

NOTA TÉCNICA

Resistencia varietal en cultivares de caña de azúcar a la inoculación con *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson

Varietal resistance to *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson in sugarcane cultivars

Emma Elizabeth Ramírez Poletto

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), estado Táchira, Venezuela. Correo: eramirez@inia.gob.ve

RESUMEN

Se realizó una prueba de resistencia varietal para evaluar la resistencia a *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, en 19 cultivares venezolanos de caña de azúcar, más dos testigos, bajo la técnica de presión de inóculo. El proceso de inoculación fue por inyección de suspensión bacteriana (2×10^5 UFC) a nivel de tallo, en cada uno de los materiales genéticos. A los 20 días después de la inoculación las plantas fueron transplantadas al campo y se efectuaron tres (03) evaluaciones a intervalos de seis meses. Por medio de la técnica inmunoenzimática, se realizó análisis de laboratorio para comprobar la presencia de la bacteria en los cultivares estudiados. Los cultivares V99-236, V98-62, V98-120, V98-147, V91-15 y V99-203 fueron los que presentaron mayor número de tallos afectados por la enfermedad. Del análisis de laboratorio se evidenció que la bacteria permaneció en los cultivares inoculados, corroborando que los síntomas presentes fueron causados por *X. albilineans* y que la técnica de extracción del inóculo fue válida.

Palabras clave: Dot blot, escaldadura de la hoja, resistencia, susceptibilidad.

ABSTRACT

A research was made in order to evaluate the resistance of 19 Venezuelan sugarcane cultivars to *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, under the influence of inoculum pressure; two control treatments were included. The bacterial suspension was inoculated by injection in the stem (2×10^5 UFC) in each genetic material, then the plants were transplanted to the field 20 days after inoculation and three evaluations were performed at six-month intervals. Laboratory tests were carried out to verify the presence of the bacteria by means of immunoenzymatic technique. Cultivars V99-236, V98-62, V98-120, V98-147, V91-15 and V99-203 presented the highest number of stems affected by the disease. According to laboratory test, the bacteria remained in the inoculated materials, corroborating that symptoms presented were caused by *X. albilineans* and the inoculum extraction technique was valid.

Key words: Dot blot, leaf scald, resistant, susceptible.

INTRODUCCIÓN

La escaldadura de la hoja es una de las principales enfermedades de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) causada por la bacteria *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, presente en 57 países productores de caña de azúcar. Entre estos países se pueden mencionar a Puerto Rico, donde en el año 1966 resultaron afectadas las variedades 'Q93' y 'B49119'; en 1968 se observaron síntomas de la escaldadura en variedades de la colección mundial de Canal Point, Florida, Estados Unidos. En ese mismo año, la enfermedad fue reportada en Barbados en las variedades 'B49119' y 'B4362', consideradas como altamente susceptibles. En Trinidad en 1970, encontraron la enfermedad en plántulas de la serie 'BT66'. En 1975, así mismo se detectó en Panamá en campos comerciales de caña de azúcar, observándose que las variedades 'Cristal', 'B4362', 'B34104', 'B42231' y 'POJ2714' eran muy susceptibles a esta enfermedad (Ordosgoiti *et al.*, 1977 y 1988). En Veracruz, México se detectó por primera vez en 1992, afectando al cultivar MEX64-1487 (Huerta *et al.*, 2003a y b).

En Venezuela, para el año 1968, se detectaron síntomas de la escaldadura en la etapa experimental de la variedad 'B60321', introducida al país desde la Estación Experimental de Barbados. A partir de 1973, se observaron en parcelas experimentales, ubicadas en el Sistema de Riego Las Majaguas del estado Portuguesa, plantas aisladas en las que se evidenciaron síntomas en las hojas, como estrías discontinuas y blanquecinas, por lo que Ordosgoiti *et al.* (1977) dedujeron que se trataba de esta enfermedad bacteriana, identificando a *X. albilineans* (Ashby) Dowson como el agente causal de la sintomatología presente en los cañaverales del país.

