

**RESISTENCIA AL VIRUS DE LA HOJA AMARILLA EN LA BASE GENÉTICA DE LA
CAÑA DE AZÚCAR**
RESISTANCE TO YELLOW LEAF VIRUS IN THE GENETIC BASE OF THE SUGARCANE

Osmany de la C. Aday Díaz, María de la Luz La O Hechavarría, María de los Ángeles Zardón Navarro, Eida Rodríguez Lema, José María Mesa López, Yaquelin Puchades Izaguirre, Félix René Díaz Mujica.

Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). Carretera CUJAE Km 1 ^{1/2}. Boyeros, C.P. 19390. La Habana. Cuba. e-mail: subdfito@epica.vc.azcuba.cu.

Resumen

Se evaluó en la Colección de Germoplasma de la caña de azúcar del INICA, Cuba, la infección por el *Virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar* (SCYLV) en individuos procedentes de cruces biparentales y en los progenitores existentes; también la infección por este virus en ancestros de contribución genética en el programa de mejora de la caña de azúcar en el país. El diagnóstico se realizó a través de la detección serológica por impresión en membrana de nitrocelulosa o Inmunoimpresión de Tejidos (TBIA). Fueron identificados 140 individuos libres de la infección por SCYLV, procedentes de 109 cruces biparentales. Se determinó más de 50% de individuos resistentes, de cruces en los que los padres (femenino o masculino) tienen un origen muy diverso (de diferentes especies de *Saccharum*, intergenérico, trispecífico, o híbrido comercial). Existen en el germoplasma, híbridos comerciales en los cuales se pueden haber incorporado genes de resistencia a SCYLV. La mayor resistencia al virus fue encontrada en clones de *S. robustum* y en híbridos comerciales. Una relación de 27 progenitores, entre ellos 10 ancestros se encontraron libres de SCYLV, ellos podían ser portadores de genes de resistencia.

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

Abstract

It was evaluated in the Germplasm Collection of INICA, Cuba, the infection for *Sugarcane yellow leaf virus* (SCYLV) in individual coming from bi-parental crossings and in the existent parents; also the infection for this virus in ancestors of genetic contribution in the sugarcane breeding program of the sugarcane in the country. The diagnosis was carried out through the detection serological tissue blot immunoassay (TBIA). Were identified 140 individual free of the infection by SCYLV, coming from 109 biparental cross. It was determined more than 50% of resistant individual, of crossings in those that the parents (female or male) they have a very diverse origin (of different species of *Saccharum*, intergeneric, trispecific, or commercial hybrid). There are in the germplasm, commercial hybrid in which resistance genes can have been incorporated SCYLV. The biggest resistance to the virus was in *S. robustum* and commercial hybrid clone. A relationship of 27 parents, among them 10 ancestors was SCYLV free; they could be carriers of resistance genes.

Keywords: resistance, sugar cane, yellow leaf.

It was evaluated in the Collection of Germoplasma of the cane of sugar of the INICA, Cuba, the infection for the Virus of the yellow leaf of the cane of sugar (SCYLV) in individuals coming from crossings biparentales and in the existent progenitors;

Introducción

El *Virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar* (SCYLV), es el agente causal de la enfermedad “hoja amarilla” de la caña de azúcar, presente en casi todas las regiones donde se desarrolla este cultivo (Joomun y Dookun-Saumtally, 2013). Estudios recientes muestran la presencia de este virus en la Colección de Germoplasma del Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA), en Matanzas, Cuba (Aday *et al.*, 2011) y en todas las provincias del país que producen caña de azúcar (La O *et al.*, 2013).

SCYLV pertenece al género *Polerovirus*, familia *Luteoviridae* (Dárcy y Dormier, 2005). La propagación de este virus por el mundo, probablemente ocurrió durante los programas de intercambio del germoplasma internacional (Rott *et al.*, 2007). Se trata de un virus muy variable desde el punto de vista genético y de la intensidad de los síntomas que ocasiona, de importancia económica debido a las pérdidas en la producción azucarera (Joomun y Dookun-Saumtally, 2013).

Los estudios llevados a cabo por Comstock *et al.* (2001) y Komor (2010), consideran que *Saccharum officinarum* es altamente susceptible a este virus, mientras que las especies salvajes de *S. robustum* y *S. spontaneum* son más tolerantes. Por consiguiente, es importante encontrar recursos de resistencia en el germoplasma del género *Saccharum*, para elaborar programas de mejora para la resistencia a SCYLV.

