



UNIVERSIDAD DE MATANZAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA



Tesis presentada en opción al Título Académico Máster en Ciencias Agrícolas

Mención Producción de Caña de Azúcar

Tratamiento térmico a la semilla de caña de azúcar: Una medida sostenible en el control de plagas.

Autor: Ing. Yoannys Leyva Vinaiza

Matanzas, marzo de 2021



UNIVERSIDAD DE MATANZAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA



**Tesis presentada en opción al Título Académico
Máster en Ciencias Agrícolas
Mención Producción de Caña de Azúcar**

Tratamiento térmico a la semilla de caña de azúcar: Una medida sostenible en el control de plagas.

Autor: Ing. Yoannys Leyva Vinaiza

Tutores: Dr.C. José R. Pérez Milian

Dr.C. Yosel Pérez Pérez

Matanzas, marzo de 2021

Nota de aceptación

Presidente del Tribunal

Tribunal

Tribunal

Ciudad y fecha

Declaración de autoridad

Declaro que soy el único autor de este Trabajo y como tal autorizo a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Matanzas y al Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar a hacer, en dependencia de su importancia, contenido y estructura, la utilización que estimen pertinente del mismo.

Ing. Yoannys Leyva Vinaiza

Dedicatoria

A la memoria de mi padre.

Agradecimientos

Deseo expresar mis más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que han contribuido en mi formación profesional y en la realización de esta tesis:

A la Revolución cubana por darme la oportunidad de poder superarme y en particular, a su líder Histórico Fidel Castro, por los valores inculcados.

A mis padres, por su amor y dedicación.

A mi hermana y a Dianelis por el apoyo brindado y su eterno amor.

A mis tutores, Dr. C. José R Pérez Milian y Dr.C. Yosel Pérez Pérez por sus enseñanzas, esmero y apoyo incondicional en la elaboración de esta tesis.

Al MSc. José Cirilo Acosta Granados por su ayuda durante mi formación profesional, sus orientaciones y revisión de esta tesis.

A mis compañeros de la Maestría, por sus valiosos consejos y solidaridad.

A los profesores de la Maestría, por su abnegada entrega en nuestra formación.

A mis compañeros de trabajo.

A mis amigos por sus sabios consejos.

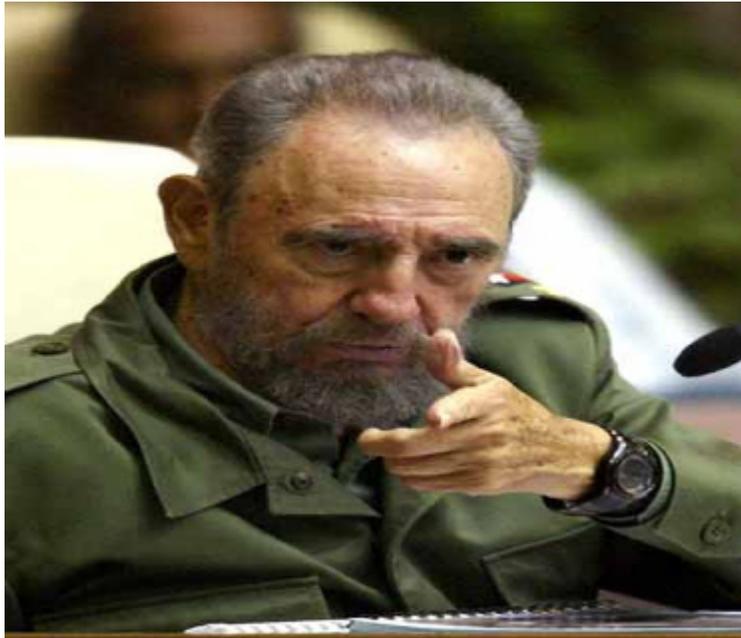
Para todas aquellas personas que de una forma u otra han participado en la realización de este trabajo, tengo una imperecedera deuda de GRATITUD.

Muchas Gracias.

Pensamiento

...“No hay duda de que las variedades con que cuenta nuestra Agricultura Cañera son incomparablemente superiores a las que había en el capitalismo”...

Fidel Castro Ruz



Opinión de los tutores.

La Maestrante Ing. Yoannys Leyva Vinaiza, por su ocupación actual dentro del sistema AZCUBA está estrechamente relacionada con los diferentes aspectos abordados en esta tesis, de la cual es autora; todos los temas tratados forman parte de su contenido de trabajo condición que le permite un amplio dominio de los mismos.

Los lectores podrán apreciar que se trata de un documento en el cual se abordan temas que van desde el diagnóstico inmunoquímico hasta los trabajos de monitoreo en el campo, lo cual lo convierten en un tema atractivo y lo suficientemente técnico para cumplimentar el objetivo para el cual ha sido elaborado.

Su autora está lo suficientemente capacitada para su defensa e intercambiar con el tribunal y el auditorio acerca de toda la problemática abordada, apercibida de las necesidades y reclamos generalizados sobre la protección al medio ambiente sin descuidar las necesidades de elevar la productividad de los cultivos y el control de enfermedades y plagas.

Doy fe de que la aspirante es la autora del trabajo de tesis y por lo tanto solicito al tribunal una calificación en correspondencia con la calidad del documento y la defensa ejercida por la maestrante.

Tutores: Dr.C. José R Pérez Milian y Dr.C Yosel Pérez Pérez.

RESUMEN

La producción de azúcar y derivados son la misión y objetivos principales del Grupo Azucarero AZCUBA, constituyendo la caña de azúcar la materia prima que la sustenta; a diferencia de otros cultivos, la utilización de bancos de semilla no es una práctica común en muchos Países. Sin embargo, la selección de fuentes sanas de material para la siembra ha demostrado ser esencial para el control sobre todo de ciertas patologías sistémicas, por tales motivos el uso de la semilla certificada se ha convertido en una práctica sistemática en Cuba. El objetivo de este trabajo radica en estudiar el efecto del tratamiento hidrotérmico sobre la inactivación de las bacterias *Xanthomonas albilineans* y *Leifsonia xyli*, agente causal de las enfermedades escaldadura foliar y raquitismo de los retoños de la caña de azúcar, respectivamente. Además de la técnica inmunoquímica UMELISA-DAS, se validó la tinción de los vasos del xilema como alternativa para certificar la calidad de la hidrotermoterapia. Se obtuvo alto porcentaje de control de ambas bacterias con el tratamiento con agua caliente a 51⁰C/1 hora y se constató la alta propagación del RSD en la Empresa Ecuador de Ciego de Ávila como consecuencia de un mal funcionamiento de la planta de tratamiento con agua caliente en este territorio, así como el impacto de la enfermedad en el rendimiento agrícola de algunos cultivares. Se recomienda sistematizar el monitoreo de la semilla con las técnicas estudiadas, perfeccionar y sistematizar el tratamiento hidrotérmico y aprovechar los resultados de esta tesis en la preparación de estudiantes y productores.

Palabras claves: Tratamiento térmico, escaldadura foliar, raquitismo, semilla, agua caliente.

Abstract

Sugar and byproducts are the main objectives and mission of the Grupo Azucarero AZCUBA and sugarcane is the primary matter that support this industry different from other cultures, the utilization of seed nurseries is not a common practice in many countries, but selection of healthy material to plantation has demonstrated to be essential to control some systemic diseases. For this reason, the utilization of categorized seed is a common practice in Cuba. The objective of the present thesis is to study the effect of hot water treatment on inactivation of bacteria *Xanthomonas albilineans* and *Leifsonia xyli*, causal organisms of diseases leaf scald and ratoon stunting disease, respectively. Besides, the immunochemical technic UMELISA-DAS, was validated by means of staining by transpiration method of xylem vessels, as alternative to certificate quality of hidrothermotherapy. Was obtained high percentages of control in both bacteria by means of hot water treatment with 51 degrees Celsius during 60 minutes and was demonstrated the high propagation of RSD in the Ecuador Enterprise, Ciego de Avila province as a result of bad working of hot water treatment plants in that Territory, as well as the impact of this disease on agricultural yields in some cultivars. It is recommendable to systematize monitoring the Seed System by means of studied new technics, to improve and systematize the hot water treatment and apply results discussed in this thesis to train students and cane growers.

Key Word: hot treatment, leaf scald, stunting, seed, hot water.

Tabla de contenido.

1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 La caña de azúcar.....	3
2.2 Breve reseña histórica del cultivo de la caña de azúcar en Cuba.....	3
2.2.1 Causas principales de la declinación de los cultivares.....	5
2.2 Las enfermedades. Conceptos generales.....	7
2.2 La producción de semilla.....	8
2.3 El tratamiento térmico.....	10
2.4 Composición actual de cultivares en áreas comerciales de Cuba.....	14
2.5 Enfermedades que afectan el cultivo de la caña de azúcar en Cuba.....	15
2.5.1 Escaldadura foliar.....	18
2.5.2 Raquitismo de los retoños (RSD).....	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
3.1 Estudiar el efecto del tratamiento hidrotérmico sobre la inactivación de la bacteria <i>Xanthomonas albilineans</i> agente causal de la enfermedad escaldadura foliar de la caña de azúcar.....	20
3.1.1 Efectos del tratamiento térmico sobre la brotación de las yemas de diferentes cultivares de caña de azúcar.....	20
3.1.2 Efecto del tratamiento térmico sobre la viabilidad de la bacteria <i>X. albilineans</i>	21
3.2 Propagación del RSD en las empresas estudiadas.....	21
3.2.3 Diagnóstico de la bacteria <i>L. xyli</i> en el área muestreada.....	22
3.2.4 Determinación de las pérdidas.....	23
3.2.5 Medición del efecto de la hidrotermoterapia en el control del RSD.....	23
3.2.6 Certificación de la calidad del tratamiento hidrotérmico sobre la calidad de la semilla.....	24
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
4.1 Estudiar el efecto del tratamiento hidrotérmico sobre la inactivación de la bacteria <i>Xanthomonas albilineans</i> agente causal de la enfermedad. escaldadura foliar de la caña de azúcar.....	26
4.1.1 Efectos del tratamiento térmico sobre la brotación de las yemas de diferentes cultivares de caña de azúcar.....	26
4.1.2 Efecto del tratamiento térmico sobre la viabilidad de la bacteria <i>X. albilineans</i>	28
4.2 Propagación del RSD en las empresas estudiadas.....	33
4.2.3 Diagnóstico de la bacteria <i>L. xyli</i> en el área muestreada.....	36

4.2.4 Determinación de las pérdidas	36
4.2.5 Medición del efecto de la hidrotermoterapia en el control del RSD.	38
4.2.6 Certificación de la calidad del tratamiento hidrotérmico sobre la calidad de la semilla.	40
5. CONCLUSIONES.....	44
6. RECOMENDACIONES	45
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

1. INTRODUCCIÓN

La producción de azúcar y derivados son la misión y objetivos principales del Grupo Azucarero AZCUBA, constituyendo la caña de azúcar la materia prima que la sustenta, por lo que debemos tener presente que la atención y correcta plantación del cultivo constituyen importantes aspectos en el logro de estos objetivos. Las buenas prácticas que se emplean comienzan con una adecuada estructura de cepas y composición de cultivares que responda a los intereses productivos así como al cumplimiento de determinados parámetros e indicadores fitosanitarios.

Podemos decir que, a diferencia de otros cultivos, la utilización de bancos de semilla no es sistemática en la caña de azúcar. Sin embargo, la selección de fuentes sanas de material para la siembra ha demostrado ser esencial para el control sobre todo de ciertas patologías sistémicas, por tales motivos el uso de la semilla se ha venido imponiendo en la mayoría de las regiones cañeras. Esta práctica representa, sin lugar a dudas una efectiva medida de control, que junto a la utilización de cultivares resistentes constituyen las más importantes y casi exclusivos elementos con que contamos para tener plantaciones sanas y poder competir ventajosamente con las enfermedades.

De acuerdo con informes de la Organización Mundial para la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO, 2016), su cultivo se extiende por cerca de 21 millones de hectáreas en el mundo, con oscilaciones en la producción, que dependen de las condiciones suelo-climáticas, las tecnologías aplicadas y la incidencia de plagas.

PROBLEMA CIENTÍFICO.

El raquitismo de los retoños y la escaldadura foliar de la caña de azúcar son dos enfermedades vasculares que se trabajan en Cuba desde hace muchos años, sin embargo se desconoce la propagación actual de estas bacterias en los campos comerciales, así como el efecto que se logra con las técnicas de saneamiento empleadas y la efectividad de los métodos empleados para su evaluación y por lo tanto las posibles afectaciones a la producción comercial de caña.

HIPÓTESIS

Si se conociera la propagación actual de las bacterias *Leifsonia xyli* y *Xanthomonas albilineans* en los campos comerciales de caña de azúcar se pudieran recomendar medidas para el perfeccionamiento del tratamiento hidrotérmico en los bancos de semilla y contribuir de esta forma a la reducción de escapes de las bacterias y evitar con ello los efectos negativos que se producen sobre el rendimiento de las plantaciones infectadas.

OBJETIVO GENERAL.

Perfeccionar el sistema nacional de producción de semilla categorizada de caña de azúcar mediante la optimización del tratamiento hidrotermico y los métodos empleados para su evaluación.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Valorar el efecto del tratamiento hidrotérmico sobre la inactivación de la bacteria *Xanthomonas albilineans* agente causal de la enfermedad escaldadura foliar de la caña de azúcar.
2. Estudio de caso Raquitismo de los Retoños: pérdidas y propagación actual de la enfermedad.
3. Evaluar la Tinción por Transpiración de los Vasos del Xilema en la certificación de la calidad del tratamiento hidrotérmico a la semilla de caña de azúcar.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1 La caña de azúcar.

