

PROCEDIMIENTO CUARENTENARIO DE VARIEDADES IMPORTADAS DE CAÑA DE AZÚCAR EN LA ESTACIÓN DE YUCATÁN, MÉXICO.

Quarantine procedures imported variety of sugarcane in the station of Yucatan, México

Juan Candelero-De la Cruz¹, Jairo Cristóbal-Alejo¹, Carlos Aarón Rangel-Ortega¹ y Carlos Flores-Revilla¹. ¹CIDCA, A.C. Estación Nacional Cuarentenaria de la Caña de Azúcar. candeleroacruz@hotmail.com

Resumen

La Estación Nacional Cuarentenaria de la Caña de Azúcar (ENCCA), situada en la ciudad de Tizimín, Yucatán, pertenece al Centro de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar, A.C (CIDCA, A.C), es una estructura de bioseguridad, para reducir riesgos fitosanitarios en el proceso de importación de variedades. El proceso inicia con un convenio de colaboración con los Centros de Investigación en Caña de Azúcar de diferentes partes del mundo, posteriormente con el intercambio de información (importación o exportación), y al finalizar el trámite legal de importación, el paquete que contiene el material vegetativo se presenta ante la oficina estatal de la DGSV/SENASICA, para que el personal certifique que el paquete llega sellado y puede ser trasladado a su destino final. Una vez recibidas las yemas en la ENCCA se inicia la cuarentena cerrada (invernadero). Éstas crecen en un cubículo llamado "enfermería" y se trasplantan en macetas a los 60 días después de la germinación, en cubículos aislados. Independientemente de las pruebas fitosanitarias realizadas al inicio de la importación, se continua con el monitoreo y diagnóstico de patógenos en cuarentena. Los materiales con algún patógeno de importancia cuarentenaria son incinerados, y las que resulten libres, llegan a la segunda etapa, que comprende nueve meses en campo abierto, en surcos de 3 x 5 m de ancho y de largo. Los que resulten negativos a patógenos de importancia cuarentenaria, se envían al banco de germoplasma de la Estación de Hibridación de Tapachula, Chiapas, para su uso como progenitores en los programas de mejoramiento genético y a los Campos Experimentales Regionales, con la finalidad de ser evaluados bajo las diferentes regiones agroecológicas del país.

Palabras claves: Protocolo, Confinamiento, variedades

Abstract

QUARANTINE PROCEDURES IMPORTED VARIETY OF SUGARCANE IN THE STATION OF YUCATAN, MÉXICO

Summary

The Quarantine National Station of Sugarcane (QNSSC), located in the city of Tizimin, Yucatan, belongs to the Center for Research and Development of Sugarcane, Civil Association (CRDSC, CA), is a structure biosafety, to reduce plant health risks in the process of importing varieties. The process begins with a collaboration agreement with Research Centers Sugarcane different parts of the world, then the exchange of information (import or export), and after the legal import procedure, the package containing the material vegetative state is presented to the office of the DGSV / SENASICA, for staff certifying that the package arrives sealed and can be moved to its final destination. Once received stalks (seeds) in quarantine closed QNSSC (greenhouse) starts. They grow in a cubicle called "nursing" and transplanted in pots at 60 days after germination, in isolated cubicles. Regardless of phytosanitary tests at the beginning of the import, we continue with the monitoring and diagnosis of pathogens in quarantine. Materials with a pathogen of quarantine significance are cremated, and that are free, come to the second stage, comprising nine months in the open, in rows of 3 x 5 m wide and long. The resulting negative pathogens of quarantine significance, are sent to the genebank Station Hybridization of Tapachula, Chiapas, for use as parents in breeding programs and the Regional experimental fields, in order to be assessed under the different agro-ecological regions of the country.

KEYWORDS: Protocol, Confined, Varieties

Introducción

Para promover el desarrollo, productividad y progreso social de la agroindustria de la caña de azúcar de nuestro país, la importación de variedades extranjeras con las características agroindustriales sobresalientes y características de importancia fitosanitaria, favorecen la variabilidad genética en los programas de cruzamientos y la posibilidad de que alguno(s) materiales se adapten a las diferentes regiones productoras de caña de azúcar del país. Actualmente, el campo cañero mexicano está sembrado con el 55% de variedades mexicanas; el 45% restante de la superficie nacional está sembrado con variedades extranjeras.