La enfermedad evidencia dos cuadros típicos de síntomas: la fase crónica, que se caracteriza por presentar una fina raya blanca paralela a la nervadura principal; y la fase aguda, en la cual la raya se extiende hasta el borde de la hoja, provocando marchitez y necrosis. También presenta un periodo de latencia, donde las plantas infectadas no exhiben síntoma alguno (Rott *et al.*, 1995; Flores, 1997; Rott *et al.*, 1997).

En Australia y Guadalupe (Francia) se observó una disminución de la enfermedad con el uso de cultivares resistentes (Rott *et al.*, 1995), presentándose como el mejor método de control.

Considerando los argumentos antes señalados, se planteó el presente trabajo con el objetivo de evaluar la resistencia varietal en cultivares de caña de azúcar, de la última etapa de selección o ensayo regional grupo 13, a la incidencia de la bacteria *X. albilineans* (Ashby) Dowson, bajo presión de inóculo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Extracción del inóculo

Se colectaron muestras de plantas de caña de azúcar, en lotes comerciales ubicados en Carora estado Lara, que presentaban síntomas característicos de la enfermedad de escaldadura de la hoja. Para realizar la extracción del inóculo se tomaron secciones de hoja y tallo, que fueron lavadas con agua de chorro y desinfectadas con hipoclorito de sodio a concentración comercial. Las secciones fueron maceradas y ubicadas a temperaturas entre -10 y -20 °C por un lapso de 24 hrs. Luego se procedió a macerar nuevamente y colocar en tubos eppendorf contentivos de 0,5 cc de TBA. Los tubos fueron puestos en microcentrífuga a 14.000 RPM, 30 °C por un tiempo de 30 min.

Identificación del patógeno

Se utilizó el método de Sánchez *et al.* (2009), aplicando estriado del inóculo extraído, en caja de Petri contentiva de medio Wilbrink's selectivo para *X. albilineans* (Ashby) Dowson. Seguidamente, al observar el crecimiento bacteriano se procedió a identificar la presencia de la bacteria con las pruebas bioquímicas tales como oxidasa, catalasa, anaerobiosis, reducción de nitratos, arginina hidrólase.

Como prueba determinante de la presencia del patógeno en la suspensión se usó la técnica de DOT BLOT (Guzmán y Victoria, 2001), comparándose con controles negativos (agua destilada estéril) y controles positivos (diluciones desde 10^3 hasta 10^7 de *X. albilineans* (Ashby) Dowson, previamente aislada e identificada en el Laboratorio).

Proceso de inoculación

Una vez identificado el patógeno como *X. albilineans* (Ashby) Dowson y corroborada la no presencia de la bacteria en los cultivares bajo estudio, se procedió a la inoculación. Con este fin, se realizó la siembra de cinco mini esquejes, de cada material genético proveniente del Programa de mejoramiento genético de caña de azúcar del INIA Yaracuy, ubicado en la Estación Local Yaritagua, municipio Peña del estado Yaracuy. En este proceso se incluyeron dos testigos susceptibles a la bacteria:

C86-503 (medianamente susceptible: MS) y CC85-92 (altamente susceptible: AS), provenientes de Carora estado Lara (Cuadro 1).

Para la inoculación se utilizó el método de la inyección de 0,5 cc de suspensión bacteriana 2×10^5 UFC (Huerta *et al.*, 2003b), en la yema de cada mini esqueje. Adicionalmente, se colocó algodón impregnado con solución bacteriana y se selló con papel envoplast durante el periodo de emergencia de las plantas (Jiménez *et al.*, 2004).

Cuadro 1. Cultivares de caña de azúcar utilizados en la reacción a *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson.

