

Control de la Reinfeción del Virus de la Hoja Amarilla (SCYLV) en Plantas de Caña de Azúcar (*Saccharum officinarum*) var. B76-78 Mediante la Aplicación de Inductores SAR e Insecticidas Sistémicos en Condiciones de Campo

C. Burbano¹, F. Garcés²

¹Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)
Campus Gustavo Galindo, Km 30.5 vía Perimetral
Apartado 09-01-5863. Guayaquil-Ecuador

²Centro de Investigaciones de la Caña de azúcar del Ecuador (CINCAE)
Departamento de Fitopatología
Estación Experimental: Km 49,6 Vía Durán – Tambo
Casilla Letra “S” Guayaquil-Ecuador
rburbano@espol.edu.ec¹, fgarcés@cincae.org²

Resumen

El virus de la hoja amarilla (*Sugarcane Yellow Leaf Virus*, SCYLV) de la caña de azúcar en actualidad es eliminado mediante cultivo de meristemos, aunque este material nuevamente se reinfecta en presencia del áfido blanco (*Melanaphis sacchari* Zehnt), vector del virus. El ensayo consistió en el estudio del efecto de la aplicación preventiva de los insecticidas sistémicos Imidacloprid (*Confidor*) y Acefato (*Orthene*) e inductores SAR (**Resistencia Sistémica Adquirida**): el Ácido Salicílico (AS) y un Kit comercial (*Releaf-Stoler Co.*), para evitar la re-infeción de plantas con el SCYLV en condiciones de campo; además del análisis de la diseminación de *M. sacchari* Zehnt en plantas de la variedad B76-78. A los cuatro meses de edad del cultivo, los tratamientos combinados de insecticida con el AS (1.5mM) y el kit (1.2%), presentaron incidencias del 0.1% y 1.2%, respectivamente, comparados con el testigo sin tratamiento con 23.3%. A los ocho meses, los niveles aumentaron al 8% tanto para el Kit y el AS, comparado con el testigo 33%. La protección de las plantas, con la combinación de insecticidas e inductores de SAR, fue significativa, luego del diagnóstico realizado con TBIA (*Tissue blot Immunoassay*). El aumento en el TCH fue significativo con la aplicación de los inductores SAR, teniendo al Kit releaf 1.2% y AS 1.5 mM con valores que alcanzaron las 75 y 78 TCH respectivamente y en el control sin inductor fue de 61 TCH. La calidad de los jugos evidenció que ambos inductores presentaron los mayores valores comparados con el testigo. Los valores de TAH del tratamiento con AS 1.5 mM comparados con el testigo sin inductor, fueron más altos, asociadas con una menor infección de la enfermedad.

Palabras clave: SAR, ácido salicílico, TCH, TAH.

Abstract

Sugarcane Yellow Leaf Virus, (SCYLV) of the sugarcane actuality has been eliminated by meristems tissue culture, although this material is again infected in the presence of the white aphid (*Melanaphis sacchari* Zehnt), virus vector. The trial consisted of the study of the effect of the preventive application of the systemic insecticides Imidacloprid (*Confidor*) and Acefato (*Orthene*) and SAR (**Systemic Acquired Resistance**) inducers: Salicylic Acid (SA) and a commercial Kit (*Releaf-Stoler Co.*), for avoid the re-infection of plants with the SCYLV in field conditions; besides the analysis of the dissemination of *M. sacchari* Zehnt in plants of the cultivar B76-78. At four months after planting, the treatments combined of insecticide with the SA (1.5mM) and the kit (1.2%), they presented incidents of the 0.1% and 1.2%, respectively, compared with the control with 23.3%. At eight months, the levels reached 8% so much for the Kit and the SA, compared with the control 33%. The protection of the plants, with the combination of insecticides and SAR inducers, was significant, after diagnose carried out by TBIA (*Tissue Blot Immunoassay*). The increase in the TCH was significant with the application of the inducers SAR, having to the Kit releaf 1.2% and SA 1.5 mM with values that the 75 and 78 TCH reached respectively and the control without inducer was of 61 TCH. The quality of the juices evidenced that both inducers presented the biggest values compared with the control. The values of TAH of the treatment with AS 1.5 mM compared with the control without inducer was higher, associated with a smaller infection of the disease.