La primera importación fue hecha en 1943 por la Secretaría de Agricultura y Fomento, de la colección de 102 variedades que seleccionó el Dr. E. W. Brandes, entonces del Departamento de Agricultura de los EE.UU. que existía en la estación de Canal Point, Fla., EUA. En 1949 se establece la Oficina de Campos Experimentales, dependiente de la Unión Nacional de Productores de Caña de Azúcar (UNPASA), empiezan los trabajos del Programa de Mejoramiento Genético y las importaciones de diferentes regiones del mundo, así continúan estos trabajos bajo diferentes administraciones como, la Comisión Nacional de la Industria Azucarera (CNIA), Instituto para el Mejoramiento de la Caña de azúcar (IMPA), la Cámara Nacional de las Industrias Azucarera y Alcohólica (CNIAA) y actualmente bajo la administración del Centro de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar (CIDCA).

Al inicio estos trabajos de importación de variedades de caña de azúcar, se les daba un seguimiento y evaluación fitosanitaria durante 12 meses en la finca cafetalera de Cacahoatán, Chiapas; por instrucciones de la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) en 1975 fue promovida su reubicación a las instalaciones del Ingenio San Rafael Pucté, Quintana Roo donde permaneció hasta 1999. Sin embargo, la condición de cuarentena no se cumplía. Por lo tanto en 1999 se firma un convenio de colaboración con el Instituto Tecnológico Agropecuario No. 19, actualmente Instituto Tecnológico de Tizimín (ITT), y la Cámara Nacional de las Industrias Azucarera y Alcohólica (CNIAA), donde permaneció hasta 2011, denominándose “Estación Nacional Cuarentenaria de la Caña de Azúcar (ENCCA) para el Programa Nacional de Mejoramiento Genéticos de la Caña de Azúcar”. En el Cuadro 1 se mencionan las variedades importadas. En 2012 se construye la ENCCA bajo la supervisión de Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) apegados a las normas y exigencias de bioseguridad actuales.

Cuadro 1 Número de variedades importadas a la ENCCA-Tizimín, Yucatán, México.

Año de ingreso	Origen	Número de variedades	Total de variedades
	MSIRI, Mauricio	7	7
2000	COPERSUCAR, Sao Paulo, Brasil	10	10
	YSRI, República de Yunnan China	12	12
2001	LAICA, San José Costa Rica	34	34
2002, 2003, 2011, 2012	Canal Point, EE.UU.	18, 26, 59, 53,	156
2003, 2005, 2007, 2010, 2011, 2013	CENICAÑA, Colombia	11, 86, 107, 16, 71, 20	220
2003	INICA, Cuba	10	10
2004, 2013	FUNDACAÑA, Venezuela	15, 13	28
2006	INIA, Perú	15	15
2009, 2010, 2013, 2015	CENGICAÑA, Guatemala	26, 13, 16, 66	121
2014	CIRAD, Francia	7	7
Total			711

De acuerdo al CINCAE (2007), en el mundo azucarero existen alrededor de 200 enfermedades y 1300 especies de insectos perjudiciales, muchas de las cuales son consideradas cuarentenadas para México. De acuerdo a la NORMA Oficial Mexicana NOM-016-FITO-1995, las principales plagas consideradas de mayor importancia cuarentenadas en México son: escama (*Aulascaspis tegalensis*), chicharrita (*Perkinsiella sacharicida*), cicadela (*Pyrilla perpusilla*), barrenador manchado del tallo (*Chilo partellus*), barrenador (*Eldana saccharina*), barrenador púrpura (*Sesamia inferens*), piojo harinoso (*Planococcus kenya*) y taladrador gigante de la caña de azúcar (*Castmia licoides*). Entre las enfermedades cuarentenadas se encuentran los de origen fúngicos, tales como el mildiu (*Peronosclerospora sacchari*), el carbón (*Ustilago scitaminea*) y el cuervo (*Sphacelotheca erianthi* y *S. macrospora*); los de bacterias que ocasionan la gomosis (*Xanthomonas campestris* pv. *vasculorum*), el raquitismo de las socas (*Leifsonia xyli* subsp. *xyli*) y la escaldadura de la hoja (*Xanthomonas albilineans*). También, los que se asocian al virus del mosaico, *Sugarcane mosaic potyvirus* (SCMV), al virus baciliforme, *Sugarcane bacilliform badnavirus* (SCBV) y el virus de la hoja amarilla *Sugarcane Yellow Leaf virus polerovirus* (SCYLV) y otras de mayor importancia fitosanitario, son la enfermedad del Fiji (*Sugarcane fiji virus*) y del Sereh: *Sugarcane sereh virus* (China, 1994 y 2005 Girard, 2012).