N°	Cultivares	Procedencia	Tipo de material genético
1	V91-1	Programa de Mejoramiento Genético Caña de Azúcar del INIA Yaracuy	Cultivar
2	V91-2		Cultivar
3	V91-6		Cultivar
4	V91-8		Cultivar
5	V91-15		Cultivar
6	V98-62		Cultivar
7	V98-86		Cultivar
8	V98-120		Cultivar
9	V98-147		Cultivar
10	V98-158		Cultivar
11	V99-113		Cultivar
12	V99-117		Cultivar
13	V99-190		Cultivar
14	V99-203		Cultivar
15	V99-208		Cultivar
16	V99-217		Cultivar
17	V99-236		Cultivar
18	V99-245		Cultivar
19	V00-50		Cultivar
20	CC85-92	Lote Comercial Carora estado Lara	Testigo altamente susceptible
21	C86-503	Lote Comercial Carora estado Lara	Testigo medianamente susceptible

Ensayo de campo

A los 20 días después del proceso de inoculación las plantas fueron transplantadas al campo, previa poda por decapitación con tijera impregnada de solución bacteriana (Flores, 1997), para asegurar el proceso de infección. De cada uno de los cultivares se sembró un testigo sin inocular.

El ensayo de campo se estableció en lote experimental ubicado en la Estación Local Yaritagua (ELY) en el municipio Peña del estado Yaracuy, cuyos suelos son tipo Alfisol serie Uribeque y poseen un predominio de texturas medias a finas, con alta cantidad de partículas finas de limo y arcilla (Nass *et al.*, 2006; Latieque, 2009).

Se realizaron tres podas, en periodos de seis meses cada una, desinfectando el implemento de corte con solución a base de iodo al pasar de un material genético a otro. En cada poda, se realizaron observaciones de síntomas para evidenciar la permanencia de la bacteria inoculada en los diferentes cultivares. Se utilizó la escala definida por Ordosgoitti *et al.* (1988), quienes describen los diferentes criterios (síntomas) observados durante la infección con la bacteria y los relacionan con el grado de severidad y la reacción de la planta; en cuanto a susceptibilidad o resistencia adicionando a la evaluación criterios utilizados en las evaluaciones del área de fitopatología del Programa de Mejoramiento Genético del INIA Yaracuy.

Los criterios evaluados fueron: presencia o ausencia de estrías o rayas cloróticas en la lámina foliar, proliferación prematura de brotes laterales exhibiendo fajas cloróticas en la lámina foliar, presencia de coloración rojiza en la región nodal y en el meristema apical al realizar corte longitudinal al tallo de caña de azúcar, entrenudos cortos, hojas en penacho y tallos afectados por ser síntomas evidentes y relacionados con la presencia de la bacteria.

Para corroborar la presencia de la bacteria, muestras de tallos de cada cultivar fueron trasladadas al laboratorio de fitopatología de la ELY. Estas fueron procesadas y analizadas siguiendo el mismo procedimiento descrito en la obtención del inóculo e identificación del patógeno, ya descrito, con el fin de realizar el análisis inmunoenzimático a través de la técnica

de DOT BLOT (impresión por punto), como prueba determinante de la presencia o ausencia de la bacteria *X. albilineans* (Ashby) Dowson.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los cultivares de caña de azúcar en estudio, a los 20 días después de la inoculación, presentaron en campo síntomas asociados con la enfermedad escaldadura de la hoja coincidiendo el tiempo de expresión de síntomas con los reflejados por Jiménez *et al.*, 2004.

De los resultados obtenidos en campo (Cuadro 2) se puede evidenciar que todos los cultivares fueron susceptibles al ataque de la bacteria *X. albilineans* (Ashby) Dowson, bajo presión de inóculo; aunque solo siete (07) cultivares más los dos testigos presentaron la totalidad de la sintomatología característica de la enfermedad de escaldadura, como son entrenudos cortos, proliferación de brotes laterales, rayas blancas paralelas a la nervadura de la hoja y hojas en penacho.