Keywords: Salicylic Acid, Systemic Acquired Resistance, Kit Releaf, TCH, TAH.

1. Introducción

El virus de la hoja amarilla (Sugarcane Yellow Leaf Virus, SCYLV) de la caña de azúcar ha sido encontrado en numerosos países productores de caña de azúcar asociándole con pérdidas en el rendimiento [4].

En la actualidad, el virus de la hoja amarilla (SCYLV) constituye un problema epidemiológico en Ecuador. Comercialmente se encontró en los ingenios San Carlos, Valdez y La Troncal con una incidencia promedio del 26.3 %, con máximos niveles hasta del 99.3 % de infección y se ha distribuido en el 73.8% de los canteros evaluados, en las variedades de reciente introducción [6].

Schenk et al, 2000, citado por Orellana [11]; menciona que el SCYLV es considerado un Póliovirus de la familia Luteoviridae, que posee un genoma compuesto por ARN de una sola banda de cinco a ocho Kb; y al igual que los demás virus de este grupo se encuentra limitado al floema. La proteína de la cápside tiene una masa molecular relativa de 27 KDa y no es glicosilada. Las partículas virales son de forma circular y poseen un diámetro de 22 a 24 nm.

Cuando no existen fuentes de resistencia genética, la producción de semilla sana es la principal medida preventiva para el manejo de enfermedades. En la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) las enfermedades de importancia económica se han manejado con esquemas de producción de semilla sana. Varios estudios han determinado la efectividad del tratamiento con agua caliente, la termoterapia y el cultivo de meristemas, observándose que cuando se combina la termoterapia con la extracción de meristemas para la producción de **plantas meristemáticas**, se logra eliminar bacterias y virus [15].

Aunque se pueda eliminar el SCYLV por cultivo de meristemas [2] y [3], es probable que este material nuevamente se contamine en presencia del áfido blanco (*Melanaphis sacchari* Zehnt.), vector del virus [6] y [9] y bajo la presión de fuentes de inóculo con altos niveles de infección. El control de insectos vectores de virus en caña de azúcar comercialmente es antieconómico e inefectivo [13], pero puede ser útil cuando se trata de semilleros sembrados con plantas meristemáticas.

En estudios realizados por Figueredo, L. et al. [8]; se infiere que la presencia de la enfermedad está relacionada con los niveles poblacionales del áfido vector y por los factores ambientales, particularmente la precipitación pluvial.

Por otro lado, una alternativa ante la falta de fuentes de resistencia genética puede ser la activación de la **resistencia sistémica adquirida** (SAR), el cual es un mecanismo **elicitado**, que activa la expresión de proteínas de resistencia (PR proteína) [7]. Recientemente se han registrado trabajos en banano, tomate y arroz, en los que han empleado agentes inductores de SAR, entre los que se encuentra el **Acido Salicílico**, el **Acibenzolar-S-Methyl** [1], [5], [10], [12] y compuestos elaborados con poliaminas y activadores de Ca^{+} – Calmodulina, como el **Kit Releaf** (Stoler Co.) [14] y otros.

El objetivo de este artículo es estudiar el efecto de la aplicación preventiva de insecticidas sistémicos e inductores de SAR, en la re-infección de plantas meristemáticas con el SCYLV en condiciones de campo.

2. Materiales y Métodos

2.1. Aplicación de Inductores SAR e Insecticidas Sistémicos

Se estudió el control del áfido blanco (*Melanaphis sacchari* Zehnt) en plantas meristemáticas de la variedad B76-78, mediante la aplicación preventiva del imidacloprid (Confidor) en dosis de 1ml.L^{-1} con una frecuencia mensual, alternado con el Acefato (Orthene) en concentraciones de 3g.L^{-1} . Al mismo tiempo que se aplicó el insecticida se utilizó dos productos que actúan como **inductores de resistencia sistémica adquirida** (SAR): el Ácido Salicílico (AS) en concentraciones de 0.5 mM, 1.0 mM y 1.5 mM y un Kit comercial (Releaf-Stoler Co.) al 0.8 %, 1.0 % y 1.2 % (v/v). Los tratamientos tanto de los insecticidas como de los inductores se efectuaron ocho días antes del trasplante y luego del mismo con una aplicación mensual hasta los ocho meses de edad del cultivo.