La Agroindustria azucarera representó históricamente la actividad económica más importante de la economía cubana, al ser la fuente principal de ingresos en divisas durante muchísimos años, y la garantía para la adquisición de créditos externos. Hoy es una fuente considerable de empleo y por su efecto multiplicador sobre otros sectores, constituye una referencia por excelencia (Martin, 2014).

Actualmente su principal componente, la caña de azúcar, clasificada como ***Saccharum officinarum*** L. es considerada en varios países, como un cultivo prioritario desde el punto de vista económico y social; es principalmente de regiones tropicales y subtropicales, por lo que está expuesto a la acción de factores bióticos y abióticos los cuales inciden directamente en los rendimientos. Entre los primeros las enfermedades, constituyen un factor de reconocida importancia (China *et al.*, 2000; Jiménez *et al.*, 2004).

2.2 Breve reseña histórica del cultivo de la caña de azúcar en Cuba.

Es originaria de Nueva Guinea y pertenece al género *Saccharum*, del cual son reconocidas cinco especies: *S. spontaneum*, *S. robustum*, *S. sinense*, *S. barberi* y *S. officinarum*, y fue esta última la especie más utilizada por mucho tiempo para el consumo humano directo (Barber, C. A. (1920).

Sus mejores exponentes se cultivaron progresivamente durante siglos y estuvieron sometidos a procesos fabriles artesanales para la obtención de azúcar (Badila, Bourbon, Caledonia Amarilla, Black Cheribon, Striped Cheribon, Cristalina, Caña Blanca (Othaite), Criolla). También se conoce que en la India y en China se cultivaron variedades de *S. barberi* y *S. sinense* que no tenían un rendimiento tan elevado, pero si un satisfactorio contenido de sacarosa y resistían los factores ambientales adversos. Hasta el siglo XIX y principio del siglo XX la industria azucarera dependió de las variedades nobles de *S. officinarum* (Moore, Paterson y Tew, 2014).

A Cuba llega la caña el 13 de mayo de 1516, cuando Pedro Díaz de Tabares introduce desde República Dominicana la “Criolla”; comienza así el desarrollo de

la industria azucarera y con ello la evolución de las variedades que han sido su sustento (Pérez *et al.*, 1997 y Chinae *et al.*, 2007).

El reemplazo de variedades obedece o bien al completamiento de su ciclo de explotación útil, que se manifiesta a partir de la declinación de los rendimientos, a la aparición de plagas que dañan la fisiología y con ello las producciones, o a la ruptura del equilibrio entre sus genes de resistencia y los de virulencia en los patógenos, a causa de la aparición de nuevas razas.

Ante la compleja situación fitosanitaria que origina el cambio climático y el monocultivo de pocas variedades, se ha impuesto el uso de la resistencia horizontal, más segura y duradera, únicamente posible con la explotación de una mayor variabilidad genética, por ello el concepto de cultivares líderes o ampliamente difundidas ha tomado un carácter obsoleto. Se pretende hacer un análisis de la evolución de estos en la industria azucarera cubana, del desarrollo alcanzado por las que predominaron en su extensión, las causas de su reemplazo y las políticas y estrategias que deben seguirse para preservar aquellos de mayor plasticidad y eficiencia.

Por un extenso período de más de 300 años (1511-1830) la industria azucarera en Cuba, dependió de variedades nobles originarias de *S. officinarum* como la Criolla, Blanca y la Cristalina, pues se desconocían las posibilidades de intencionar el mejoramiento genético mediante la fecundación de las inflorescencias. En la tabla 1 se presentan los principales cultivares (variedades) que desde su introducción hasta la fecha han liderado su cultivo en Cuba, así como las principales causas por las que fueron descartadas de las áreas comerciales.

No existen evidencias claras de la sustitución de la Criolla por la Blanca y de ésta última por la Cristalina, pero es muy probable que los largos e intensos períodos de explotación a que fueron sometidas hayan representado una disminución de sus potenciales productivos, aunque existen informes de que la Blanca superaba a la Criolla en riqueza sacarina y pureza de los jugos. Obsérvese que, entre las cuatro primeras, tres de ellas fueron explotadas por más de cien años (Pérez *et al.*, 1997 y Chinae *et al.*, 2007).

Tabla 1. Evolución de las variedades de caña de azúcar más expandidas en la industria azucarera cubana.

Variedad	Período de explotación	Área Nacional (%)	Causas de eliminación
Criolla	1511-1820	40-100	Presunta declinación del rendimiento
Blanca	1780-1835	60-80	Presunta declinación del rendimiento
Cristalina	1830-1944	35-90	Susceptible VMCA
POJ2878	1945-1969	50-67	Declinación del rendimiento de campo
B4362	1970-1978	35-45	Susceptibilidad a roya marrón
Ja60-5	1979-1999	40-63	Susceptibilidad a roya marrón y carbón
C323-68	1979-	20-30	6,1% del área cierre 2018
C86-12	2002-	15-25	19,2% del área cierre 2018

2.2.1 Causas principales de la declinación de los cultivares.

Las causas de la declinación del rendimiento de los cultivares aún son desconocidas, sin embargo, algunos autores sustentan la hipótesis de que la misma está relacionada con la tolerancia del cultivar frente a algunas enfermedades, sobre todo aquellas carentes de síntomas específicos (Koike, 1977). En este sentido Singh (1977) escribió que el tiempo durante el cual un cultivar se mantiene en explotación dependerá de su resistencia al raquitismo de los retoños. En 1920 se informa la aparición del virus del mosaico de la caña de azúcar, enfermedad que irrumpe en todos los países cañeros; esta devastadora patología puso fin a más de un siglo de explotación (114 años) de la Cristalina en Cuba y marcó el inicio del reemplazo de variedades por causas fitopatológicas.

En 1858 en Barbados se descubre la fertilidad de la semilla botánica, hecho relevante sin trascendencia hasta 27 años más tarde, cuando Sotwedel hace el redescubrimiento, motivado por la necesidad de encontrar variedades resistentes a la enfermedad del Sereh. Resultados ya efectivos del mejoramiento genético se visualizan en 1921 con la obtención de POJ2878, que resultó resistente al virus del mosaico, con una rápida propagación por el mundo cañero que significó una verdadera revolución en los trabajos de mejoramiento genético y con ello el reemplazo en Cuba de la Cristalina.

Aunque POJ2878 predominó durante casi un cuarto de siglo, sus niveles de propagación fueron inferiores al de las variedades que le antecedieron, lo que

significó disponer de mayor variabilidad genética y con ello sostener la resistencia al virus del mosaico.

El desarrollo de los trabajos de mejoramiento genético, permitieron disponer de nuevos híbridos con niveles sacarinos cercanos a los de las variedades de *S. officinarum* inicialmente cultivadas y resistentes al virus del mosaico, como B4362 que se convirtió en una opción ventajosa para sustituir a POJ2878 que comenzaba a declinar sus rendimientos.

Denominada la Reina del Caribe, B4362 rápidamente (1970-1978) alcanzó en Cuba niveles de propagación (35-45%) cercanos a los logrados por su antecesora, que la práctica demostró el verdadero riesgo y peligro que encierra sobrepasar los límites de propagación, que comprometen la diversidad genética. Este cultivar constituyó un claro ejemplo de que la resistencia genética a una plaga, una vez quebrada no puede ser restituida. Actualmente, aunque solo se mantiene en pequeñas áreas experimentales como patrón y fondo de infección de las pruebas de resistencia genética, sus niveles de infección son los mismos.

La naturaleza compleja del genoma de la caña de azúcar, deja muy pocas probabilidades de que en un híbrido estén presentes múltiples caracteres favorables, tales como el contenido azucarero alto y sostenido durante todo el período de cosecha, amplia adaptabilidad, estabilidad y tolerancia a plagas y enfermedades, por ello Ja60-5 puede considerarse el hecho más significativo del mejoramiento genético del pasado siglo en Cuba. Puede atribuírsele el origen del desacertado criterio de manejo de “*variedad universal*”, para justificar la propagación desmedida en contra de la diversidad genética. No puede negarse tampoco su importante papel en la sustitución de B4362, devastada por la epifítia de la roya marrón.

Sustentó la producción azucarera del país en el momento que la roya y el carbón se convirtieron en un verdadero problema, por los altos niveles de propagación e intensidad que alcanzaron. Sus excelentes bondades la condujeron a un ya conocido peligroso desarrollo vertiginoso. En pocos años llegó a ocupar más de 60% del área cañera nacional y cuando hubo conciencia de las consecuencias que ello podría traer, a partir de la experiencia anterior de B4362, fue tarde para

impedir el cumplimiento de los postulados de que” por *cada gen de resistencia en el huésped, existe un gen de virulencia en el patógeno*”.

La resistencia vertical lograda hasta ese momento con casi su monocultivo se perdió, y con ello su resistencia a la roya y el carbón, éste último con índice de plantones y tallos afectados de más de 50%, razones por las cuáles su ciclo de vida solo alcanzó los 20 años (1979-1999). Si hubiera apelado a tiempo a la resistencia horizontal, a través del aporte de una mayor variabilidad genética con la explotación simultánea de más variedades, con una extensión más pequeña, de seguro hoy todavía se dispondría de sus bondades, pero en estos casos los daños son irreversibles.

2.2 Las enfermedades. Conceptos generales.

El estudio de los síntomas, las causas y los mecanismos del desarrollo de las enfermedades de las plantas, se encuentra justificado desde el punto de vista científico y representan una fuente de información muy interesante, pero sobre todo es de gran utilidad debido a que permite el diseño adecuado de métodos para combatirlas y de esta forma se aumenta la cantidad y se mejora la calidad de los productos vegetales (Agrios, 2005).

La caña de azúcar, cultivo más extendido en Cuba, es atacado en el mundo por más de 100 organismos patógenos (Chinea *et al.*, 2014), la mayoría considerados como enfermedades menores, sin embargo, seis de los más agresivos, dos virus, dos hongos y dos bacterias, reconocidos también como enfermedades mayores en todo el mundo donde tienen incidencia, están presentes en el País. Entre los Procariontes (Reino: Prokaryotae) están ocasionando fuertes pérdidas ***Xanthomonas albilineans*** (Ashby) Dowson que ocasiona la enfermedad escaldadura foliar, y ***Leifsonia xyli subsp. xyli*** (Davis *et al.*, 1984) agente causal del raquitismo de los retoños de la caña de azúcar.

Los métodos de control varían considerablemente de una enfermedad a otra, dependiendo del tipo de patógeno, del hospedante y de la interacción que se establece entre ambos. Estos pueden clasificarse como: culturales, biológicos, físicos y químicos, dependiendo de la naturaleza de los agentes que se utilicen para controlar las enfermedades.

2.2 La producción de semilla.

Podemos decir que, a diferencia de otros cultivos, la utilización de bancos de semilla no es sistemática en la caña de azúcar. Sin embargo, la selección de fuentes sanas de material para la siembra ha demostrado ser esencial para el control sobre todo de aquellas patologías sistémicas; por tales motivos el uso de la semilla certificada se ha venido imponiendo en la mayoría de las regiones cañeras. Esta práctica representa, sin lugar a dudas, una efectiva medida de control, que junto a la utilización de cultivares resistentes constituyen los más importantes y casi exclusivos elementos con que contamos para tener plantaciones sanas y poder competir ventajosamente con esas enfermedades.

Actualmente en Cuba se ejecuta un programa de obtención de semilla categorizada de caña de azúcar que contempla dos vías fundamentales:

- 1- la forma normal de multiplicación o forma tradicional.
- 2- la biotecnología.

En ambos procesos, aunque en la práctica cumplen objetivos comunes, pueden observarse diferencias sustanciales, que se enmarcan en los métodos empleados, características de su aplicación, recursos necesarios y posibilidades de explotación. Pérez (1994) se refiere a que con un sistema de semilla rígido deben garantizarse tres objetivos principales:

- a. organizativo, ya que permite proyectar el desarrollo de variedades sobre bases científicas;
- b. económico, pues la calidad de la semilla incrementa los rendimientos, reduce las resiembras y evita el uso de plantaciones comerciales como semilla;
- c. biológico, basado en el eficiente control que puede hacerse de las enfermedades utilizando una semilla de calidad, además de que alarga la vida útil de una variedad manteniendo su pureza genética.

El sistema tradicional de producción de semilla y el método biotecnológico tienen también sus puntos de contacto; en ambos procedimientos el tratamiento térmico juega un importante rol, pues en el mismo se basa el saneamiento y este a su vez es el que se combina con la micropropagación para garantizar que la semilla llegue al final con un estado fitosanitario óptimo. Pérez *et al.*, (1995) al analizar la

situación de este trabajo en Cuba plantean la necesidad de resolver determinados factores de carácter subjetivo y sobre todo de ganar la comprensión de los productores y factores dirigentes acerca de la utilidad de ambos procedimientos para garantizar una adecuada población de los campos, buen estado fitosanitario y alta productividad.