El número de tallos afectados en los cultivares (V99-113, V99-203, V91-15, V98-147, V98-120, V98-62 y V99-236) que presentaron todos los síntomas evaluados (Cuadro 2) estuvo comprendido entre 6 y 34; sin embargo, estos no superaron los valores de tallos afectados de los testigos susceptibles y medianamente susceptible (38 y 35, respectivamente). De todos los cultivares considerados en el estudio el V99-217 no se pudo evaluar porque no se desarrolló después de la siembra en campo, perdiéndose en su totalidad.

Todo eso indica que el mecanismo de extracción del inóculo fue efectivo y puede ser recomendado en otras pruebas de resistencia futuras para el descarte o no de materiales genéticos de caña de azúcar.

En referencia a la pérdida total del cultivar V99-217 luego de sembrado en campo, pudiera estar influenciada por los hechos que se mencionan a continuación: se conoce que la bacteria *X. albilineans* es sistémica y causa oclusión de vasos del xilema (Roth *et al.*, 1994). Esto pudo deberse a la obstrucción de metaxilema y protoxilema por masas bacterianas, polifenoles y polisacáridos como lo reporta Huerta-Lara *et al.* (2009) en su trabajo de inoculación de

Cuadro 2. Síntomas asociados a escaldadura de la hoja presentados en los cultivares estudiados.

N°	Cultivares	Entrenudos cortos	Brotes laterales	Raya blanca	Hojas en penacho	N° de tallos afectados
1	V91-1	X	No	X	X	11
2	V91-2	X	No	X	X	7
3	V91-6	X	No	X	X	9
4	V91-8	X	No	X	No	6
5	V91-15	X	X	X	X	16
6	V98-62	X	X	X	X	30
7	V98-86	X	No	X	X	7
8	V98-120	X	X	X	X	21
9	V98-147	X	X	X	X	20
10	V98-158	X	No	X	X	7
11	V99-113	X	X	X	X	6
12	V99-117	X	No	X	X	3
13	V99-190	X	No	X	X	9
14	V99-203	X	X	X	X	11
15	V99-208	X	No	X	X	10
16	V99-217	P	P	P	P	P
17	V99-236	X	X	X	X	34
18	V99-245	X	No	X	X	4
19	V00-50	X	No	X	X	11
20	CC85-92	X	X	X	X	38
21	C86-503	X	X	X	X	35

X: Síntomas presentes; No: Síntomas ausentes; P: Cultivar perdido.

plantas de caña para evaluar la resistencia a *X. albilineans* a través de la oclusión de haces y lo expresado por Pérez Pérez *et al.* (2017) en “*Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson: susceptibilidad de los cultivares e impactos en el rendimiento azucarero”.

Del análisis de laboratorio se obtuvo que en los tres periodos de evaluación, la bacteria permaneció presente en los cultivares inoculados

corroborando que los síntomas presentes fueron causados por *X. albilineans* (Ashby) Dowson (Figura 1).

CONCLUSIÓN

Todos los cultivares en estudio mostraron síntomas de escaldadura, sin embargo los cultivares V99-113, V99-203, V91-15, V98-147, V98-120, V98-62 y V99-236, incluyendo los