Para asegurar una adecuada presión de inóculo, alrededor del ensayo y entre bloques se mantuvo plantas infectadas con SCYLV e insectos vectores de la enfermedad (*M. sacchari*). Para el efecto se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas en el cual, la parcela principal lo constituyeron bloques con aplicación y no aplicación de insecticida, mientras que la subparcela estuvo conformada por los tratamientos con la aplicación de los inductores SAR y sus respectivas concentraciones.

2.2. Diagnóstico viral mediante TBIA

Para conocer la incidencia del virus, se efectuaron muestreos a los dos, cuatro y ocho meses después del trasplante, tomando de cada cepa la primera hoja con lígula visible (Top Visible Dewlap, TVD) utilizando para ello la herramienta inmunoenzimática Tissue Blot Immunoassay (TBIA). Los datos registrados se analizaron utilizando el programa InfoStat 2005. Para la separación de medias se utilizó la prueba de Duncan al 5%.

3. Resultados

3.1. Dinámica poblacional de *Melanaphis sacchari*

Se observó un aumento de la población de *M. sacchari* en la época seca, especialmente en noviembre, y luego decreció antes de empezar la estación lluviosa. La distribución del áfido en el campo en las primeras evaluaciones, fue aislada y en las siguientes fue mayor y con hábito gregario, alcanzando en la semana ocho un promedio de 5.68 áfidos por planta (Figura 1).

Estos resultados establecen claramente que la dinámica poblacional de *M. sacchari* está estrechamente relacionada con la presencia o ausencia de lluvias.

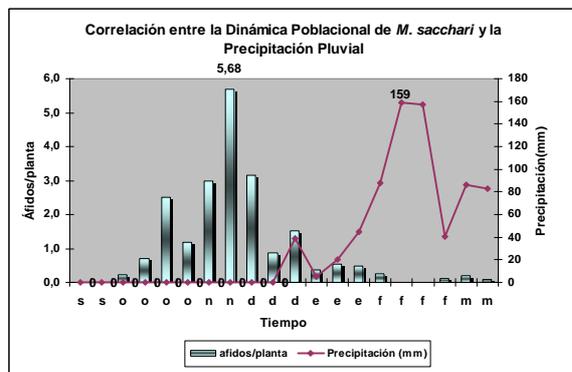


Figura 1. Dinámica poblacional de *M. sacchari* durante la estación seca y lluviosa.

Los datos obtenidos en el ensayo son similares a los mostrados por Figueredo, et al. [8], en el que existe un comportamiento similar entre los valores máximos poblacionales del insecto y el progreso en la incidencia de la enfermedad; no obstante que aunque la población de áfidos haya bajado a causa de las lluvias, las plantas seguirán irreversiblemente infectadas por el virus en estudio (Figura 2).

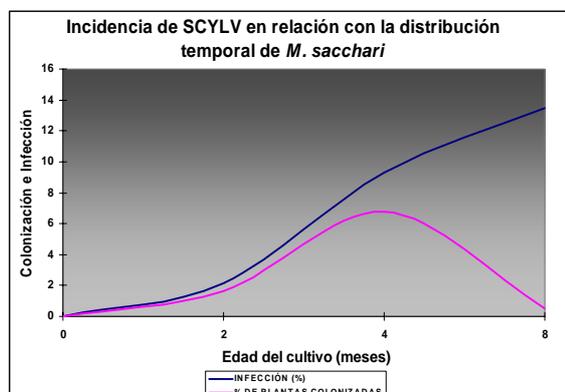


Figura 2. Fluctuación poblacional de *M. sacchari*, y desarrollo de la incidencia del virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar.

3.2. Acción de los insecticidas

Se pudo observar que en todos los bloques que recibieron tratamiento insecticida tanto los niveles de infestación por *M. sacchari*, así como los niveles de infección por el virus de la hoja amarilla fueron menores. Así por ejemplo, en los lotes con tratamiento insecticida la infestación alcanzó el 1% y la incidencia llegó al 14%, mientras que en los bloques sin insecticida la infestación por el áfido llegó al 49% y el porcentaje de infección alcanzó el 35% (Figura 3).