Los objetivos de este estudio fueron: evaluar en la Colección de Germoplasma del INICA, la infección por SCYLV en individuos procedentes de cruces biparentales y en los progenitores existentes; y determinar sin un grupo de los principales ancestros que han contribuido a la base genética de cultivares comerciales explotados en Cuba, se han infectado o no por este virus.

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 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), Rhodic Eutruxox (Soil Survey Staff, 2003), con una precipitación media anual de 1538 mm y temperatura media anual de 24,1 °C.

Fueron seleccionados un grupo de individuos de la Colección de Germoplasma, con progenitores conocidos (femenino y masculino); que en su pedigrí al menos uno de los padres constituye un ancestro de los que han contribuido a la constitución genética de los cultivares comerciales explotados en Cuba durante el período 1961-2008, previo estudio realizado por Puchades *et al.* (2011). Además se tuvo en cuenta que al menos uno de los padres esté disponible en la colección existente en Cuba.

Fue evaluada la presencia de síntomas de SCYLV en 203 individuos, existentes en la Colección de Germoplasma, procedentes de 109 cruces biparentales. El pedigrí de estos individuos está constituido por 100 progenitores, entre ellos 25 ancestros.

La determinación serológica de la presencia del virus, se realizó a cada individuo evaluado, a través de la detección serológica por impresión en membrana o Inmunoimpresión de Tejidos (Tissue blot immunoassay o TBIA). De cada individuo evaluado, se seleccionaron tallos con síntomas asociados a SCYLV, cuando no existió la presencia de los mismos los tallos se seleccionaron al azar. 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).

Como en la colección no se disponía de todos los progenitores de los individuos evaluados, el diagnóstico se realizó a los 47 existentes, estos proceden de diferentes orígenes genéticos, 17 de ellos son ancestros de importancia en Cuba. Se evaluaron además cuatro ancestros que también forman parte de la base genética de la caña de azúcar en Cuba (B30-L-7, Black Cheribon, CP28-11 y Loethers).

Para la observación de los síntomas de la enfermedad, cada ancestro o individuo 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 China *et al.*, (2008) según las normas y procedimientos de evaluación de enfermedades en Cuba descritos por Jorge *et al.* (2011), (Tabla I).

Tabla I. 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.

Resultados y discusión

La presencia de SCYLV fue determinada en 63 de los 203 individuos evaluados, mientras que 140 (69%) resultaron libres de la infección. De acuerdo con el origen genético, se determinó un alto porcentaje de individuos resistentes (más del 50%), en la mayoría de los cruces evaluados en los que el progenitor femenino proviene indistintamente de diferentes especies de *Saccharum* (*S. officinarum*, *S. robustum* y *S. spontaneum*), de origen intergenérico *Sorghum* por *Saccharum*, trispecífico, o híbrido comercial (Figura 1). Cuando el progenitor femenino fue de *S. sinense*, el porcentaje de individuos resistentes resultó bajo. El mayor número de individuos resistentes (73) y la proporción más alta de estos se encontró en progenies de híbridos comerciales, lo cual es favorable para la mejora de la resistencia a esta enfermedad a la vez que se pudieran obtener variedades de interés comercial.

Del mismo modo, se observó que, cuando el progenitor masculino correspondió a formas originales o híbridos de *S. officinarum*, *S. robustum*, *S. spontaneum*, trispecífico o de híbrido comercial, más del 57% de los individuos evaluados resultaron no infectados por SCYLV (Figura 2). La mayor contribución a la resistencia en estos casos se debió a progenitores masculinos de *S. robustum* y a híbridos comerciales.

El análisis de los resultados de la evaluación, permiten afirmar que en la Colección de Germoplasma de Matanzas, existen híbridos comerciales en los cuales se pueden haber incorporado genes de resistencia a SCYLV, durante el proceso de mejora genética de sus ancestros, aún cuando no estaba informado el

virus de la hoja amarilla o se desconocía su existencia. El pedigrí del 46,6% de esos individuos no infectados, está constituido por híbridos comerciales, el 22% por formas originales o híbridos de *S. robustum*, *S. spontaneum*, intergenérico *Sorghum* por *Saccharum* y triespecífico (*S. officinarum*, *S. robustum*, *S. spontaneum*); el 12,3% por *S. officinarum* y el resto por cruces de híbridos comerciales con formas originales del género *Saccharum*, fundamentalmente con *S. spontaneum*.