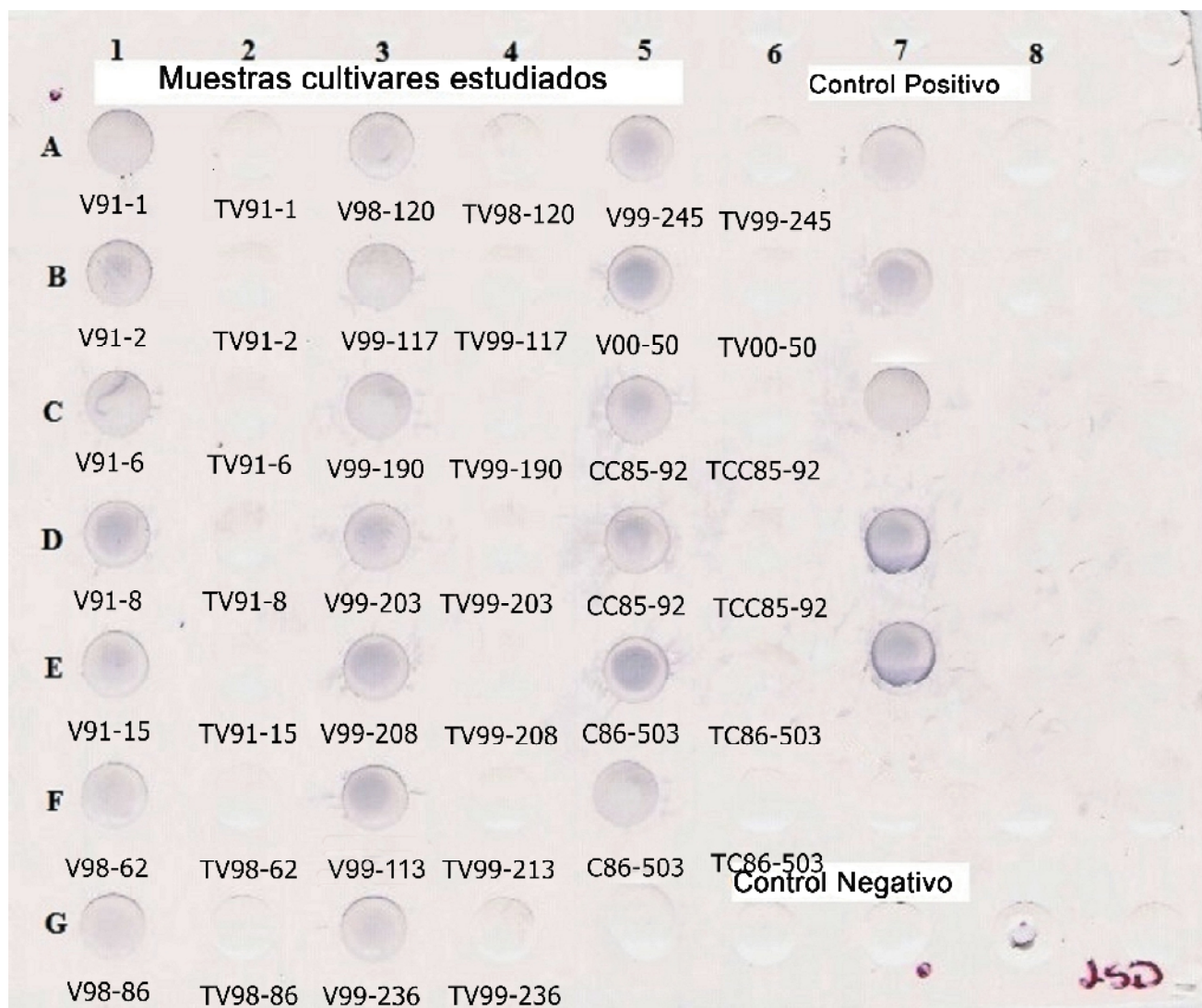


Figura 1. Membrana DOT BLOT realizada a los materiales inoculados con *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson

testigos, presentaron toda la sintomatología evaluada, variando en el número de tallos afectados, con un rango de 6 a 34 para esos cultivares y de 35 a 38 para los testigos; por lo que, se puede inferir que fueron altamente susceptibles considerando la escala de evaluación utilizada.

De los análisis de laboratorio se evidenció que la bacteria permaneció presente en los cultivares inoculados corroborando que los síntomas presentes fueron causados por *X. albilineans* (Ashby) Dowson.