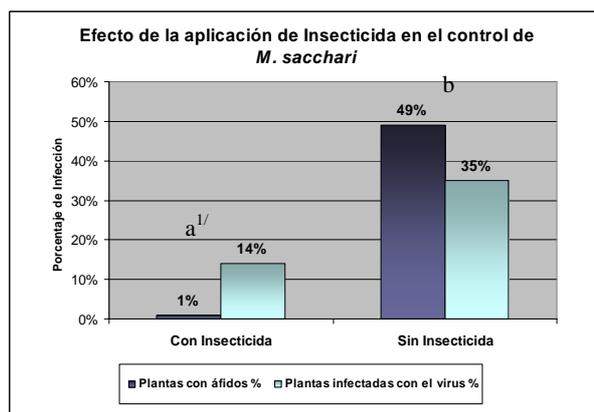


Figura 3. Efecto de la aplicación de Imidacloprid y Acefato, en el control del áfido blanco de la caña de azúcar, *Melanaphis sacchari* y en la infección de las plantas con el virus de la Hoja Amarilla. Promedios con las mismas letras son similares estadísticamente (Duncan $p=0.05$)

3.3. Efecto de los inductores SAR

Al registrar el porcentaje de plantas colonizadas y el porcentaje de plantas infectadas por el virus en cada uno de los tratamientos, se pudo observar el efecto de los inductores de resistencia sistémica AS (1.5 mM) y Kit Releaf (1.2%) comparados con el testigo sin inductor, al evitar la infección a pesar de la infestación por *M. sacchari*, lo que demuestra la eficiencia de estas moléculas activando los mecanismos de defensa de las plantas tratadas (Figura 4).

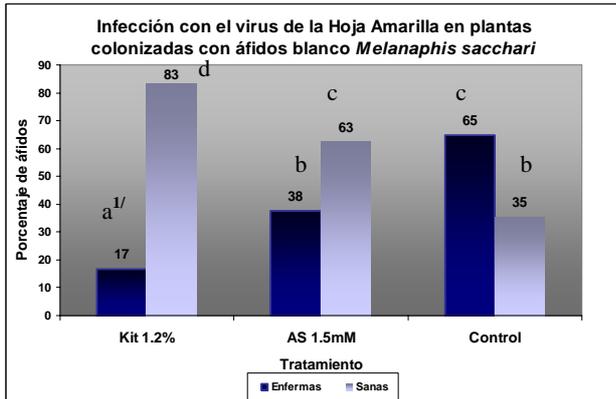


Figura 4. Porcentaje de colonización por *M. sacchari* y porcentaje de infección por SCYLV. Promedios con las mismas letras son similares estadísticamente (Duncan p= 0.05)

A los dos meses de edad del cultivo, los tratamientos combinados de insecticida con el AS (1.5mM) y el kit Releaf (1.2% v/v), presentaron incidencias del 0 % en ambos tratamientos, comparados con el testigo sin tratamiento que alcanzó el 3% de incidencia (Figura 5).

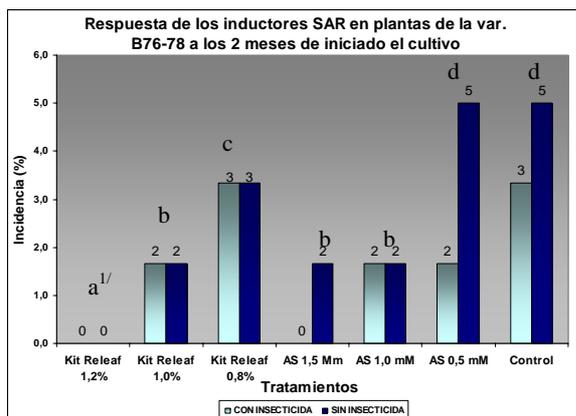


Figura 5. Incidencia de SCYLV a los dos meses de iniciado el cultivo en plantas de la variedad B76-78. Promedios con las mismas letras son similares estadísticamente (Duncan p= 0.05)

A los cuatro meses de edad del cultivo, los tratamientos combinados de insecticida con el AS (1.5mM) y el kit Releaf (1.2% v/v), presentaron incidencias del 0.1% y 1.2%, respectivamente, comparados con el testigo sin tratamiento con 23.3% (Figura 6).