En la metodología de trabajo o esquema tradicional de obtención de semilla de caña de azúcar (Anexo 1) debe garantizarse el saneamiento ante el raquitismo de los retoños (RSD) producido por *Leifsonia xyli subsp. xyli*, y la escaldadura foliar *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, cuando se realizan las siembras comerciales este material debe haber recibido por lo menos tres tratamientos térmicos (China y Pérez, 1994) además de la erradicación de otras patologías.

La producción de azúcar y derivados son la misión y objetivos principales del Grupo Azucarero AZCUBA, constituyendo la caña la materia prima que la sustenta, por lo que debemos tener presente que la zafra azucarera se hace con la correcta plantación del cultivo. Entre las actividades que se ejecutan en su proceso productivo está la producción de semilla, reconocida en Cuba como un proceso constituido por tres etapas: básica, registrada y certificada (Jorge *et al.*, 2011).

En el siglo XIX el sabio cubano Don Álvaro Reynoso señaló: “Cuando existen excelentes condiciones del terreno y usamos una débil simiente, al final se obtendrán resultados aceptables en caso de que germinen, pero se habrá perdido la posibilidad de obtener el máximo beneficio si se hubiese utilizado una semilla óptima” (Reynoso, 1862).

El programa de categorización de semilla de caña de azúcar está avalado por un sistemático trabajo de supervisiones y certificación que fiscaliza: pureza varietal, selección de material vegetal a propagar, atenciones culturales requeridas y detección y control de plagas y enfermedades a través de los Servicios, de Variedades y Semilla (SERVAS) y Fitosanitario (SEFIT) del INICA y la labor de las Estaciones Territoriales de Protección de Plantas de Sanidad Vegetal pertenecientes al Ministerio de la Agricultura (MINAGRI).

El INICA cuenta con nueve Bancos de Semilla Básica (BSB), situados en las provincias Mayabeque, Matanzas, Cienfuegos, Sancti Spíritus, Ciego de Ávila, Camagüey, Las Tunas, Holguín y Santiago de Cuba; existen, además, 62 Bancos de Semilla Registrada (BSR). tres en Artemisa, cuatro en Mayabeque, cinco en Matanzas, 11 en Villa Clara, cinco en Cienfuegos, dos en Sancti Spíritus, cuatro en Ciego de Ávila, ocho en Camagüey, cuatro en Las Tunas, cuatro en Holguín, cinco en Granma, cinco en Santiago de Cuba y dos en Guantánamo (INICA, 2019).

2.3 El tratamiento térmico.

Singh (1972) plantea la utilidad de un proceso continuo de producción de semilla utilizando la termoterapia con aire caliente resaltando como cuestión básica la organización de este trabajo. Esta temática también ha sido trabajada en Brasil por COPERSUCAR desde donde se reciben informes que reflejan la importancia de la actividad, sobre todo para garantizar el material de siembra con un estado sanitario óptimo (COPERSUCAR, 1987, 1988 y 1989). Muchos datos pudieran ofrecerse que dan fe de los beneficios que aporta un buen trabajo en la semilla, sobre todo en la producción del área.

Pérez(1985) logró incrementar con hidrotermoterapia (HTT) a $53^{\circ}\text{C} \cdot 20\text{minutos}^{-1}$ tres veces la producción de un campo cuando comparó plantaciones tratadas y no tratadas, mientras que Santana (1994) informa que la micropropagación aumentó las medias del número de tallos y la altura, incrementando por lo tanto la producción de las variedades en estudio.

Se ha estudiado también la utilidad de la termoterapia para facilitar los intercambios de genotipos de caña de azúcar a través de la cuarentena, lo cual resulta un requisito obligatorio en la mayoría de los países que cultivan la caña (Waterworth y Kahn, 1978).

Una revisión acerca de la hidrotermoterapia para el control de enfermedades muestra la siguiente situación:

Tabla 2. Combinación de temperatura, tiempo y exposición propuesto por diferentes autores.

Tratamiento	Autor
50,5°C/2h	Thompson, 1970, James, 1971; Gupta, 1977.
50,5°C/1h+triadimefon 5g/l	Steindl, 1971.
52°C/35 min	Byther y Steiner, 1973.
52°C/20 min	COPERSUCAR, 1983.
50°C/30 min	Victoria, <i>et al.</i> , 1984.
Pre-tratamiento en agua 25°C/44h+ 50°C/3h	Baudin, 1984.
52°C/30 min	Pérez y Mauri, 1986.
52°C/30 min+Propiconazol 500 ppm	Pérez y Mauri, 1986
Remojado en agua a temperatura ambiente + 50°C/2,5-3h	Frison y Putter, 1993.
50°C/30 min+50°C/2,5-3h	China y Pérez, 1994.
50°C/2-3h	Steindl, 1951; Steindl y Hughes, 1953.
50°C/3h	Steindl, 1961.
50,5°C/2h	Thompson, 1970; Matsuoka, 1976, 1981, 1983, 1984; COPERSUCAR, 1983; Gheller y Godoy, 1987; Chagas y Matsuoka, 1988.
Pre-tratamiento agua 25°C/44h + 50°C/3h	Steindl, 1971; Baudin, 1984.
1 ^{er} día 52°C/20 min 2 ^{do} día 57,3 °C/20 min	Benda, 1975; Benda y Ricaud, 1977.
1 ^{er} día 50°C C/20 min 2 ^{do} día 50°C C/20 min	Benda, 1975; Benda y Ricaud, 1977.
52 °C C/30 min	Benda, 1975.
53°C/20 min, 53°C/30 min, 53 C/1h	Pérez <i>et al.</i> , 1981.
Esperar 18 horas después del corte 1 ^{er} día pre-tratamiento 50°C/10 min. 2 ^{do} día 50,5°C/2 h	Victoria <i>et al.</i> , 1986.
Remojado 48h+50°C/2,5-3h	Frison y Putter, 1993; China y Pérez, 1994.

Relacionado con los objetivos a cumplir, los tratamientos hidrotérmicos pueden ser largos o cortos; más de 13 enfermedades pueden ser erradicadas de los trozos de caña empleados para la siembra (Benda y Ricaud, 1977). Resultados de Pérez (1988) demuestran que el tratamiento corto de 53°C /20 minutos tiene un efecto positivo sobre la brotación de las yemas, aunque Benda (1975) también lo utilizó con éxito para controlar el RSD, siempre que trató tallos jóvenes.

En Australia se emplea la HTT desde hace más de 20 años para controlar el RSD, y, Roach *et al.*, (1992) consideran que la ventaja principal está dada por la posibilidad que tiene la caña, dentro del esquema de semilla, de reciclar por el tratamiento térmico. En Cuba Pérez *et al.*, 1995 probaron en la provincia de Sancti Spiritus que con un uso racional de la HTT en el banco básico se redujo la propagación e intensidad del RSD hasta 26,4 y 12,5, mientras que, según China

et al., (1993) las medias del país son de 81,8 y 63,5 respectivamente; por esta razón el país perdió el 19% de la producción durante la zafra 1993-1994 como resultado del efecto del RSD (Pérez *et al.*, 1994).

Actualmente Cuba se encuentra inmersa en la producción de vitroplantas para lo cual existe un grupo de biofábricas y laboratorios, con el objetivo de que sean empleados directamente en los bancos de semilla; sobre este aspecto Pérez (1994) plantea que aunque están a punto las metodologías a utilizar y existe la posibilidad potencial de un salto positivo en la introducción de esta tecnología a gran escala en la agricultura cañera cubana, tiene la preocupación del manejo que en el campo se le dará al material obtenido.

Evidentemente, y aunque existe en nuestro país toda una infraestructura creada para el trabajo con la semilla (Figura 1), se pretende alcanzar resultados superiores a los logrados hasta la fecha.

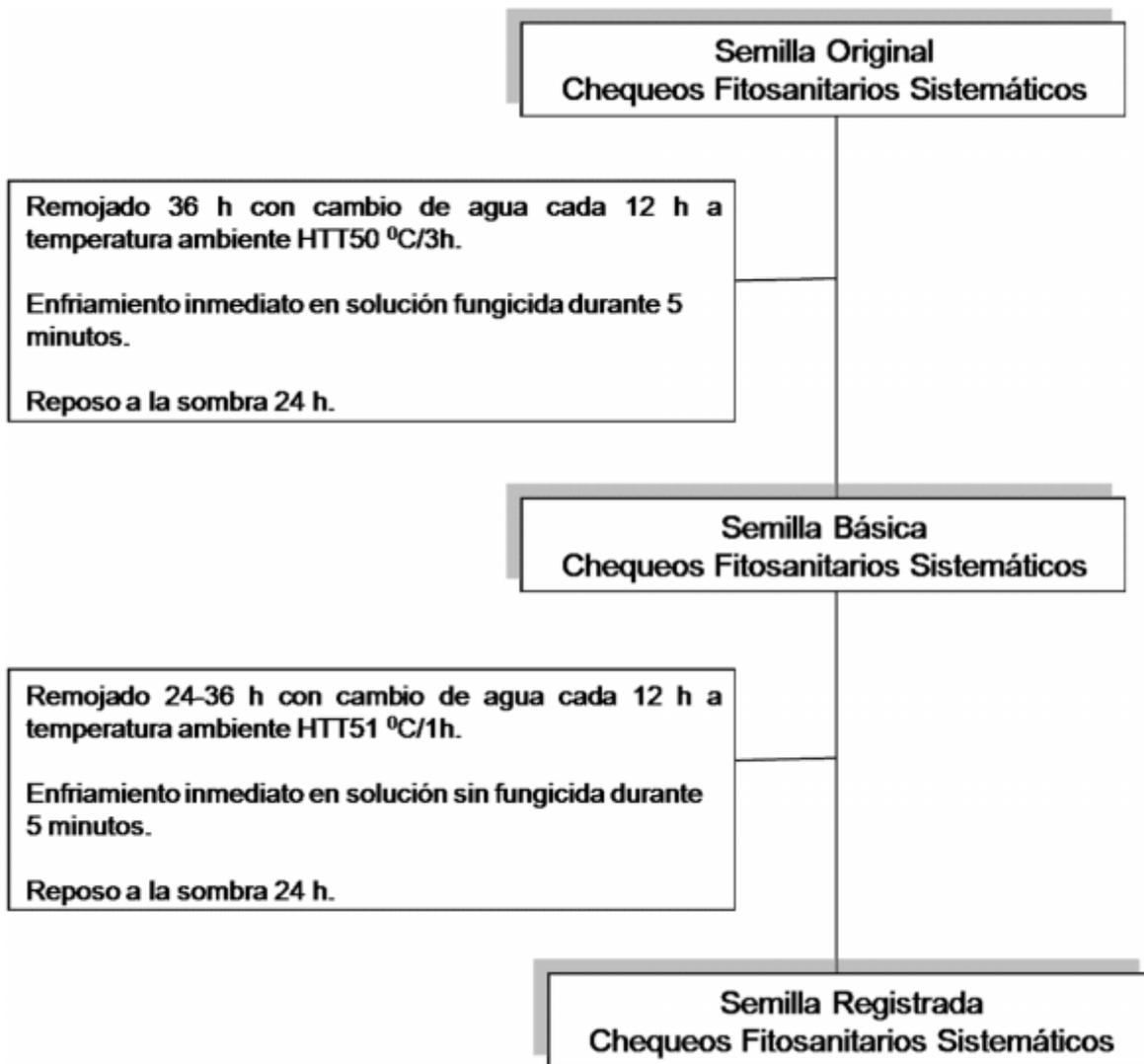


Figura 1. Esquema recomendado para la certificación de la semilla de caña de azúcar en Cuba.

En la reunión nacional de variedades, semillas y sanidad vegetal efectuada en el IBP de Villa Clara (1994) se hizo un llamado urgente a la recuperación del sistema de semilla, así como a la aplicación del reglamento existente al efecto, priorizando todos los mecanismos que lo garantizan. En esta reunión se rindió un informe que refleja el crecimiento ascendente que se observa en las enfermedades transmitidas por la semilla. Según China *et al.*, (1993) El raquitismo de los retoños alcanzaba un nivel de propagación que sobrepasaba el 80% del área nacional; por otra parte, Pérez *et al.*, (1994) plantearon que durante la zafra 1993-1994 se dejó de producir el 19% del azúcar posible a obtener como resultado de la afectación por *L. xyli* a las principales variedades azucareras del país, por lo que se propuso entonces,

como procedimiento para el control de estas enfermedades lo relacionado en la figura 1.

2.4 Composición actual de cultivares en áreas comerciales de Cuba.

En Cuba hay plantados actualmente 82 cultivares, de ellos 70 obtenidos por el programa de mejoramiento genético que lidera el Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA), los cuales ocupan 525994,3 ha (80,4%) y 12 introducidos, extendidos en un área de 133169,4 ha (20,2%). Los cultivares azucareros representan el 76,2% del área total (498311,6 ha).

De acuerdo con la información ofrecida en la Reunión Nacional de Variedades, Semilla y Sanidad Vegetal (INICA, 2019) 11 cultivares cubren más del 3% de la superficie cañera en el país: C86-12, C90-469, CP52-43, C323-68, C1051-73, C86-156, C86-56, C87-51, B80250, Co997 y C86-503, ocupan 487103,0 ha para 73,9% del área cañera nacional (Fig. 2).