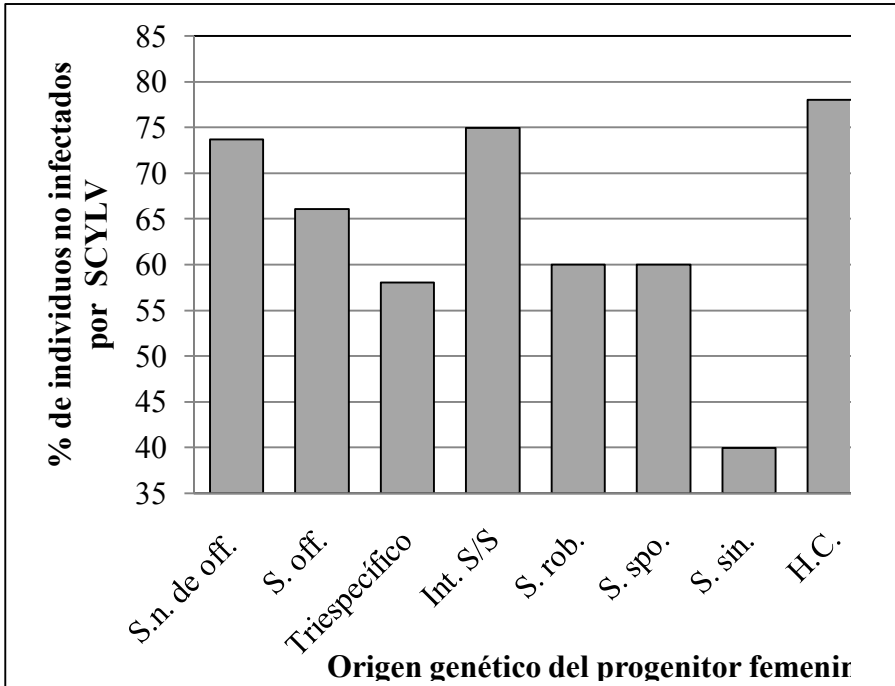


Figura 1. Porcentaje de individuos no infectados por SCYLV de acuerdo al origen de su progenitor femenino.

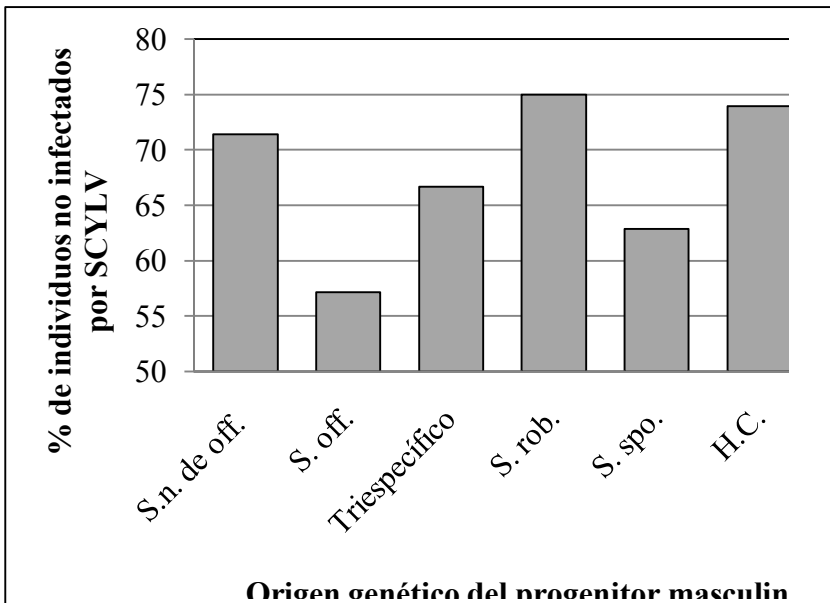


Figura 2. Porcentaje de individuos no infectados por SCYLV de acuerdo al origen de su progenitor masculino.

Atendiendo a la categoría genética, el mayor porcentaje de individuos resistentes al virus, se encontró en clones de *S. robustum* [*F1 (S. rob.)*, *F1 (H.S. rob.)*, *BC1 (S. rob.)*, *BC1 (H.S. rob.)*] y de híbridos comerciales. La proporción de individuos sanos más baja se determinó en los clones de *S. spontaneum* y triespecíficos (*S. officinarum*, *S. robustum*, *S. spontaneum*) (Tabla II).

Tabla II. Porcentaje de genotipos no infectados por SCYLV de acuerdo al origen de los individuos evaluados.