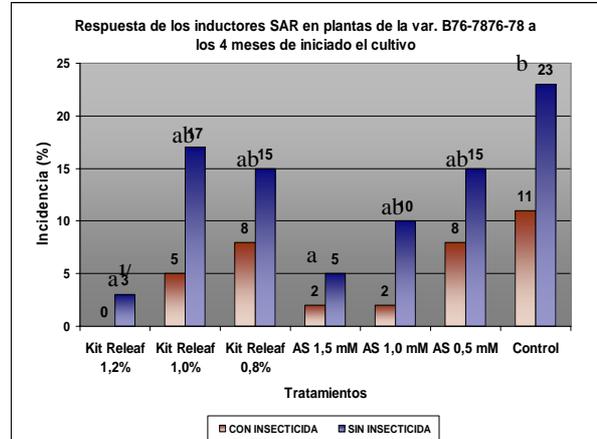


Figura 6. Incidencia de SCYLV a los cuatro meses de iniciado el cultivo en plantas de la variedad B76-78. 1/ Promedios con las mismas letras son similares estadísticamente (Duncan p= 0.05)

A los ocho meses de edad del cultivo, los niveles aumentaron al 8% tanto para el Kit Releaf (1.2%) y el AS (1.5 mM), comparado con el testigo 33% (Figura 7).

Es notorio además, que en todos los casos, los bloques no tratados con insecticida mostraron mayores porcentajes de infección por el virus, comparados con los bloques con tratamiento insecticida.

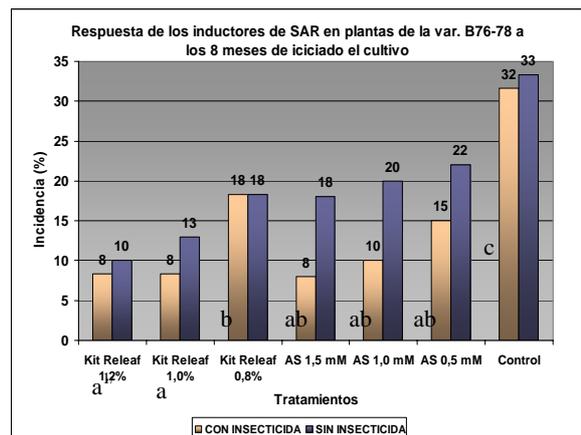


Figura 7. Incidencia de SCYLV a los ocho meses de edad del cultivo en plantas de la variedad B76-78. Promedios con las mismas letras son similares estadísticamente (Duncan p= 0.05)

3.4. Efecto sobre la producción

El aumento en la producción de caña expresada en toneladas de caña por hectárea (TCH) fue significativo, en las unidades experimentales con aplicación de los inductores de resistencia, teniendo a los tratamientos con el Kit releaf 1.2% y AS 1.5 mM con tonelajes que alcanzaron las 75 y 78 TCH respectivamente (Figura 8). El tonelaje más bajo fue observado en el control sin inductor con 61 TCH.

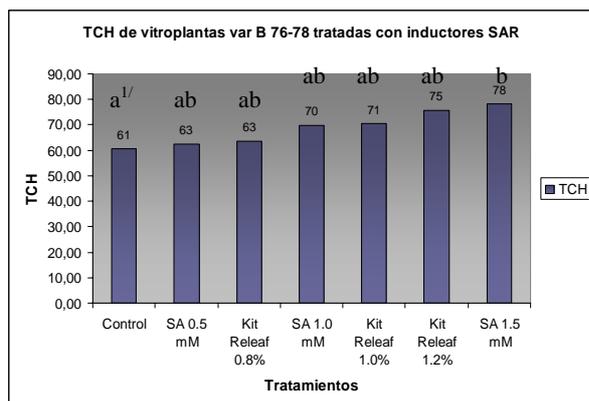


Figura 8. Efecto de los inductores SAR en el TCH (toneladas de caña por hectárea) en plantas meristemáticas var. B76-78. Promedios con las mismas letras son similares estadísticamente (Duncan $p=0.05$)