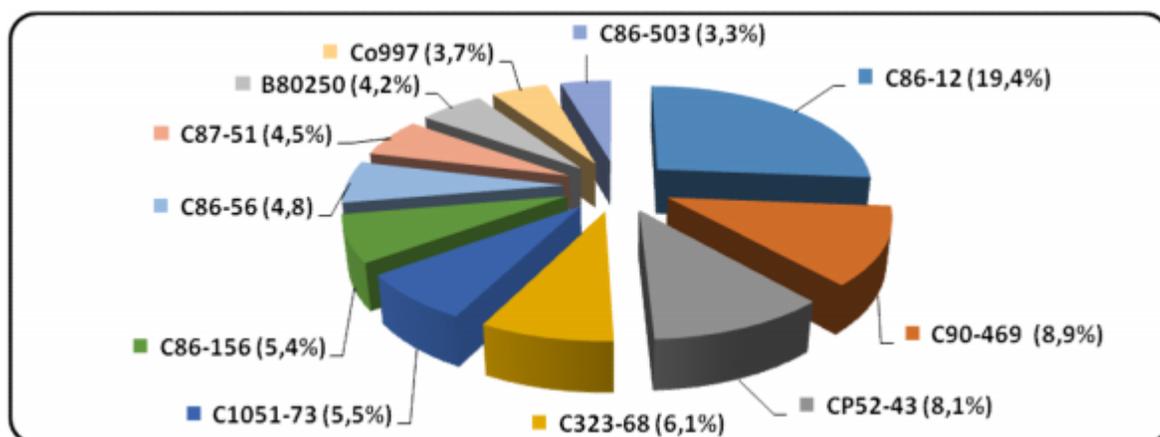


Figura 2. Composición de cultivares en Cuba, según censo de diciembre 2018, donde solo se incluyen los que ocupan el 3% o más del área cañera nacional.

Como se observa en la figura 1 el cultivar más extendido en Cuba es C86-12 con el 19,4% del área nacional total, sin embargo, el mismo pudiera estar por encima del área técnicamente recomendada (25%) en alguna Unidad Empresarial de base (UEB), siempre que la estrategia provincial sea correcta, como ocurre en la provincia de Matanzas (Figura 3).

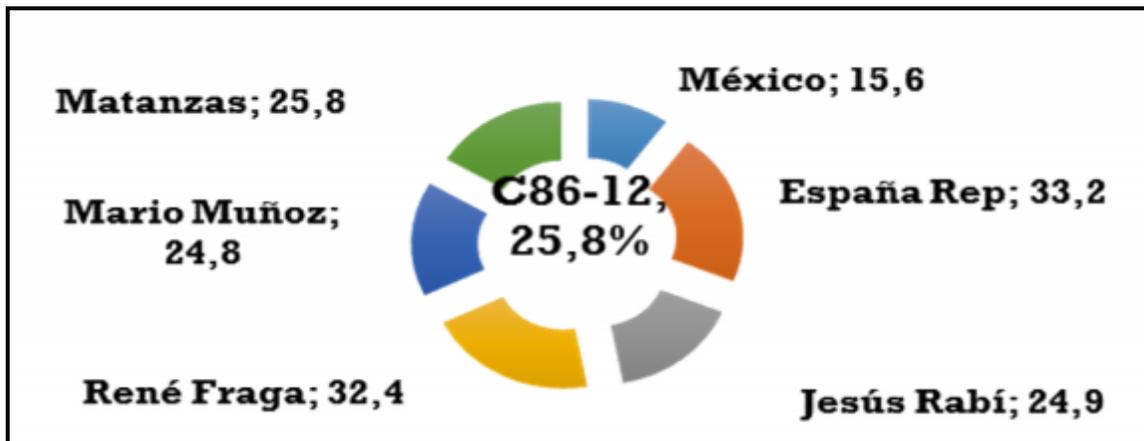


Fig. 3. Relación de variedades que ocupan más del 20% del área a nivel de Unidad Empresarial de Base y Empresa Azucarera Matanzas.

2.5 Enfermedades que afectan el cultivo de la caña de azúcar en Cuba.

El efecto de las plagas de la caña de azúcar, como en otros cultivos ha sido una de las principales causas de pérdidas en la industria azucarera. Durante muchos años la escasez de cultivares destacados condujo a muchos países a basar sus producciones de caña de azúcar en uno o como máximo dos cultivares resistentes a las principales enfermedades del cultivo.

La evolución de las enfermedades en el mundo cañero como en Cuba, ha tenido un crecimiento vertiginoso en las últimas décadas. En el año 1946 solo existían 23 patologías que causaban daños a la caña de azúcar en el país y actualmente esta cifra se ha elevado a 59 (Figura 4) pero lo más importante aún, es el incremento de su intensidad de ataque a las plantaciones, influido probablemente por los cambios del ambiente (Rodríguez *et al.*, 2014).

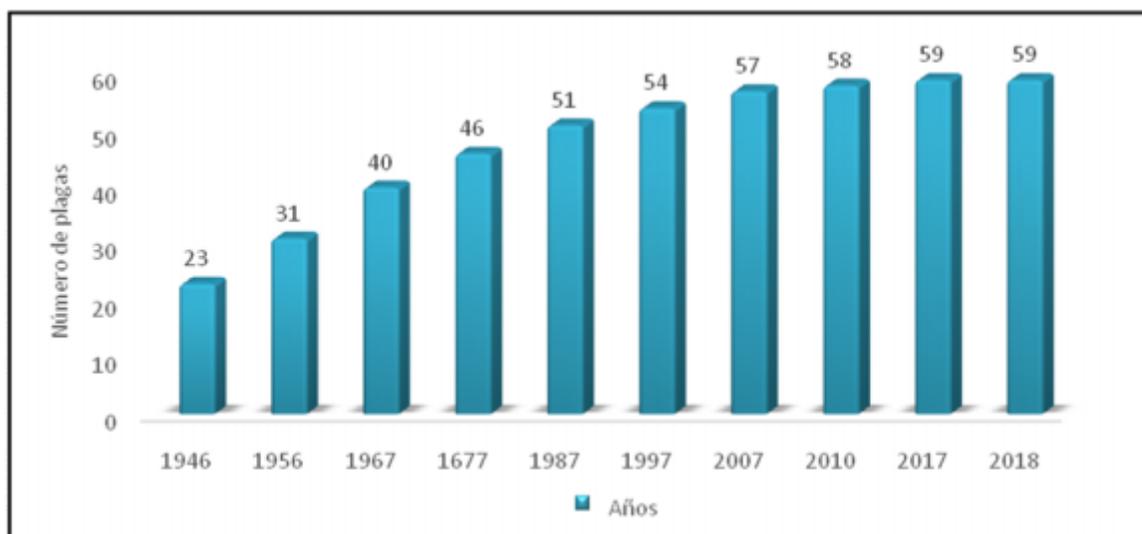


Figura 4. Evolución de las enfermedades de la caña de azúcar en Cuba.

Los organismos y causas responsables de las enfermedades en la caña de azúcar en el mundo y en Cuba según diferentes autores (Chinea *et al.*, 2012; Rott *et al.*, 2013; Martin *et al.*, 2015) se relacionan en la tabla 3.

Tabla 3. Causas y número de enfermedades de la caña de azúcar diagnosticadas en el mundo y Cuba.

Causas	Total	
	En el mundo	Cuba
Virus y organismos semejantes	8	4
Fitoplasmas	5	1
Bacterias	12	6
Hongos	87	36
Plantas parásitas	3	1
Otras causas	13	6
Causas indeterminadas	12	5
Total	140	59

Lo anterior ha conducido al establecimiento, dentro del Programa de Mejoramiento Genético que desarrolla el INICA, de una estrategia de resistencia a enfermedades, en dependencia de su importancia, así como a realizar estudios de las relaciones Hospedante: Patógeno: Ambiente, forma de herencia de la resistencia y otros aspectos de carácter biológico.

En Cuba se consideran en la caña de azúcar como patologías de importancia el carbón [*Ustilago scitaminea*, Sydow = *Sporisorium scitamineum* (M.Piepenbr., M.

Stoll, & Oberw)], roya parda (*Puccinia melanocephala* Sydow and P. Sydow), mosaico (VMCA) y más recientemente la escaldadura foliar [*Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson] y Raquitismo de los Retoños (RSD) *Leifsonia xyli* sub sp *xyli* Davis, los cuales constituyen criterios de selección de acuerdo a su nivel de importancia. Esto hace muy compleja la liberación de cultivares totalmente inmunes a las cinco enfermedades.

Entre los cultivares de caña de azúcar que de una u otra forma se explotan en Cuba, existen 19 que ocupan más del 86,7% del área comercial, de ellas 11 consideradas las más importante por cubrir más del 3% del área en producción (Tabla 4). Como medida fitosanitaria se establece por territorio el análisis y manejo del porcentaje de áreas plantadas con cultivares susceptibles a estas patologías.

Tabla 4. Reacción de los cultivares comerciales más propagados en Cuba frente a los patógenos *Xanthomonas albilineans* (*Xa*) y *Leifsonia xyli* (*Lx*), organismos causales de la escaldadura foliar y el raquitismo de los retoños, respectivamente.

Cultivar	%	Xa	Lx	Cultivar	%	Xa	Lx
C86-12	19,4	INT	INT	Co997	3,7	R	I
C90-469	8,9	R	INT	SP70-1284	2,5	S	S
CP52-43	8,1	S	S	C90-317	1,7	S	I
C323-68	6,1	S	INT	C92-325	1,2	S	R
C86-56	4,8	R	INT	C97-445	2,3	R	D
C86-156	5,4	AS	AS	C120-78	1,2	S	S
C1051-73	5,5	S	R	C89-147	1,1	S	S
B80250	4,2	AS	S	C85-102	1,4	S	I
C87-51	4,5	S	S	C93-540	1,3	AR	D
C86-503	3,3	S	D				

Leyenda: INT, Intermedia; R, Resistente; S, Susceptible; AS, Altamente susceptible; AR, Altamente resistente; I, Intermedia; D, desconocida.

Como se observa en la tabla, entre los 19 cultivares más extendidos, cuatro han mostrado resistencia a *X. albilineans* bajo condiciones de inoculación artificial y solo dos frente a la bacteria *L. xyli*.

2.5.1 Escaldadura foliar.

La escaldadura foliar está considerada como una de las enfermedades más importantes de la caña de azúcar y de impacto en el mundo cañero (Bressiani *et al.*, 2007), ya que en presencia de cultivares susceptibles puede causar grandes pérdidas e incluso la destrucción total de las plantaciones.

A inicios del siglo XX, fue la causa de grandes pérdidas en variedades nobles originales susceptibles que se distribuyeron por todo el mundo, lo que favoreció la diseminación del organismo patógeno, al no existir adecuadas medidas de cuarentena (Ricaud y Ryan, 1989).

Cada año, con el empleo de nuevas tecnologías y el incremento de la información sobre las características epifíticas y patogénicas de la enfermedad, se registran nuevos informes sobre su presencia en diferentes partes del mundo cañero, como son los casos del Estado de Tabasco en México (García *et al.*, 2015), La Chontalpa en Guatemala (Salomón *et al.*, 2015) y en la provincia de Guangxi en China (Zhang *et al.*, 2017).

En Cuba, la escaldadura foliar fue informada por Rivera *et al.*, (1979), sin provocar daños de marcada importancia a la producción. No fue hasta finales de 1997 y principios 1998 que aparecieron nuevos brotes de la enfermedad, focalizados en las entonces provincias de Pinar del Río (Artemisa), La Habana (Mayabeque), Matanzas, Villa Clara, Ciego de Ávila, Camagüey y Las Tunas. Posteriormente se informó en Santiago de Cuba (Pérez *et al.*, 2003). El control de la escaldadura foliar, ha sido abordado desde diferentes puntos de vista. Matos (2002) en Cuba, informa resultados con la combinación de la electroterapia y el tratamiento hidrotérmico al meristemo empleado para la micro propagación.

2.5.2 Raquitismo de los retoños (RSD).

Existe suficiente documentación acerca de que la enfermedad raquitismo de los retoños (RSD) de la caña de azúcar, causada por la bacteria *Leifsonia xyli* subsp. *Xyli* (Davis *et al.*, 1984; Evtushenko *et al.*, 2000) produce retraso en el crecimiento, disminución en el número de tallos por cepa y plantas de apariencia raquítica, por lo que Comstock y Gilbert (2012) la consideran, desde el punto de vista económico, como la principal enfermedad de la caña de azúcar. Sus síntomas

varían considerablemente y su efecto depende de las condiciones ecológicas, la variedad, el número de socas, la edad de las plantas, entre otras. Aunque los síntomas descritos no son uniformes para todas las plantas afectadas, finalmente éstas toman una apariencia raquílica, sin embargo, no todas las plantas con tamaño por debajo de la media del campo o la variedad, pueden ser consideradas como afectadas por el raquitismo de la soca por cuanto las deficiencias nutricionales y las sequías también pueden producir síntomas similares.

Grisham *et al.*, (2007) consideran que el efecto de la enfermedad en la producción depende del nivel de incidencia de la bacteria, la susceptibilidad de la variedad y las condiciones de humedad en el suelo y que la reducción en la producción es mayor a medida que el número de socas aumenta, por cuya razón esta condición se puede relacionar de manera significativa con un incremento en la incidencia de la afección; con estas investigaciones, en Colombia encontraron que el RSD puede reducir la producción entre 65% y 70% de la variedad de caña EPC 33-833, pero como promedio general estimaron reducciones de la producción entre 15% y 30%, dependiendo de la variedad y las condiciones de crecimiento del cultivo.