Algunas de estas enfermedades son causadas por hongos, bacterias, virus y fitoplasmas que se transmiten con facilidad a través del material de propagación vegetativa (tallos); principal intercambio de germoplasmas entre los países productores de azúcar, y para disminuir la introducción de plagas y enfermedades potenciales, existen diferentes medidas preventivas, las cuales se basan en cuatro aspectos: la exclusión que incluyen las cuarentenas y las inspecciones obligatorias, el decomiso de materiales y la certificación fitosanitaria del país; la erradicación, la cual consiste en la destrucción de las plantas infestadas, una vez que este ha logrado establecerse en el área de cultivo huésped; la protección de plantaciones en invernadero, el empleo del control químico y biológico y; la inmunización que comprende la incorporación de variedades resistentes a las plagas y enfermedades (Flores, 1997).

Con la finalidad de disminuir la introducción y dispersión de plagas y enfermedades, las cuales pueden provocar grandes impactos económicos y sociales en México. El Centro de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar (CIDCA) aplica las normas, los requisitos fitosanitarios de importación de variedades y los procedimientos de cuarentena cerrada (invernadero) y abierta (campo) con una duración de 18 meses, en una infraestructura de bioseguridad denominada “Estación Nacional Cuarentenaria de la Caña de Azúcar: ENCCA”.

Materiales y Métodos

La Estación Nacional Cuarentenaria de la Caña de Azúcar (ENCCA) situada en un área de 6, 511 m², en la ciudad de Tizimín, Yucatán (21° 09' 31" Lat. N, 88° 10' 03.7" Long. O), a 167 km de la ciudad de Mérida, capital del estado, pertenece al Centro de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar, A.C (CIDCA, A.C), es una estructura de bioseguridad, para reducir riesgos fitosanitarios en el proceso de importación de variedades de caña de azúcar. La cuarentena comprende dos etapas; la primera (cerrada) contempla nueve meses bajo condiciones de invernadero y la segunda nueve de meses en campo (abierta).

El proceso inicia con un convenio de colaboración con los Centros de Investigación en Caña de Azúcar de diferentes partes del mundo, posteriormente con el intercambio de información según sea el caso (importación o exportación), se acuerdan los tiempos en que se realizarán los envíos de material vegetativo, el número de variedades, su nomenclatura, ciertas características de su progenie, agronómicas, industriales y fitosanitarias. Una vez realizado los acuerdos de los materiales a importar y/o exportar en base al convenio, lo siguiente es definir los tiempos en que se llevará a cabo esta actividad y el permiso de importación se solicita a la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), especificando el punto de origen (localidad y país), fecha en que se efectuará, cultivo, especie, numero

de yemas o esquejes, peso aproximado del material vegetativo y los fines con que se realiza esta importación. Con base a lo anterior, la DGSV a través del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), y según el Análisis de Riesgo Fitosanitario (ARP) del punto de origen, se dictaminan las medidas y condiciones regulatorias mediante las cuales debe hacerse la importación, y de no existir este tipo de estudio, primero se resuelve este tema con la autoridad y posteriormente se genera el permiso de importación. Cumpliendo con lo anterior, se inicia el proceso de importación y se establece el punto de entrada que más convenga de acuerdo a la logística, trámites y una serie de requisitos que hay que cumplir con la Oficina de Inspección de Sanidad Agropecuaria (OISA) que son parte de la estructura de SENASICA y que se encuentran en los puntos de ingreso al país, además del proceso legal con la Aduana (desaduanización). Durante este proceso el personal de OISA toma muestras del material vegetativo importado y con base al ARP estos son enviados a un laboratorio aprobado por la DGSV/SENASICA o al Centro Nacional de Referencia (CNRF). Una vez tomadas las muestras y enviadas al laboratorio, el paquete que contiene el material importado es liberado bajo la condición de una Acta de Guarda Custodia y su envío. Posterior al trámite legal de importación, el paquete que contiene el material vegetativo se presenta ante la oficina de la DGSV/SENASICA en Mérida, Yucatán, para que el personal certifique que el paquete llega sellado y puede ser trasladado a su destino final. Después de aproximadamente 20 días son emitidos los resultados de las pruebas de diagnóstico de bacterias, virus y hongos de importancia cuarentenaria con apego al ARP, dependiendo del resultado, si es positivo se ordena la destrucción por incineración y si es negativo el proceso de cuarentena continua.