3.4. Efecto sobre el rendimiento azucarero

Cuando se determinó el TCH y la calidad de los jugos, se evidenció que las mayores concentraciones de ambos productos presentaron los mayores TCH y producciones de azúcar, comparados con el testigo sin la aplicación de inductor. Al comparar el TAH del tratamiento con Acido salicílico a la mayor concentración con el testigo sin inductor se produjeron más TAH, asociadas con una menor infección de la enfermedad (Figura 9).

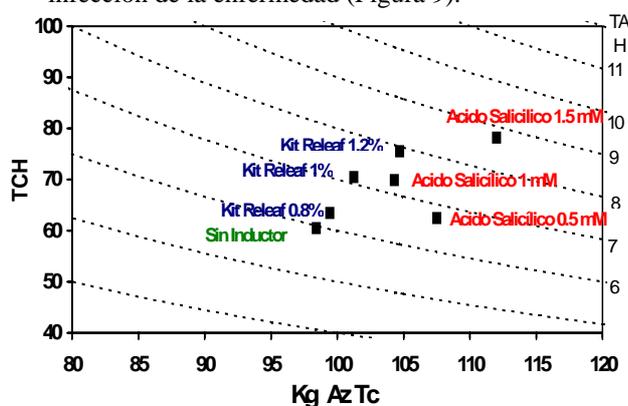


Figura 9. Efecto indirecto de la aplicación de inductores de SAR, en la producción y rendimiento de plantas meristemáticas de la variedad B76-78.

4. Discusión

La protección de las plantas meristemáticas, con la combinación de insecticidas e inductores de SAR, fue significativa, luego de los diagnósticos realizados con TBIA (Tissue blot Immunoassay); no obstante es menester continuar con la búsqueda de fuentes resistencia genética al virus de la hoja amarilla.

Hasta contar con variedades resistentes, una alternativa para prevenir la infección del SCYLV, consiste en la producción de semilla sana vía cultivo de meristemas y evitar la re-infección temprana de esta semilla en el campo.

Es importante tener en cuenta que las aplicación de los inductores e insecticidas en este experimento se realizaron mensualmente, ya que no conocemos cual debe ser la frecuencia de aplicación de estos productos y por otro lado que estas aplicaciones son dirigidas a prevenir la reinfección de las plantas meristemáticas, mas no para incrementar TCH y rendimiento como madurador, ya que es un resultado indirecto debido al control de la infección de la enfermedad.

5. Conclusiones y Recomendaciones

Aunque se observaron resultados promisorios, es necesario realizar otras evaluaciones en cuanto a frecuencias de aplicación, estabilidad de la resistencia y reacción de otras variedades, antes de su recomendación. Si se siembra en Diciembre se escaparía a las poblaciones del vector y de esta forma a la infección con el virus. Por otro lado, si se realizan las siembras de plantas meristemáticas en junio, se recomendaría aplicar los insecticidas Imidacloprid y Acefato, antes de la siembra y luego en el campo, de acuerdo a un oportuno monitoreo de las poblaciones del vector.

6. Referencias Bibliográficas

- [1] Baysal, Ö., Soyly, EM y Soyly, S. 2003. Induction of Defence-Related Enzymes and Resistance by the Plant Activator Acibenzolar-S-Methyl in Tomato Seedlings Against Bacterial Canker Caused by *Clavibacter michiganensis*. Plant Pathology, vol 52, Issue 6, pp. 747-753. (en línea). Consultado el 13 mayo 2005. Disponible en www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1365-3059.2003.00936.
- [2] Chatenet, M.; Delage, C.; Ripolles, M.; Lockhart, B. And Rott, P. 2001. Detection of Sugarcane Yellow Leaf Virus in Quarantine and Production of Virus-free Sugarcane by Apical Meristem Culture (en línea) Plant