Las principales medidas utilizadas en el control del raquitismo de la soca consisten en el empleo de semilla vegetativa libre de la enfermedad, desinfección de los medios de corte para prevenir la diseminación y el uso de variedades resistentes.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Estudiar el efecto del tratamiento hidrotérmico sobre la inactivación de la bacteria *Xanthomonas albilineans* agente causal de la enfermedad escaldadura foliar de la caña de azúcar.

3.1.1 Efectos del tratamiento térmico sobre la brotación de las yemas de diferentes cultivares de caña de azúcar.

Con el propósito de demostrar cuál es el tratamiento más efectivo para obtener una buena brotación de las yemas plantadas y una mayor eficacia en el control de la bacteria *X. albilineans* una de las más peligrosas que afectan al cultivo de la caña de azúcar en las condiciones actuales del país, a partir de la casi total renovación de cultivares comerciales, se realizaron diferentes experimentos en dos Bancos de Semilla Básica (BSB), uno en Cienfuegos y el otro en Sancti Spíritus, con las siguientes características, según tabla 5.

Tabla 5. Cultivares y tratamientos en el BSB de las provincias Cienfuegos y Sancti Spíritus.

Cultivares estudiados		Tratamientos
Cienfuegos	Sancti Spíritus	
1. C86-12	1. CP52-43	1. 50,5 °C.3 - horas ⁻¹
2. C90-469	2. C98-357	2. 50,5 °C.2 - horas ⁻¹
3. C86-156	3. C86-12	3. 51 °C.1 - hora ⁻¹
4. C85-102	4. C86-156	
5. Co997	5. C90-469	

Se emplearon cuatro réplicas y 50 propágulos de dos yemas por cada una. A los sesenta días posteriores a la plantación se calculó el porcentaje de brotación de cada cultivar.

El trabajo se desarrolló en el Banco de Semilla Básico (BSB) de Cienfuegos, ubicado en la localidad de Espartaco sobre suelos Pardos vértico sin carbonato (Hernández *et al.*, 2015). El área fue de 48 m² (4 surcos de 7,5 m de largo a una distancia entre surcos de 1,60 m). Se realizó el diagnóstico por UMELISA-DAS ante la escaldadura foliar, tinción de los vasos del xilema (diagnóstico de oficio). Se empleó el diseño de bloque al azar con tres repeticiones. El estudio se realizó a los 10 meses de edad. La tabla 6 refleja los tratamientos empleados.

Tabla 6. Cultivares y tratamientos en el BSB de la provincia Cienfuegos.

Cultivares	Tratamientos
1.C1051-73 2.C90-469	1. Esquejes de una yema (51 °C.1 - hora ⁻¹) 2. Esquejes de una yema (51 °C.1 - hora ⁻¹) 3. Vitroplantas (51 °C.1 - hora ⁻¹)

En el diagnóstico por UMELISA-DAS se tomaron en cada parcela 25 tallos (según la nomenclatura de Kwiiper (Dillewijn, 1975). El muestreo para la tinción de los vasos del xilema con safranina (Chagas y Tokeshi, 1994) se realizó por parcela, donde se tomaron tres muestras y cada muestra estuvo integrada por 3 tallos seleccionados al azar.

3.1.2 Efecto del tratamiento térmico sobre la viabilidad de la bacteria *X. albilineans*.

La presencia de *X. albilineans* se confirmó según técnicas inmunoquímicas en el laboratorio de diagnóstico de la EPICA de Jovellanos sobre el tercio medio de la tercera hoja con cuello visible (hoja +3) y la sección de más edad del tallo (primero y tercer entrenudo) y se utilizó el juego comercial “AGDIA” específico para la especie de bacteria en estudio; se utilizaron los controles negativos provistos por el fabricante y como control positivo se empleó la cepa Xa-Q, previamente confirmada como *X. albilineans*, por Zardón *et al.*, (2012) mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés).

3.2.1 Estudio de caso: Raquitismo de los Retoños.

3.2.2 Propagación del RSD en las empresas estudiadas.

El trabajo se realizó en dos UEB cañeras del país: Jesús Rabí, de la provincia Matanzas y Ecuador, en Ciego de Ávila. En el 10% de los campos de cada una se determinó la propagación de la bacteria mediante muestreo realizado a cuatro tallos tomados al azar en representación de todo el campo; cada tallo fue considerado como una unidad experimental independiente y la tasa de infección o propagación de la bacteria (P) fue asumida según la fórmula:

$$P = \frac{\text{Tallos infectados}}{\text{Total de tallos}} \times 100$$

El muestreo se realizó en los principales cultivares de cada UEB y se incluyó en el mismo todas las cepas, desde caña planta hasta el tercer retoño; en total se tomaron 440 muestras.

3.2.3 Diagnóstico de la bacteria *L. xyli* en el área muestreada.

Para ejecutar el diagnóstico se realizó por la técnica de Inmuno Impresión Directa de Tejidos (*Tissue blot*). Esta técnica consiste en que de cada tallo muestreado se extrae un cilindro del segundo entrenudo más cercano al suelo y se realizan dos impresiones por cada una de las muestras en membranas de nitrocelulosa según se representa en la figura 5. Se realiza el revelado de las membranas con antisuero específico siguiendo el procedimiento:

- ✓ 1-Colocar las membranas en una cajuela y bloquear con TBS-T con leche descremada al 5% x 45 min. a 37 °C o 1 h a 27 °C.
- ✓ 2. Se realizan tres lavados por 3 min con TBS-T
- ✓ 3-Anticuerpo específico Anti YLSV (Rabbit) a 1/8.000 + TBS-T con leche descremada al 1% incubar 12 h a 4 °C
- ✓ Tres lavados por 3 min con TBS-T
- ✓ 5-Anticuerpo específico IGG Anti Rabbit conjugado con fosfatasa alcalina a 1/8.000+ TBS-T con leche descremada al 1%. Incubar 2 h a temperatura ambiente
- ✓ 6-Revelado con Sustrato Fast Blue BCIP / NBT
- ✓ 7-Parar la reacción con TBS-T

Las membranas pueden conservarse y posteriormente se leen en un microscopio estereoscopio. Se da como positiva al menos un vaso con coloración violeta oscuro.

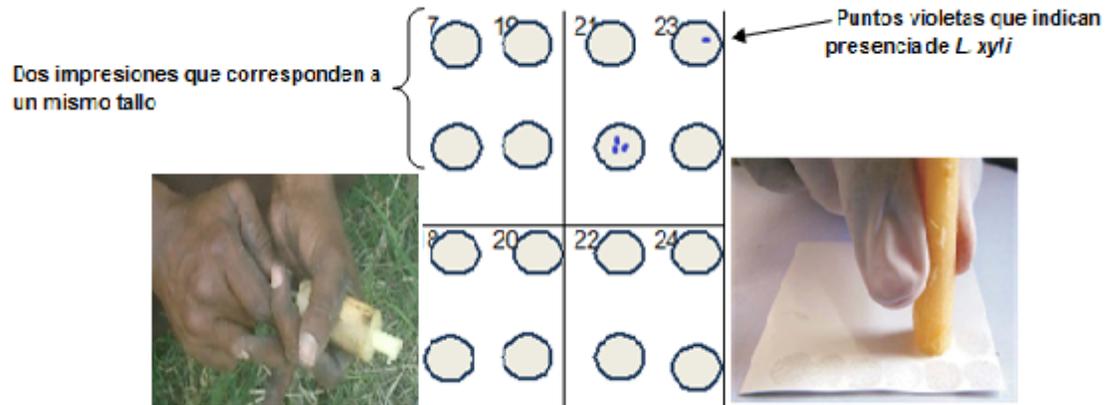


Figura 5. Esquema de trabajo establecido para realizar las impresiones en membranas nitrocelulosa (*Tissue blot*) para diagnóstico de *Leifsonia xyli*.

3.2.4 Determinación de las pérdidas.

A partir de los resultados del diagnóstico realizado y el estudio de la propagación natural de la enfermedad, se determinó las pérdidas producidas por la enfermedad a los diferentes cultivares, comparando el peso de los tallos sanos con el de los infectados por la bacteria.

3.2.5 Medición del efecto de la hidrotermoterapia en el control del RSD.

A los 10 meses se tomaron 10 tallos por parcelas y se realizó la prueba Tinción por Transpiración de los Vasos del Xilema (STM, siglas en Ingles). Este método se basa en el principio físico-biológico de la conducción del agua a través del tallo mediante la transpiración. Los tallos son cortados rasante al suelo, se lleva al punto de la prueba y sobre un madero se le da un corte en el entrenudo siguiente lo más recto posible y rápidamente se coloca en la solución para evitar la formación de bolsas de aire en los vasos del xilema, proceso conocido como cavitación, lo cual puede interferir en la buena conducción de la solución a través del tallo.

Una vez transcurrido el tiempo (una hora), se sacan los tallos de la solución y se corta la porción inferior hasta 4 o 5 entrenudos de longitud y se lleva al laboratorio. En el entrenudo siguiente al corte de la prueba se corta lo más recto posible y con un horador de tapones de un diámetro aproximado de entre 8-12 mm se introduce en el tallo por la porción central con lo cual se debe obtener el cilindro.

Con una cuchilla bien afilada se corta transversalmente una rodaja por tallo de la porción extraída con un espesor de 1-2 mm (Figura 6). Estas rodajas se colocan en el estereoscopio y se realiza el conteo de vasos del xilema teñidos y no teñidos, funcionales y no funcionales, respectivamente, aplicando la fórmula:

$$\%VF = \frac{VF}{\text{Total vasos}} \times 100$$

3.2.6 Certificación de la calidad del tratamiento hidrotérmico sobre la calidad de la semilla.

Se sembró un experimento en áreas de la EPICA Matanzas con diferentes cultivares en los que se comparó el porcentaje de vasos funcionales con el peso de los tallos tratados con agua caliente y no tratados; para la evaluación final se realizó un análisis de varianza de efectos fijos, de clasificación simple, según Einsenhart (1947). La comparación de medias se realizó mediante Prueba Múltiple de Rango, con décima de Tukey ($p < 0,05$) HSD.



Figura 6. Esquema de trabajo para la determinación de los vasos funcionales del xilema.

En otro estudio se comparó el efecto del tratamiento hidrotermico ($51\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot 1\text{ - hora}^{-1}$) sobre la cantidad de células de *Leifsonia xyli* y su relación con el porcentaje de vasos funcionales en los cultivares C120-78 (susceptible) y My5514 (resistente) según Pérez Milián (1985).-

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 Estudiar el efecto del tratamiento hidrotérmico sobre la inactivación de la bacteria *Xanthomonas albilineans* agente causal de la enfermedad escaldadura foliar de la caña de azúcar.

4.1.1 Efectos del tratamiento térmico sobre la brotación de las yemas de diferentes cultivares de caña de azúcar.

El uso de diferentes tratamientos hidrotérmicos en los Bancos de Semilla ha sido un tema debatido por técnicos y especialistas. Pérez (1988) considera que el éxito de la hidrotermoterapia para el control de enfermedades propagadas por la semilla en la caña de azúcar va a depender de la combinación tiempo-temperatura empleada y las características de los cultivares.

En los estudios realizados en Cienfuegos los resultados reflejaron que hubo diferencias entre cultivares, tratamientos y en la Interacción variedad x tratamiento (Tabla 7).

Tabla 7. Análisis de varianza. Porcentaje de brotación (60 días) de cinco cultivares de caña de azúcar tratados con agua caliente a 50,5 °C a diferentes tiempos de exposición en el banco de semilla básica de la provincia Cienfuegos.

F. Variación	G.L	C. Medios	Sig
Variedades	4	956,18	**
Tratamientos	2	1719,1	**
Var x Trat	8	153,05	**
Error	30	37,30	
X ± ES	51,16 ± 3,5		

En Cienfuegos, el mayor porcentaje de brotación a los 60 días fue alcanzado con el tratamiento 3 (51 °C.1 - hora⁻¹), mientras que el tratamiento dos (50,5 °C.- 2 horas⁻¹) superó al tratamiento uno (50,5 °C.3 - horas⁻¹), lo cual indica que a esta temperatura el tiempo de exposición resultó un factor crítico para la brotación de las yemas, puede ser observado en la figura 7.

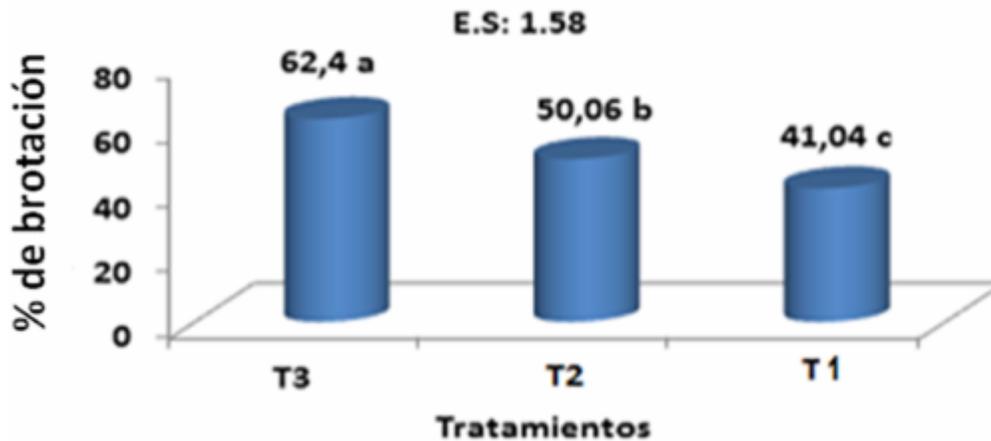


Figura 7. Porcentaje de brotación de las yemas en cinco cultivares de caña de azúcar tratados con agua caliente a una temperatura de 50,5 °C a los 60 días de plantados en el banco de semilla básica de la provincia de Cienfuegos.

