican My5514 y C323-68 como (S), Ja60-5 (AS) y B4362 (MAS).

Se recomienda incorporar la metodología propuesta, como parte de las Normas y Procedimientos del Programa de Mejoramiento de la Caña de Azúcar en Cuba, para la evaluación de la resistencia a la roya parda de la caña de azúcar de los cultivares obtenidos por el proceso de mejora.

BIBLIOGRAFÍA

- CHINEA, A., ACEVEDO, R., RODRÍGUEZ, E. y LA O, M. 2014. Enfermedades de la caña de azúcar y evolución de las técnicas para su detección y diagnóstico en Cuba. Memorias del evento por el 50 aniversario del INICA. La Habana, Cuba, pp. 41-47.
- GLAZ, B., EDME, S., DAVIDSON, R., SOOD, S., ZHAO, D., GILBERT R. A. (*et al.*). 2014. Evaluation of new Canal Point Sugarcane Clones: 2011- 2012 Harvest, ARS -175. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington D.C., EE.UU., 46 p.
- INFANTE, D., MARTÍNEZ, B., GONZÁLEZ, E. y GONZÁLEZ, N. 2009. *Puccinia kuehni* (Krüger) Butler y *Puccinia melanocephala* H. Sydow & P. Sydow. en el cultivo de la caña de azúcar. *Rev. Protección Veg.*, 24 (1): 22-28.
- INICA. 2011. Normas y Procedimientos del Programa de Mejoramiento Genético de la Caña de Azúcar en Cuba. PUBLINICA, La Habana, Cuba. 346 p.
- INICA. 2016. XXIII Reunión Nacional de Variedades, Semilla y Sanidad Vegetal. 26-27 abril. Revista Cuba & Caña, (Suplemento Especial): 49 pp. ISSN 1028 -6527.
- MONTALVÁN, J., RODRÍGUEZ, J., ALFONSO, I., RODRÍGUEZ, E., POUZA, I. ADAY, O. (*et al.*). 2017. Aplicación de variables cuantitativas en el método de muestreo para evaluar la roya

- parda de la caña de azúcar. *Revista Centro Agrícola*, 44 (1): 63-70.
- MUHAMMAD, K., AFGHAN, S., PAN, Y., and IQBAL, J. 2013. Genetic variability among the brown rust resistant and susceptible genotypes of sugarcane by RAPD technique. *Pak. J. Bot.*, 45 (1): 163-168.
- PEIXOTO, R., JUNIOR, F., CRESTE, S., LANDELL, M., NUNES, D., SANGUINO, A., CAMPOS, M. (et al.). 2014. Genetic diversity among *Puccinia melanocephala* isolate from Brazil assessed using simple sequence repeat markers. *Genet Mol Res*, 13 (3): 7852-63.
- STRINGER, J., CROFT, B., DEAMANO, E. AND BHUIYAN, S. 2013. Analysis of sugarcane disease screening trial over years with a mixed models to improve ratings of varieties. *Proc. Int. Soc. Sugarcane Technol.*, Vol 28.
- TAMAYO, M. 2010. Perfeccionamiento metodológico para evaluar roya parda *Puccinia melanocephala* Sydow & P. Sydow en caña de azúcar. Tesis Presentada en opción al título académico de Máster en Sanidad Vegetal. Mención Fitopatología. Universidad Agraria de la Habana, Mayabeque, Cuba. 80 p.
- XAVIER, M.A., LANDELL, M.G.A., FIGUEREIDO, P. and PINTO, L.R. 2013. Brown rust (*Puccinia melanocephala*) incidence in sugarcane families in Sao Paulo State, Brazil. *Proc ISSCT XXVIII Congress*. Vol 28, 3 p.
- ZHAO, D., WAYNE-DAVIDSON, R., BALTAZAR, M., COMSTOCK, J. C., McCORD, P. and SOOD, S. 2015. Screening for Sugarcane Brown Rust in the Firts Clonal State of the Canal Point Sugarcane Breeding Program. *Agronomy*, 5 (3): 341- 362.

Recibido el 14 de marzo de 2017 y aceptado el 12 de febrero de 2018