- Diseases 85:1177-1180. Consultado 26 agosto. 2005. Disponible en <http://apsnet.org/pd/pdfs/2001/0830-01R.pdf>.
- [3] Comstock, J.C. and Miller, J. D. 2001. Yield Comparisons: Disease-Free Tissue-Culture Versus Bud-Propagated Sugarcane Plants and Healthy Versus Yellow Leaf Infected Plants (en línea). Consultado 06 mar 2005. Disponible en www.assct.org/journal/JASSCT%20PDF%20Files/vol24/A03-01%20Comstock%20final.pdf
- [4] Comstock, J. and R. A. Gilbert, A. 2001. Sugarcane Yellow Leaf Disease (en línea). Consultado el 23 may 2006. Disponible en edis.ifas.ufl.edu/SC074.
- [5] Csinos, A.; Pappu, H.; McPherson, R. and Stephenson, M. 2005. Management of Tomato spotted wilt virus in Flue-Cured Tobacco with Acibenzolar-S-Methyl and Imidacloprid (en línea). Consultado 01 dic. 2005. disponible en www.apsnet.org/pd/+toc/2005/dse05tc.htm.
- [6] Garcés, F.; Orellana, E.; y Medina, R. 2004. Estudio de la transmisión del virus del síndrome de la hoja amarilla (SCYLV) y del virus del mosaico (SCMV) por insectos en caña de azúcar del Ecuador. Carta informativa Año 6. No 4. Jul. – Agosto. 2004. CINCAE.
- [7] Gozzo, F. 2004. Systemic Acquired Resistance in Crop Protection (en línea). Outlooks on Pest Management 10.1564 Consultado 2 jun. 2005. Disponible en www.researchinformation.co.uk/pest/sample/15-1/11-Gozzo.pdf.
- [8] Figueredo, L., Henández L. y Linares, B. Relación epidemiológica entre áfidos (homoptera: afididae) y enfermedades virales en el cultivo caña de azúcar en los valles de los ríos Turbio y Varacuy, Venezuela. Caña de Azúcar Vol. 22(01):5-19. 2004 (en línea). Consultado 20 marzo 2007. Disponible en www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasCientificas/canadeazucar/cana2201/arti/figueredo.htm.
- [9] Lehrer, A; Schenck, S; Fitch, M; Moore, P and Komor, E. Distribution and Transmission of Sugarcane Yellow Leaf Virus (SCYLV) in Hawaii and its Elimination from Seedcane. 2004 (en línea) Hawaii Agriculture Research Center. Pathology Report 68. Consultado 02 jul 2005. Disponible en www.hawaiiag.org/harc/PATH67.pdf
- [10] Momol, M.; Olson, S.; Funderburk, J. and Stavisky, J. 2004. Integrated Management of Tomato Spotted Wilt on Field-Grown Tomatoes (en línea). Plant Diseases 88:882-890. Consultado el 06 jul. 2005. Disponible en <http://199.86.26.56/pd/pdfs/2004/0608-01R.pdf>.
- [11] Orellana, E. 2004. Estudio de la transmisión del virus de la hoja amarilla (SCYLV) por insectos en caña de azúcar. Tesis Mag. Sc. Guayaquil, Ec. Universidad de Guayaquil. 45 p.
- [12] Romero, M.; Kousik, C. and Ritchie D. 2001. Resistance to bacterial Spot in Bell Pepper Induced by Acibenzolar-S-Methyl (en línea). Consultado 26 enero 2006. Plant Dis. 85:189-194. Disponible en www.apsnet.org/pd/pdfs/2000/1208-01R.pdf.
- [13] Schenck, S.; Lehrer, A.T. y Wu, K.K. 2001. Yellow Leaf Syndrome (en línea) Hawaii Agriculture Research Center. Pathology Report 68. Consultado 02 jul 2005. Disponible en www.hawaiiag.org/harc/PATH67.pdf
- [14] Stoller Company. 2004. Kit Releaf. Hoja de datos técnicos.
- [15] Victoria, et al. 1999. Pathogen-free Seed Cane Production and its Impact on a Commercial Scale. Proceedings of the XXIII ISSCT Congress. (1999, New Delhi, India). Eds. Singh, V y Kumar, V.