Para el caso de la provincia de Sancti Espíritus, aunque cambiaron dos cultivares respecto a Cienfuegos, se observó la misma tendencia, o sea, que hubo diferencias significativas entre los tratamientos en relación con la brotación de las yemas y el más corto, 51 °C.1 hora⁻¹, resultó el más favorable (Tabla 8).

Tabla 8. Análisis de varianza. Porcentaje de brotación (60 días) de cinco cultivares de caña de azúcar tratados con agua caliente a 50,5 °C a diferentes tiempos de exposición en el banco de semilla básica de la provincia Sancti Spíritus.

F. Variación	G.L	C. Medios	Sig
Variedades	4	1314,32	**
Tratamientos	2	2 950,36	**
Var x Trat	8	129,17	**
Error	30	46,34	
X ± ES	68,32 ± 2,26		

En relación con el porcentaje de brotación, también la tendencia fue similar a lo ocurrido en Cienfuegos, sin embargo, en Sancti Spíritus los porcentajes fueron superiores como se expresa en la figura 8.

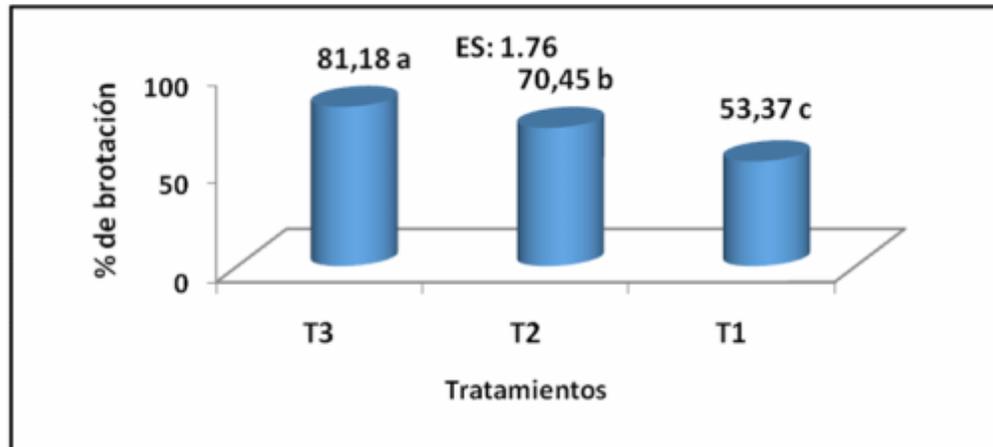


Figura 8. Porcentaje de brotación de las yemas en cinco cultivares de caña de azúcar tratados con agua caliente a una temperatura de 50,5 °C a los 60 días de plantados en el banco de semilla básica de la provincia de Sancti Spíritus.

4.1.2 Efecto del tratamiento térmico sobre la viabilidad de la bacteria *X. albilineans*.

El control de las enfermedades que se transmiten por la semilla es, además de la brotación de las yemas, el otro objetivo que se persigue con la termoterapia. Al analizar la base de datos en Cienfuegos (Tabla 9) se pudo apreciar que por el diagnóstico por UMELISA-DAS de 45 observaciones solo cinco, (11%), mostraron presencia de la bacteria *Xanthomonas albilineans* en las hojas y en el tallo, lo cual es el reflejo de que existió erradicación de la bacteria en los propágulos de caña de azúcar tratados. Estos resultados también manifestaron una buena eficiencia del tratamiento hidrotérmico pues el 89% de los casos no tuvo presencia de la bacteria.

Tabla 9. Resultados del diagnóstico con UMELISA-DAS a tallos de 10 meses de edad procedentes de semilla previamente tratada con diferentes combinaciones de tiempo y temperatura.

Variedades	Tratamientos	Réplicas	Diagn hojas	Diagn tallo
C86-156	T1 50.5 ^u C 3h	1	-	-
C86-156	T1 50.5 ^o C 3h	2	-	-
C86-156	T1 50.5 ^o C 3h	3	-	-
C86-156	T2 50.5 ^o C 2h	1	+	+
C86-156	T2 50.5 ^o C 2h	2	-	-
C86-156	T2 50.5 ^o C 2h	3	-	-
C86-156	T3 51 ^o C 1h	1	+	+
C86-156	T3 51 ^o C 1h	2	-	-
C86-156	T3 51 ^o C 1h	3	-	-
C86-12	T1 50.5 ^u C 3h	1	-	-
C86-12	T1 50.5 ^o C 3h	2	-	-
C86-12	T1 50.5 ^o C 3h	3	+	+
C86-12	T2 50.5 ^o C 2h	1	+	+
C86-12	T2 50.5 ^o C 2h	2	-	-
C86-12	T2 50.5 ^o C 2h	3	-	-
C86-12	T3 51 ^o C 1h	1	-	-
C86-12	T3 51 ^o C 1h	2	-	-
C86-12	T3 51 ^o C 1h	3	-	-
C85-102	T1 50.5 ^o C 3h	1	-	-
C85-102	T1 50.5 ^o C 3h	2	-	-
C85-102	T1 50.5 ^o C 3h	3	-	-
C85-102	T2 50.5 ^o C 2h	1	-	-
C85-102	T2 50.5 ^o C 2h	2	-	-
C85-102	T2 50.5 ^o C 2h	3	-	-
C85-102	T3 51 ^o C 1h	1	+	+
C85-102	T3 51 ^o C 1h	2	-	-
C85-102	T3 51 ^u C 1h	3	-	-
C90-469	T1 50.5 ^o C 3h	1	-	-
C90-469	T1 50.5 ^o C 3h	2	-	-
C90-469	T1 50.5 ^o C 3h	3	-	-
C90-469	T2 50.5 ^o C 2h	1	-	-
C90-469	T2 50.5 ^o C 2h	2	-	-
C90-469	T2 50.5 ^u C 2h	3	-	-
C90-469	T3 51 ^o C 1h	1	-	-
C90-469	T3 51 ^o C 1h	2	-	-
C90-469	T3 51 ^o C 1h	3	-	-
Co997	T1 50.5 ^o C 3h	1	-	-
Co997	T1 50.5 ^o C 3h	2	-	-
Co997	T1 50.5 ^o C 3h	3	-	-
Co997	T2 50.5 ^o C 2h	1	-	-
Co997	T2 50.5 ^o C 2h	2	-	-
Co997	T2 50.5 ^o C 2h	3	-	-
Co997	T3 51 ^o C 1h	1	-	-
Co997	T3 51 ^u C 1h	2	-	-
Co997	T3 51 ^o C 1h	3	-	-

Los resultados de la tinción de los vasos funcionales del xilema (Tabla 10) y los del diagnóstico por UMELISA (Tabla 11) fueron sometidos a análisis de varianza de clasificación doble, en el primer caso hubo diferencias entre las variedades y en la interacción variedad por tratamiento, aspecto que es lógico pues las variedades pueden reaccionar de diferentes maneras ante disimiles tratamientos hidrotérmicos, sin embargo entre los tratamientos no hubo diferencias lo que

reflejó que los tres logran porcentajes de los vasos funcionales del xilema por encima del límite permisible(85%), en este caso fueron superiores a 92% (Fig. 9). Es de señalar que con el diagnóstico por UMELISA-DAS no se detectó diferencias entre los tratamientos ni en la interacción (Tabla 11) lo que reafirma que los tratamientos hidrotérmicos realizados fueron efectivos pues solo en el 11 % de los casos se detectó la presencia de la bacteria (Figura 10).

Tabla 10. Análisis de varianza del diagnóstico de oficio (Tinción de los vasos funcionales del xilema).

. Variación	G.L	C. Medios	Sig
Variedades	4	16,60	*
Tratamientos	2	15,32	ns
Var x Trat	8	4,92	**
Error	30	6,27	
X ± ES	93,27 ± 1,45		

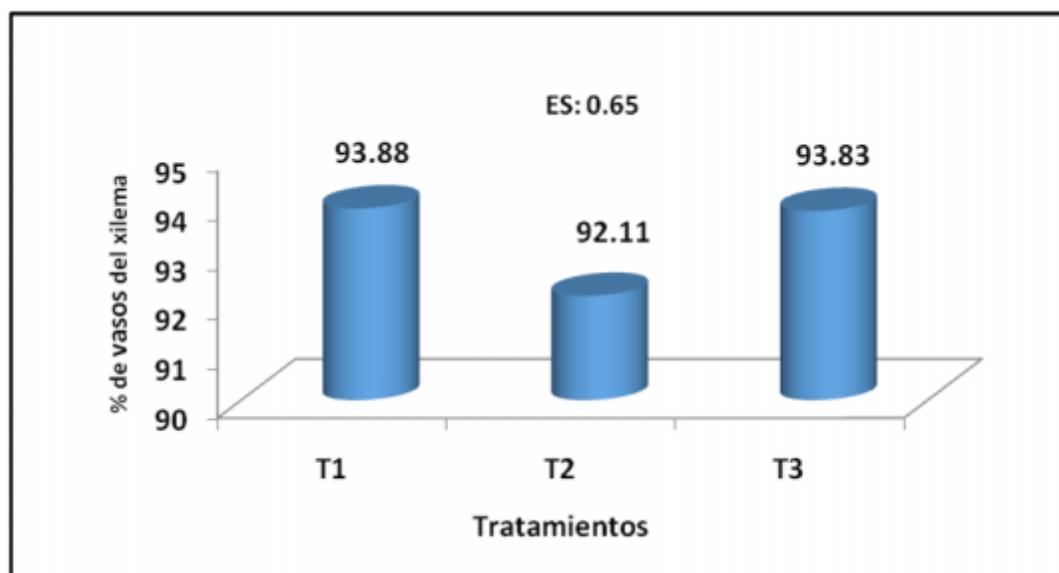


Figura 9. Porcentaje de los vasos funcionales del xilema por tratamiento.

Tabla 11. Análisis de varianza de los resultados del diagnóstico por UMELISA-DAS.

F. Variación	G.L	C. Medios	Sig
Variedades	4	0,02	ns
Tratamientos	2	0,004	ns
Var x Trat	8	0,02	ns
Error	30	0,02	
X ± ES	0,95 ± 0,09		

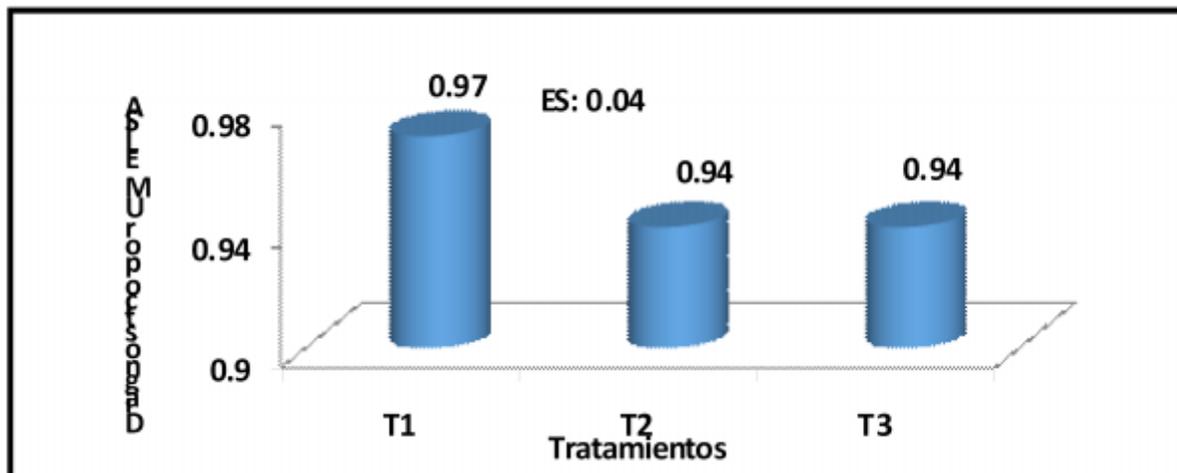


Figura 10. Resultados del diagnóstico por UMELISA-DAS.

Los tratamientos de diferente material de plantación y las variedades evaluadas se ofrecen en la Tabla 11, el tratamiento hidrotérmico empleado fue de 51 °C durante 1 hora.

Tabla 12. Variedades y tratamientos evaluados. BSB Cienfuegos.

Variedades	Tratamientos
1- C1051-73	1. Esquejes de una yema
2- C90-469	2. Esquejes de tres yemas
	3. Vitroplantas

Al analizar la base de datos (Tabla 12) se pudo valorar que solo una observación correspondiente al tratamiento de vitroplantas tuvo la presencia de la bacteria causante de la escaldadura, no obstante, logró el 95,3% de aptitud de los vasos

funcionales del xilema, el material reproducido de forma agámica resultó negativo corroborando la eficiencia del tratamiento hidrotérmico en el BSB de Cienfuegos. Ambas variables (diagnóstico por UMELISA-DAS en el tallo y Tinción de los vasos funcionales del xilema) fueron procesados mediante análisis de varianza bifactorial, en ambos casos no hubo diferencias significativas entre los factores de variación y la interacción de primer orden (Tablas 13 y 14), lo que confirma que toda la semilla cumple con la calidad necesaria para su reproducción.