Categoría genética	Total	SCYLV+	SCYLV-	% de SCYLV -
Clones de <i>S. robustum</i> [<i>F1 (S. rob.)</i> , <i>F1 (H.S. rob.)</i> , <i>BC1 (S. rob.)</i> , <i>BC1 (H.S. rob.)</i>]	23	5	18	78,3
Clones de <i>S. spontaneum</i> [<i>F1 (S. spo.)</i> , <i>BC1 (S. spo.)</i> , <i>BC1 (H.S. spo.)</i>]	72	29	43	59,7
Clones <i>Triespecificos</i> [<i>F2 (Triesp)</i> , <i>BC1 (Triesp.)</i>]	9	4	5	55,6
<i>HC.</i>	97	25	72	74,2
<i>S. off.</i>	2	0	2	100,0
<i>Total</i>	203	63	140	69,0

(-) significa ausencia del virus según TBIA.

(+) significa presencia del virus según TBIA.

Komor (2010) plantea 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. Por ello asumimos que los individuos infectados por el virus son susceptibles. Consideramos como resistentes a aquellos, que a pesar de estar expuestos a la infección natural y una alta fuente de inóculo por un período de 10 o más años (Chinea *et al.*, 2008), resultaron negativos a SCYLV por la prueba de TBIA.

En el 42,9% de los ancestros evaluados se detectó la presencia del virus (Tabla III). Los ancestros Co421, Fidji y POJ2878 fueron los individuos infectados con mayor grado de desarrollo de los síntomas. B(30)-L-7, Co244, Loethers y US1694 se encontraron en estado asintomático pero infectados. Se corroboró la susceptibilidad a SCYLV de Co213, Fidji y POJ2364, planteada anteriormente por Comstock *et al.* (2005) y Komor (2010). Por otro lado, otros seis ancestros (B45181, Co281, CP43-64, EK2, NCo310, POJ100), presentaron síntomas similares a los descritos para esta enfermedad y resultaron negativos por TBIA, aspecto este que puede estar relacionado con baja concentración de virus en la muestra probada (falso negativo) o con la asociación de los síntomas a otras causas, entre ellas la presencia de infecciones por el fitoplasma que causa la enfermedad del amarillamiento de la hoja.

Existen otros tres ancestros que no fueron evaluados pero que se conoce su resistencia a SCYLV por la información hallada en la bibliografía consultada, este es el caso del genotipo Kassoer (resistente) (Comstock *et al.*, 2005), de Mandalay y 96NG15 (Badila) informados como susceptible y resistente, respectivamente, por Komor (2010).

Tabla III. Determinación de la infección por SCYLV en 21 ancestros de los cultivares de caña de azúcar en Cuba.

Ancestros	Grado SCYLV	TBIA SCYLV	Ancestros	Grado SCYLV	TBIA SCYLV
28NG251	1	-	D74	1	-
B(30)-L-7	1	+	EK2	3	-
B45181	2	-	EK28	1	-
Black Cheribon	1	-	Fidji**	3	+
Co213*	1	+	NCo310*	2	-
Co244	1	+	Loethers	1	+
Co281***	3	-	POJ100*	3	-
Co421	3	+	POJ2364**	1	+
CP28-11	1	-	POJ2878	3	+
CP43-64	2	-	US1694	1	+
Cristalina	1	-			

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

** Informadas como infectadas en Hawái, 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.

Los ancestros 28NG251, Black Cheribon, CP28-11, Cristalina, D74, EK28, mostraron resistencia a SCYLV. Ellos pueden haber introducido resistencia a este virus en su progenie durante etapas de mejoramiento sucesivas y pueden ser considerados en programas de mejora para enfrentar esta enfermedad. Es de interés continuar profundizando en el diagnóstico de B45181 y CP43-64, estos presentaron síntomas ligeros de amarillamiento del raquis de las hojas, sin embargo en ellos no se detectó la presencia del virus por TBIA.

Los resultados de la determinación serológica de la presencia del virus en los 47 progenitores disponibles en la Colección de Germoplasma, mostró la presencia de la infección en 20 de ellos, entre los que se encuentran 7 ancestros. Una relación de 27 progenitores, entre ellos 10 ancestros se encontraron libres de SCYLV (Tablas III y IV), ellos podrían ser portadores de genes de resistencia.

Tabla IV. Determinación serológica de la presencia del virus en 30 progenitores disponibles en la Colección de Germoplasma.