Previo a la introducción de las estacas, el invernadero (20 x 40 m de ancho y largo) y los materiales que se utilizan se desinfectan con Didecil Dimetil Cloruro de Amonio + Alquil Dimetil Benzil Cloruro de Amonio (1:200); y la mezcla del sustrato cosmopeat más agrolita (6:1) con el generador de vapor. Las cortinas de aire y el arco sanitario se activan cada vez que se ingresa o sale del invernadero, considerando las medidas de higiene y de protección. Una vez que ingresa a la ENCCA, se desempaca en un área de ingreso a través de un transfer, el material del empaque se incinera. Una vez recibidas las yemas o esquejes en la ENCCA se inicia la cuarentena cerrada bajo condiciones de invernadero, el material vegetativo se rehidrata en agua por 24 h y reciben un tratamiento por 30 minutos en agua caliente a 50 °C, luego se sumergen en una solución de fungicida e insecticida y se siembran en bandejas de plástico con sustrato estéril. Éstas crecen en un cubículo llamado “enfermería” y a los 60 días después de la germinación, se trasplantan en macetas de plástico de 40 L de capacidad que contiene suelo estéril, en cubículos aislados. Independientemente de las pruebas fitosanitarias al inicio de la importación, se continua con las actividades agronómicas, monitoreo, diagnóstico de patógenos y la toma de muestras en las distintas fases fenológicas del cultivo. Los materiales con algún patógeno cuarentenado son incinerados; mientras tanto, las que no presentan riesgo llegan a la segunda etapa, que comprende nueve meses en campo abierto, en surcos de 3 x 2 m de ancho y de largo. Las variedades que resulten libres de fitopatógenos de importancia cuarentenarias, se envían al banco de germoplasma de la Estación de Hibridación de Tapachula, Chiapas, para su uso como progenitores en los programas de mejoramiento genético y a los Campos Experimentales Regionales, con la finalidad de ser evaluados bajo las diferentes regiones agroecológicas cañeras del país.

A través de las técnicas de diagnóstico tradicional y serológicas. El seguimiento fitosanitario y el diagnóstico de detección tradicional, se realiza a los tres, seis y nueve meses después de su establecimiento en invernadero y en el campo. Para el aislamiento de bacterias de importancia cuarentenaria, se realiza el corte de tallos y hojas, se pesa 1 g y se macera con 10 mL del buffer de extracción general (Agdia®), se recolectan en bolsas de plástico que contienen mallas y las muestras se clarifican a 3000 rpm durante 10 min en una centrífuga (Centurion®). Las diluciones seriadas 10^4 , 10^5 y 10^6 , se inoculan en el medio de cultivo universal PDA; en los medios selectivos (MS) para *Xanthomonas albilineans* (XAS) y en los MS de Extracto de levadura (YDC) para *Pantoea stewartii* subsp. *Indologenes* y *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (YDC). La separación de los aislados se realiza con las características macroscópicas y microscópicas, con las tinciones simples y con la técnica de Gram.

También se realizan pruebas de patogenicidad mediante la reacción de hipersensibilidad en rodajas de papa de 2 mm de diámetro. Para el caso específico de fitopatógenos obligados de origen fúngicos, se hacen cortes histológicos, y para otros fitoparásitos, se preparan cámaras húmedas, así como la impresión de tallos y hojas en el medio de cultivo PDA (Iglesia *et al.*, 2007). Para las observaciones y las identificaciones morfotaxonómicas de fitopatógenos se apoya con el microscopio compuesto (Motic®). En el Cuadro 2 se mencionan los reactivos para la preparación de los medios de cultivos.

Cuadro 2. Medios de cultivos para el aislamiento de bacterias y hongos de importancia cuarentenaria.