Tabla 13. Resultados de los diagnóstico por UMELISA-DAS y de Oficio (Tinción de los vasos funcionales del xilema).

Variedades	Trat	Tratam	Diag. en el tallo	TVC 1
C1051-73	Trozos 1 yema R1	1	-	85,4
C1051-73	Trozos 1 yema R2	1	-	96,3
C1051-73	Trozos 1yema R3	1	-	91,5
C1051-73	Trozos 3 yema R1	2	-	93,6
C1051-73	Trozos 3 yema R2	2	-	91,9
C1051-73	Trozos 3 yemas R3	2	-	94,2
C1051-73	Vitroplanta R1	3	-	94,6
C1051-73	Vitroplanta R2	3	-	91,1
C1051-73	Vitroplanta R3	3	-	96,6
C90-469	Trozos 1 yema R1	1	-	99,1
C90-469	Trozos 1 yema R2	1	-	86,6
C90-469	Trozos 1 yema R3	1	-	94,4
C90-469	Trozos 3 yema R1	2	-	93,8
C90-469	Trozos 3 yema R2	2	-	89,8
C90-469	Trozos 3 yema R3	2	-	97,8
C90-469	Vitroplanta R1	3	-	96,1
C90-469	Vitroplanta R2	3	-	94,3
C90-469	Vitroplanta R3	3	+	95,3

Tabla 14. Análisis de varianza del diagnóstico de oficio (Tinción de los vasos funcionales del xilema).

F. Variación	G.L	C. Medios	Sig
Variedades	1	8,0	ns
Tratamientos	2	9,02	ns
Var x Trat	2	1,17	ns
Error	12	15,95	
X ± ES	93,47 ± 2,31		

Es de enfatizar como resultados de estos estudios la importancia de realizar tratamientos térmicos con calidad para obtener simientes sanas y la necesidad de combinar el diagnóstico por UMELISA-DAS con la tinción de los vasos del xilema (Diagnóstico de oficio) en la toma de decisión para clasificar la aptitud de la semilla.

Tabla 15. Análisis de varianza de los resultados del diagnóstico por UMELISA-DAS.

Variedades	1	0,01	ns
Tratamientos	2	0,01	ns
Var x Trat	2	0,01	ns
Error	12	0,01	
X ± ES	0,97 ± 0,06		

4.2.1 Estudio de caso: Raquitismo de los Retoños.

4.2.2 Propagación del RSD en las empresas estudiadas.

En la tabla 14 se presenta la propagación que alcanza la enfermedad RSD en las empresas Jesús Rabí y Ecuador, de las provincias Matanzas y Ciego de Ávila respectivamente. En ambas empresas existe una baja incidencia de la enfermedad, la cual es menor en Jesús Rabí, con solo 8.8% de muestras positivas; sin embargo, esta situación se observa con mayor claridad cuando se hace un análisis por campos y cultivares.

Tabla 16. Presencia de *Leifsonia Xyli* en el área muestreada de J. Rabí y Ecuador.

Empresa	Campos muestreados	Resultados del laboratorio		Infección (%)
		Total de muestras	Positivas	
Jesús Rabí	48	192	17	8,8
Ecuador	62	248	64	25,8
Total y promedio	110	440	81	18,40

En la tabla 16 se presenta este resultado en la empresa Jesús Rabí.

Como se observa, en la tabla 17, la bacteria se encontró infectando siete cultivos en 11 campos, los que representan el 25,8% del área muestreada en la empresa.

Tabla 17. Campos y cultivos infectados en la UEB Jesús Rabí, Matanzas.

UP	Cultivos	Bloque	Campo	Muestras +	Muestras -
La Esperanza	C86-12	106	1	1	3
La Esperanza	C86-56	105	2	1	3
Batey	CP52-43	303	1	1	3
Batey	C85-102	513	3	2	2
Los Indios	C86-12	409	1	1	3
Andrés Olano	C89-147	203	1	2	2
28 de Enero	C85-102	513	3	2	2
28 de Enero	C1051-73	508	3	3	1
Dagoberto Rojas	C87-51	608	4	1	3
A Stamboliski	C86-12	110	1	1	3
Demetrio	C86-12	102	2	2	2
Total	7	11	11	17	27

Como se observa (Tabla 18) en esta empresa se detectó la bacteria en 30 campos, equivalentes al 48% del área muestreada. Como se expuso anteriormente (Tabla 16), aunque solo el 18,4% de las muestras estaban infectadas, la presencia de la bacteria cercana al 50% del área muestreada debe constituir una alerta para los productores de la empresa. El control del RSD se conoce que se logra a base de tratamientos calóricos, y según informe de la XXIV Reunión Nacional de Variedades y Semilla, la planta de tratamiento hidrotérmico de la Empresa Ecuador no tiene un funcionamiento estable, lo que puede constituir la principal causa de esta situación.

Tabla 18. Campos y cultivos infectados en la empresa Ecuador, Ciego de Ávila.

UEB	Cultivos	Bloque	Campo	Muestras +	Muestras -
J. Menéndez	C96-435	125	10	2	2
J. Menéndez	C96-435	125	10	3	1
J. Menéndez	C93-540	125	10	4	0
J. Menéndez	C93-540	125	10	4	0
J. Menéndez	C93-540	125	10	4	0
S. Mariño	C93-540	220	1	3	1
J. Menéndez	C86-56	129	1	3	1
C. Guevara	C120-78	115	2	3	1
C. Guevara	C120-78	114	4	2	2
A. Balmaceda	C266-70	803	2	2	2
J. Menéndez	C92-325	129	8	2	2
J. Menéndez	C90-317	125	4	4	0
C. Guevara	C1051-73	610	3	1	3
E. Marrero	C1051-73	740	4	1	3
E. Marrero	C90-317	744	1	1	3
A. Balmaceda	C1051-73	801	1	1	3
C. Guevara	C90-317	112	3	1	3
Vaquerito	C87-51	140	3	1	3
Vaquerito	C92-325	141	6	3	1
Las Mercedes	C92-325	610	1	2	2
S. Mariño	C323-68	240	1	2	2
Las Mercedes	C90-317	608	3	2	2
Las Mercedes	C266-70	608	2	1	3
Las Mercedes	C92-325	612	1	2	2
Vaquerito	C86-12	141	3	1	3
A. Balmaceda	C86-12	712	1	1	3
Las Mercedes	C92-325	612	3	1	3
Las Mercedes	C1051-73	610	3	2	2
A. Balmaceda	C90-317	709	10	1	3
Las Mercedes	C90-469	620	2	4	0
Total	12	30	30	64	59

4.2.3 Diagnóstico de la bacteria *L. xyli* en el área muestreada.

Una situación similar se observa al analizar, mediante la técnica de diagnóstico serológico Tissue blot (TBIA) la sanidad de los cultivares cuando en la empresa de Ciego de Ávila seis de estos tiene un alto porcentaje de muestras positivas a *Leifsonia xyli* (>75%) y tres de ellos, C96-435, C93-540 y C120-78 en Jesús Menéndez, Che Guevara y Las Mercedes, respectivamente, presentan 100% de muestras positivas, mientras que en Jesús Rabí de Matanzas, solo C1051-73 en la CPA 28 de enero tiene 75% de positivismo (Tabla 19). Se reitera, además, que los tallos infectados constituyen los focos de diseminación de la enfermedad en y entre campos.

Tabla 19. Cultivares con mayor porcentaje de muestras positivas en las Empresas estudiadas.

Provincia	UEB	UBPC	Cultivar	Bloque	Campo	Muestras positivas (%)
Matanzas	J. Rabí	28 de Enero	C1051-73	513	3	75
Ciego de Ávila	Ecuador	J. Menéndez	C96-435	125	10	75
	Ecuador	J. Menéndez	C93-540	125	10	100
	Ecuador	C. Guevara	C120-78	114	4	100
	Ecuador	Las Mercedes	C90-469	620	2	100
	Ecuador	C. Guevara	C90-317	112	3	75
	Ecuador	J. Menéndez	C92-325	129	8	75

4.2.4 Determinación de las pérdidas.

Los primeros trabajos realizados en Cuba, relativos a la afectación de la productividad de los cultivares reflejaron que, en condiciones de inoculación artificial, los tallos infectados reducían su producción hasta el 30% (Pérez, 1985); es de suponer que bajo estas condiciones la intensidad de la enfermedad puede alcanzar su máxima expresión, sin embargo, la infección en áreas comerciales también puede alcanzar una alta propagación e intensidad en función del tiempo. En este trabajo se realizó una comparación del peso de los tallos infectados con los sanos en diferentes cultivares y cepas, cuyos datos se presentan en la figura 11.

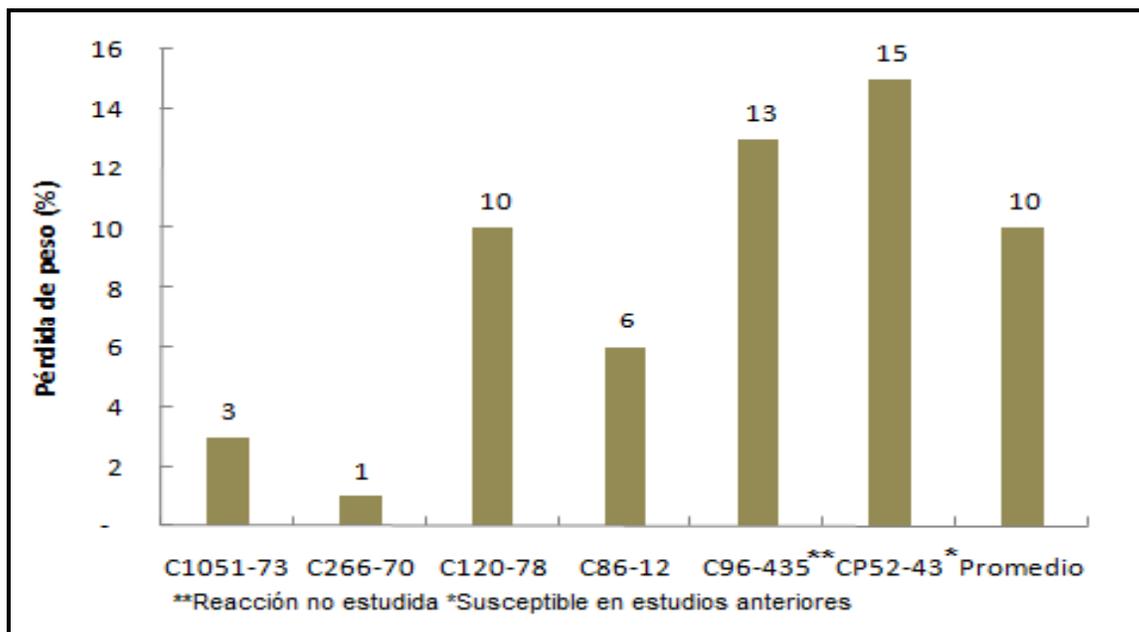


Figura 11. Afectación del rendimiento (%) en los cultivares infectados en las empresas Jesús Rabí, de Matanzas, y Ecuador, de Ciego de Ávila.

Según cálculos realizados en seis cultivares en explotación en las dos empresas encuestadas, se obtuvo una media de reducción que llegó hasta el 10% del peso de los tallos infectados respecto de los sanos, mientras que los cultivares C96-435 y CP52-43 sobrepasaron este valor.

Es importante para las empresas productoras entender que la presencia del RSD en un cultivar generalmente se traduce en mermas del rendimiento agrícola y que sus efectos crecen a medida que se incrementan las cosechas y su propagación ocurre inicialmente a partir de la semilla infectada, solución que se logra únicamente con el empleo de la hidrotermoterapia.

De acuerdo con el informe a la XXIV Reunión Nacional de Variedades, Semilla y Sanidad Vegetal (INICA, 2017), 11 cultivares ocupan el 67,8% de la superficie cañera en Cuba; de estos cultivares es importante conocer que cuatro (C323-68, CP52-43, C87-51 y C86-156) son susceptibles al raquitismo de los retoños. Solo uno de estos (C1051-73) ha alcanzado la categoría de resistente en pruebas de inoculación artificial mientras que (C86-12, C90-469, C86-56 y Co997) están caracterizados como intermedios, lo cual también constituye un peligro por cuanto es conocido que esta categoría puede transitar en correspondencia con las condiciones de humedad del suelo.

Aún se desconoce la reacción en condiciones de inoculación artificial de los cultivares C86-530 y B80250.

4.2.5 Medición del efecto de la hidrotermoterapia en el control del RSD.

La variable más importante para evaluar la reacción de un cultivar frente al RSD es el peso de los tallos; en un estudio realizado con 10 cultivares además de los testigos CP31-294 susceptible y My5514, resistente, se estudió la afectación al rendimiento en diferentes grados de resistencia, así como el porcentaje de vasos funcionales en los mismos (Tabla 20).

Como se expresa en la tabla, todos los cultivares con una respuesta susceptible a la enfermedad mostraron un detrimento en el peso igual o superior al 10%, mientras que en los resistentes el máximo valor solo alcanzó 6,3% en el cultivar C1051-73, siendo este muy bajo (2,3%) en C89-176 bajo en My5514 de solo 5,3%.