Individuos	Grado SCYLV	TBIA	Individuos	Grado SCYLV	TBIA	Individuos	Grado SCYLV	TBIA
B3439	1	-	Co331	1	+	Eros	3	-
B4098	3	+	Co385	3	-	Ja55-485	1	-
C12015	2	-	CP29-320	1	-	Ja55-487	2	-
C15792	3	-	CP36-112	1	-	Ja64-19	3	-
C15794	1	+	CP44-154	1	+	Manjav	2	-
C15855	3	+	C87-51	4	+	Mercedita 4	1	-
C169-52	1	-	Co205	2	+	My53205	1	+
C236-51	1	+	Co313	1	-	My5514	1	-
C296-63	2	-	Co214	1	+	My5764	1	-
C819-67	1	+	Co290	1	+	PB52-1-1	1	+

(-) significa ausencia del virus según TBIA; (+) significa presencia del virus según TBIA.

En el caso de los ancestros B(30)-L-7, Co244, Loethers y US1694, podrían ser considerados como tolerantes al virus, ya que a pesar de estar infectados por SCYLV no desarrollaron los síntomas característicos de la enfermedad.

Conclusiones

- Fueron identificados 140 individuos libres de la infección por SCYLV, procedentes de 109 cruces biparentales; el mayor porcentaje de ellos se encontró en clones de *S. robustum* en determinado avance generacional y en híbridos comerciales.
- Se determinó más de un 50% de individuos resistentes, de cruces en los que los padres (femenino o masculino) tienen un origen muy diverso (de diferentes especies de *Saccharum*, intergenérico, triespecífico, o híbrido comercial).
- Una relación de 27 progenitores, entre ellos 10 ancestros se encontraron libres de SCYLV.

Bibliografía

1. Aday, O.; China, 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 Aylin. (2011). 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.
2. China, M. A. Martín; Pérez, G.; Aday, O.; Cabrera, L.; Pérez, J.R.; Carvajal, O.; China, A.; Barroso, G.; Arocha, Yaima; Hidalgo, Yaima; Ruffin, Yordanka. (2008). Comportamiento del germoplasma de la caña de azúcar ante el síndrome de la hoja amarilla en Cuba. Memorias CD ROM. En: Congreso Científico del INCA, La Habana, Cuba, noviembre 24-28, 2008, 10p.
3. Comstock, J. C.; Miller, J.D.; Schnell R.J. and Ayala-Silva T. (2005). *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.
4. Comstock, J. C.; Miller, J.D. and Schnell, R.J. 2001). 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 Technology*, 3, 128–133.
5. D'Arcy, C.J. and Domier, L.L. (2005). 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, 891-900.
6. Hernández, A.; Pérez, J.M.; Bosch, D.; Rivero, L. (1999). Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Edit. AGRINFOR, Ciudad Habana, Cuba, 64 p.
7. Joomun, N. y Dookun-Saumtally, A. (2013). Real-Time Fluorescent Taqman RT-PCR assay for detection of genotypes of *Sugarcane yellow leaf virus*. *Proceedings International Society Sugar Cane Technologists*, Vol. 28, 10 p.
8. Jorge, H.; Jorge, I.M.; Mesa, J.M. y Bernal, N.A. (2011). Normas y Procedimientos del Programa de Fitomejoramiento de la Caña de Azúcar en Cuba. 2da Ed. *Boletín Especial Cuba & Caña*, La Habana, Cuba, 348 p.
9. Komor, E. (2010). 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.
10. La O, M., Zardón, M.; Aday, O.; Delgado, J.; Mesa, J.M. and Sautié, M. (2013). Incidence of *Sugarcane yellow leaf virus* and *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* in cuban sugarcane fields. In: *Proceedings International Society Sugar Cane Technologists*, Vol. 28, 8 p.

11. Puchades, Y.; Rodríguez, R.; Arteché, J.; Bernal, N.; Jorge, H. y Cornide María.T. (2011). 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.
12. Rott, P.; Comstock, J.C.; Croft, B.J.; Kusalwong, A. and Saumtally, S.A. (2007). Recent advances in research on sugarcane yellow leaf virus, the causal agent of sugarcane yellow leaf. *In: Proceedings International Society Sugar Cane Technologists*, Vol. 26, 968-977.
13. Schenck, Susan; Hu, J.S. and Lockhart, B.E.L. (2003). Use of a tissue blot immunoassay to determine the distribution of sugarcane yellow leaf virus in Hawaii. *Sugar Cane*, 4, 5-8.
14. Soil Survey Staff. (2003). Keys to Soil Taxonomy. USDA, Ninth Edition, 332 p.