Medios de cultivos	Reactivos	g L ⁻¹ de agua destilada
PDA	Papa-Dextrosa-Agar	40
XAS	Sucrosa	5
	Bactopeptona	5
	Extracto de levadura	5
	K ₂ HPO ₄	0.5
	MgSO ₄ , 7H ₂ O	0.25
	Na ₂ SO ₃	0.05
	Agar	15
	pH: 6.9-7.0	
	Antes de esterilizar	
Bromuro de potasio (KBr)	5	
	Benomilo (benlate)	0.004
YDC	Extracto de levadura	10
	K ₂ HPO ₄	2
	KH ₂ PO ₄	0.5
	Glucosa	2.5

La comprobación de los aislados bacterianos se realiza con la técnica de ELISA indirecta (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ensayo por inmunoadsorción ligado a enzima).

Para el diagnóstico de detección serológica de *X. albilineans*. Se adiciona 100 µL de las muestras purificadas y de los controles positivos y negativos, y blancos, en microplacas de 96 pozos. Estas se secan a 37 °C durante 2.5 min. en el horno de microondas. Para el bloqueo, se agregan 200 µL del buffer PBS 1X al 5 % con leche descremada (LD), después de los 30 min. de incubación en la caja húmeda a temperatura ambiente, se realizan tres lavados con la solución PBST 1X. Al finalizar, se colocan 100 µL del buffer PBST 1X más 2.5 % LD y el anticuerpo de captura diluido, al terminar 1 h de incubación, se realizan ocho lavados continuos con PBST 1X. Inmediatamente, se adiciona 100 µL del buffer ECI 1X con la enzima conjugada fosfatasa alcalina diluida (Agdia®), después, del período de incubación y el lavado con el mismo buffer, se le adicionan 100 µL de la solución PNP 1X con 2 mg mL⁻¹ del sustrato (Agdia®) y finalmente se incuban durante 60 min a temperatura ambiente.

Para el análisis serológicos de *Pantoea stewartii* subsp. Indologenes y *Sugarcane bacilliform virus* (SCBV), se adiciona 100 µL de la solución CAC 1X con el anticuerpo de captura diluida. Al finalizar el período de incubación en la caja húmeda durante dos h a temperatura ambiente o en refrigeración toda la noche, se realizan tres lavados con PBST 1X. Posteriormente, a cada pozo, se le adiciona 100 µL de las muestras, de los controles positivos y negativos. Se continúa con el mismo período de incubación y ocho lavados. Después, se le adiciona 100 µL del buffer ECI 1X con el anticuerpo de detección (bote A) y las enzimas conjugadas con fosfatasa alcalina (bote B) diluida. Al terminar el

período de incubación y lavados continuos, se le adiciona el sustrato PNP y el período de incubación hace de la misma manera que en el procedimiento para *X. albilineans*. En el Cuadro 3 y 4 se describen los reactivos de las soluciones amortiguadoras, los anticuerpos y enzimas conjugadas utilizadas en la técnica de diagnóstico serológica, además, el volumen final para efectuar las diluciones son 10 mL por microplaca.

Cuadro 3. Soluciones amortiguadoras utilizadas en el procedimiento de ELISA indirecta

Soluciones amortiguadoras	Reactivos	Cantidad (1X)
		g L ⁻¹ de agua destilada
CAC	Carbonato de sodio (anhidros)	1.59
	Bicarbonato de sodio	2.93
	Ácida de sodio	0.2
	Cloruro de sodio	8.0
	Fosfato de sodio dibásico (anhidros)	1.15
PBST	Fosfato de Potasio monobásico	0.2
	Cloruro de potasio	0.5
	Tween-20*	0.5
	Fosfato de sodio dibásico (anhidros)	1.15
	Cloruro de potasio	0.5
PBS	Fosfato de Potasio monobásico	0.2
	Cloruro de sodio	8.0
	Ácida de sodio	0.2
	PBST (1X)	1 L
ECI	Albúmina de suero de bovino (BSA)	2.0 g
	Polivinilpirrolidona (PVP) NW 24-40, 000	20.0 g
	Ácida de sodio	0.2
	Cloruro de magnesio hexahidratada	0.1
	Ácida de sodio	0.2
PNP	Dictanolamina*	97.0
	PBST	1 L
GEB	Sulfito de sodio (anhidros)	1.3
	Polivinilpirrolidona (PVP) NW 24-40, 000	20.0
	Ácida de sodio	0.2
	Albúmina de huevo de pollo, Grado II	2.0
	Tween-20*	20.0

Cuadro 4. Los anticuerpos de detección y de captura, las enzimas conjugadas, controles positivos y negativos para detectar el *Sugarcane bacilliform virus* (SCBV), *Xanthomonas albilineans* y *Pantoea stewartii* subesp. indologenes.