LITERATURA CITADA

- Flores, C. 1997. Las enfermedades de la Caña de Azúcar en México. Silverio Flores Cáceres. México, D.F. 285 p.
- Guzmán, R. M. L. y K. J. I. Victoria. 2001. Evaluación de cinco enfermedades de la caña de azúcar mediante las técnicas de "dot-blot" y "tissue-blot" a partir de la misma muestra de tejido. Fitopatol. Colomb. 25(2):103-110.

- Huerta, L. M., A. L. D. Ortega, S. C. Landeros, Z. L. Fucikovsky y G. M. Marín. 2003a. Respuesta de 10 variedades de caña de azúcar a la escaldadura de la hoja [*Xantomonas albilineans* (Ashby) Dowson] en la región central costera de Veracruz. *Agrociencia* 37(5):511-519.
- Huerta, M., J. Sandoval, E. Cárdena, R. Rojas, S. Flores y M. Marín. 2003b. Evaluación de resistencia de Caña de Azúcar (*Saccharum officinarum* L.) Co 997 y MEX 64-1487, analizando colonización y dinámica poblacional de *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson en tallos. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21(3):316-322.
- Huerta-Lara, M., E. Cárdenas-Soriano, R. Rojas-Martínez, J. López-Olguín, D. Reyes-López, J. Bautista-Calles y O. Romero-Arenas. 2009. Oclusión de haces vasculares para evaluar resistencia de caña de azúcar a *Xanthomonas albilineans*. *Interciencia* 34(4):247-251.
- Jiménez, O., N. Contreras y H. Nass. 2004. *Xanthomonas albilineans* agente causal de la escaldadura foliar de la Caña de Azúcar (*Saccharum* sp.) en los estados Lara y Yaracuy. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 21(3):233-245.
- Latiegue R. 2009. La fertilidad de los suelos de la Estación Local Yaritagua del INIA Yaracuy y su uso para el cultivo de la caña de azúcar. *INIA Hoy*. 4:79-83.
- Nass, H., M. Ramón, M. Niño y J. George. 2006. Aspectos epidemiológicos de la peca amarilla de la Caña de Azúcar (*Passalora koepkei*) en Yaritagua, Venezuela. *Revista Facultad de Agronomía LUZ*. 23:181-187.
- Ordosgoitti, A., A. Manzano y A. Piñero. 1977. La escaldadura de la caña de azúcar en Venezuela (a). *Agronomía Tropical*. 27(2):235-249.
- Ordosgoitti, A., A. Aponte y R. Ventura. 1988. Reacción de variedades cubanas de caña de azúcar a *Puccinia melanocephala* H. Sydow et P. Sydow y *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson en Venezuela. *Agronomía Tropical*. 38:29-41.
- Pérez Pérez, Y., J. Pérez Milán, M. Echevarría, R. González Hernández y Y. Pellón Guzmán. 2017. *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson: susceptibilidad de los cultivares e impactos en el rendimiento azucarero. *Revista Centro Agrícola*. 44(1):23-27.
- Rott, P., M. Abel, D. Soupa, P. Feldmann and P. Letourmy. 1994. Population dynamics of *Xanthomonas albilineans* in sugarcane plants as determined with an antibiotic-resistant mutant. *Plant Dis*. 78:241-247.
- Rott, P., D. Soupa, Y. Brunet, P. Feldmann and P. Letourmy. 1995. Leaf scald (*Xanthomonas albilineans*) incidence and its effect on yield in seven sugarcane cultivar in Guadeloupe. *Plant Pathology*. 44:1075-1084.
- Rott, P., I. S. Mohamed, P. Klett, D. Soupa, A. de Saint-Albin, P. Feldmann and P. Letourmy. 1997. Resistance to leaf scald disease is associated with limited colonization of sugarcane and wild relatives by *Xanthomonas albilineans*. *Phytopathology*. 87:1202-1213.
- Sánchez, Y., O. Pino, T. Correa, E. Naranjo y A. Iglesia. 2009. Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de *Piper auritum* KUNTH (Caisimón de anís). *Rev. Protección Veg*. 24(1):39-46.