Diagnóstico de patógenos	Anticuerpos	Enzimas conjugadas con fosfatasa alcalina	Controles Positivos	Controles Negativos
<i>SCBV</i>	CAB 72200/0500 Captura de anticuerpo <i>SCBV</i> Dilución 1:200	SRA 72200/500 Conjugado de anticuerpo de captura anti- <i>SCBV</i> Dilución 1:200	<i>SCBV</i>	Extracto de hojas de plátano
<i>Xanthomonas albilineans</i>	CAB 71100 Anticuerpo de detección anti- <i>Xanthomonas albilineans</i> (Xalb) Dilución 1:200	ECA 71100/0500 Anti-ratón para <i>Xanthomonas albilineans</i> con enzima conjugada en fosfatasa alcalina Diluido 1:200	Xalb	Extracto de hojas de maíz
<i>Pantoea stewartii</i> subsp. Indologenes	CAB 52000/0500 Anticuerpo de detección Pstew Dilución 1:200	ECA 52000/0500 BOTE A: Captura de anticuerpo anti-Pstew. Diluido 1:200 Bote B: anti-ratón para Pstew Diluido 1:200	<i>Pstew</i>	

Para la detección de síntomas de enfermedades asociados al; *Sugarcane yellow leaf virus* (SCYLV) de importancia cuarentenaria y otras enfermedades, tales como el *Virus del Mosaico* (VM), enfermedad de

Fiji (*Fijivirus*), hoja blanca y mata zacatosa (fitoplasma), se realiza con el apoyo de imágenes o síntomas pictóricos y descritos (China, 1994; Rott, 2008).

Conclusiones

Con el cumplimiento estricto de los requisitos y normas oficiales durante el proceso de importación de variedades de caña de azúcar, el diagnóstico de detección oportuno de fitopatógenos durante la cuarentena cerrada y abierta durante los 18 meses, en la Estación Nacional Cuarentenaria de Tizimín, Yucatán, disminuye el riesgo de introducción y dispersión de las bacterias y virus de importancia fitosanitaria, hacia los Campos Experimentales Regionales y a la Estación de Hibridación donde se localizan las áreas productoras del cultivo.

Referencias

- Absorbance microplate reader operator's manual. ELx800™ · 2013. BioTek® Instruments, Inc. Highland Park, P.O. Box 998. Winooski, Vermont 05404-0998 USA.
- Candelero, C. Procedimiento cuarentenario de la caña de azúcar en la estación de Tizimín, Yucatán. XVII Congreso Internacional, XLII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, XVIII Asociación Latinoamericana de Fitopatología y LV Sociedad Americana de Fitopatología (APS=División caribe). Cd. de México, México. Del 19 al 23 de julio, 2015.
- Centro de Investigación Nacional de la Caña del Ecuador (CINCAE), 2007.
- China, A. (1994). Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). Ciudad de la Habana, Cuba. 11-100 p.
- China, A (2005): Raquitismo de los retoños de la caña de azúcar: Medio siglo de investigaciones en Cuba. Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal. La Habana, Cuba, mayo 24. Pp 62.
- Flores C. (1997). Las enfermedades de la caña de azúcar en México. Primera edición. México D.F. 285 p
- Girard, J. (2012). Genetic diversity of *Sugarcane yellow leaf virus* a sugarcane selection plot in Guadeloupe (FWI). *International Sugar Journal*. 114 (358): 96-100.
- Iglesia, L (2007). Aislamiento e identificación morfológica, bioquímica y Molecular de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* en Cuba. *Revista de Protección Vegetal*. 22 (1): 29-33.
- Rott, P. (2008). Recent advances in research on *Sugarcane yellow leaf virus*, the causal agent of sugarcane yellow leaf. *Sugarcane International*. 26(3):18-22.
- Norma Oficial Mexicana NOM-016-FITO-1995.