En todos los cultivares altamente susceptibles, las diferencias de peso entre las plantas inoculadas y no inoculadas superaron el 15%, estando las intermedias entre este valor y 10%. Sobre esta última categoría es necesario destacar el caso de C323-68. Este cultivar había sido caracterizado y propuesto como patrón para este valor (I), sin embargo, en estos experimentos su comportamiento lo ubican como susceptible por comparación estadística y el valor del detrimento de las plantas no inoculadas respecto de las sanas superó el 10%.

Existen reportes del comportamiento de muchos cultivares de caña de azúcar frente al RSD y el condicionamiento de sus respuestas frente a determinadas condiciones de humedad y fertilidad del suelo, aspecto este que se expresa con mayor frecuencia en aquellos cultivares que bajo condiciones de inoculación artificial han expresado una reacción intermedia (Grisham *et al.*, 2009).

Tabla 20. Comparación de la respuesta frente al RSD de 13 cultivares de caña de azúcar en cepa soca comparando los métodos del peso y el porcentaje de vasos funcionales.

Cultivar	Peso			%VF		Grado
	Sanas	Enfermas	Dif. (%)	Sanas	Enfermas	
C91-317	5,0	4,5	10,0	95,3	77,8	S
C439-72	4,3	3,8	11,7	91,3	65,6	S
C323-68	5,4	4,8	11,2	90,1	83,7	S
SP70-1284	4,8	4,0	16,7	92,0	84,0	AS
C86-165	6,5	5,4	17,0	94,4	61,6	AS
CP31-294 (TS)	3,3	2,6	21,7	94,2	82,4	AS
C 88-380	5,9	4,9	17	83,5	78,4	AS
B78505	6,0	5,3	11,7	92,0	85,8	I
C 91-356	4,7	4,0	14,90	96,2	89,3	I
C89-176	4,5	4,4	2,3	94,7	88,1	R
C1051-73	4,8	4,5	6,3	93,2	88,7	R
My5514 (TR)	5,7	5,4	5,3	91,2	90,5	R

Leyenda: AS, Altamente Susceptible; S, Susceptible; R, Resistente; I, Intermedia; TS, Testigo Susceptible; TR, Testigo Resistente; VF, Vasos Funcionales.

Estos mismos cultivares (Tabla 20) fueron evaluados mediante la tinción de los vasos del xilema y por este procedimiento se reducen más los grupos, pues se manifiesta con mucha claridad la diferencia entre susceptibles y resistentes. Así, todos aquellos que presentaron más de 10% de diferencia en el peso a favor de los sanos (S y AS), no excedieron 85% de VF, mientras que los resistentes (R) sobrepasaron esta cifra. Se reitera que B78505 y C91-356 clasificados como intermedios por diferencias de peso, presentaron 85,8% y 89%, de VF, respectivamente, o sea en el límite entre la categoría de susceptible y resistente.

4.2.6 Certificación de la calidad del tratamiento hidrotérmico sobre la calidad de la semilla.

La tinción de los vasos del xilema (STM), se comparó con el peso de los tallos mediante estudios de correlación. Cuando se analizó de conjunto todos los cultivares que intervienen en el estudio, el coeficiente de correlación de Pearson ($r=0,52$) indica que existe una relación positiva entre el peso de las plantas y el porcentaje de vasos funcionales, sin embargo, no se pudo obtener un modelo matemático que explicara adecuadamente esta relación (Figura 12).

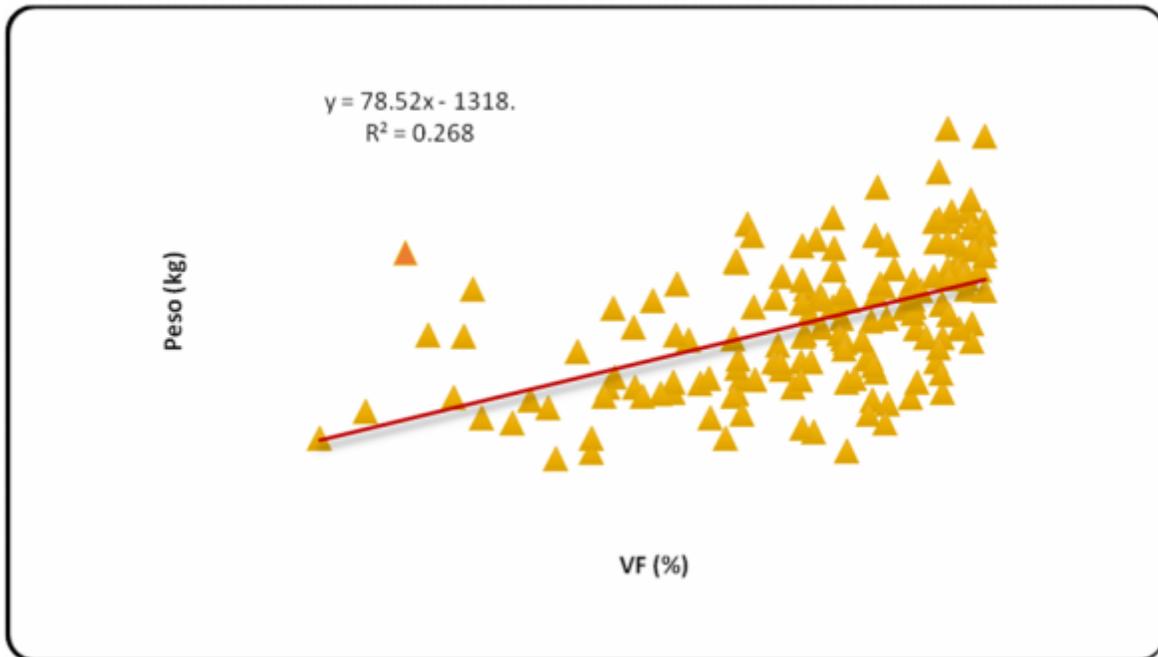


Figura 12. Análisis de correlación con todos los cultivares que intervienen en el estudio.

Aparentemente, el ajuste de la curva está afectado por la variabilidad existente entre los diferentes cultivares que comprenden, como se conoce poseen características genéticas distintas y por lo tanto se infiere un comportamiento diferente frente a la bacteria *Leifsonia xyli*.

En atención a esto, se desagregó la data y se realizó el análisis individual para cada cultivar, indicando que en la mayoría de los casos es posible establecer relaciones matemáticas con ajustes adecuados entre estas variables (Figura 13).

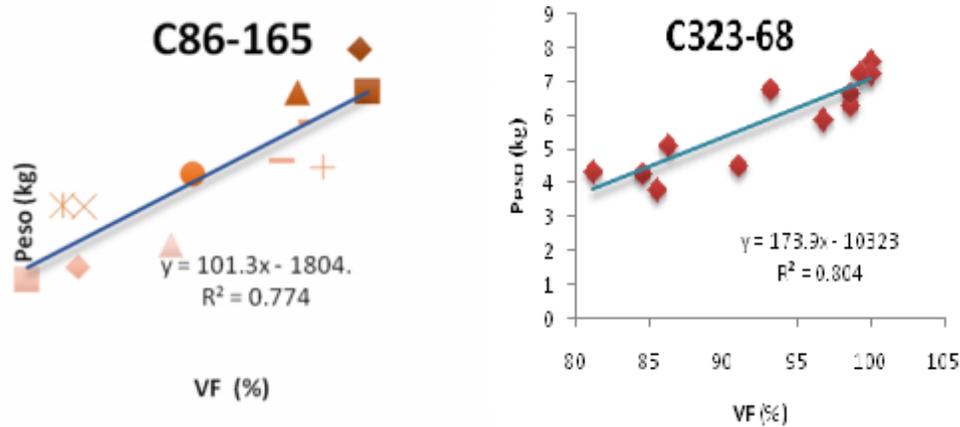


Figura 13. Relación entre el peso de los tallos y el porcentaje de vasos funcionales entre dos cultivares susceptible.

Como se observa en la figura 13, donde se exponen dos cultivares dentro de la categoría de susceptible, C86-165 y C323-68, pudo establecerse esta relación.

Como era de esperar, en la reacción de dos cultivares opuestos en cuanto a su nivel de resistencia, CP31-294, altamente susceptible, y My5514, resistente los resultados son contrastantes (Figura 14).

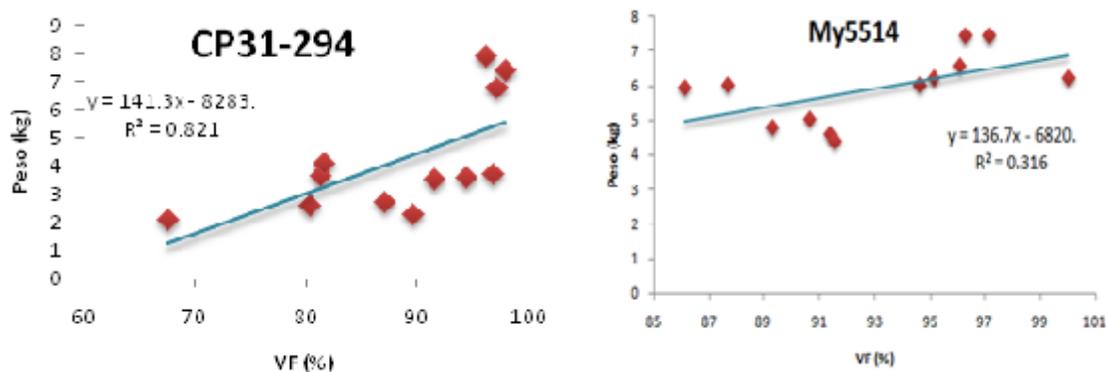


Figura 14. Relación entre el peso de los tallos y el porcentaje de vasos funcionales entre dos cultivares contrastantes respecto de su comportamiento frente al RSD.

Mediante la tinción por transpiración de los vasos del xilema (STM) puede obtenerse respuesta relativa a la resistencia al RSD, aunque solo discrimina dos valores: resistencia y susceptibilidad, pero este aspecto también tiene sus sesgos con el empleo de la caracterización por el peso de los tallos debido a que se

registran muchos cultivares en la categoría de intermedio (I), respuesta que puede variar a partir de la interacción con las condiciones de humedad del suelo.

Se conoce que existe la diversidad genética en la resistencia al raquitismo de los retoños (Roachet *et al.*, 1992; Comstock y Gilbert (2012) y que un factor asociado con la resistencia al RSD ha sido la poca población de bacterias *Leifsonia xyli* dentro de los tallos de caña de azúcar infestados.

Esta aseveración se corrobora cuando se efectúa el tratamiento calórico a tallos de caña de azúcar infectados por la enfermedad; en este caso se reduce el número de bacterias en el tallo y se incrementa el número de vasos funcionales, como se observa en la tabla 20 Pérez *et al.*, (2000), al evaluar la respuesta del tratamiento hidrotérmico en el control del RSD en los cultivares C120-78 y My5514, obtuvo porcentajes superiores al 85% en plantas que había recibido este beneficio.

La conducción y distribución del agua y las sustancias minerales desde su entrada a las raíces hacia todas las partes de la planta se lleva a cabo a través del sistema xilemático (Hughes, 1954); la bacteria *Leifsonia xyli subsp. xyli*, agente causal del raquitismo vive en los vasos del xilema provocando obstrucción en los mismos debido a la secreción de sustancias que impiden el funcionamiento de estos (Metzler, 1998).

Resulta obvio señalar que el desarrollo de la planta siempre va a estar relacionado con sus posibilidades nutritivas y por lo tanto el funcionamiento, en los tallos de caña de azúcar, de su sistema conductor, resulta de vital importancia; en este sentido sería necesario conocer porque la presencia de la bacteria en el tallo de la caña de azúcar afecta la conducción de la sabia en unos cultivares más que en otros.

Algunos estudios realizados en Cuba (Pérez *et al.*, 2019) demostraron que entre la cantidad de bacterias observadas por campos microscópicos en las plantas tratadas y los valores de diámetro de los vasos del xilema en estas mismas plantas, existe una relación inversamente proporcional entre ambos resultados, ya que a menor cantidad de bacterias mayor diámetro de los vasos del xilema se produce menor secreción del gel gelatinoso por la bacteria y menor acumulación de este en las paredes de los vasos del xilema.

Tabla 20. Efecto de la hidrotermoterapia en el porcentaje de vasos funcionales y cantidad de células de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* en dos cultivares de caña de azúcar con respuesta contrastante frente al RSD.

Cultivar	Tratamiento	Total células <i>L. x.</i>	%VF
C120-78	Testigo	23,4 ^b	44,0 ^c
	51°C/1h	9,4 ^a	89,0 ^a
My5514	Testigo	17,3 ^b	68,0 ^b
	51°C/1h	8,3 ^a	96,2 ^a
Error		0,276	2,16

5. CONCLUSIONES

1. El tratamiento con agua caliente a 51 °C. 1 hora⁻¹ resultó efectivo para la brotación de las yemas de propágulos de caña de azúcar y el control de la bacteria *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson agente causal de la escaldadura foliar.
2. El diagnóstico por UMELISA-DAS en el tallo y la tinción de los vasos funcionales del xilema demostró una similitud en cuanto al saneamiento de la bacteria *X. albilineans* entre el tratamiento térmico y las plantas procedentes de la siembra de vitroplantas.
3. En la empresa Ecuador de Ciego de Ávila se encontró alta incidencia de la bacteria *Leifsonia xyli* en seis cultivares, resultando en tres de ellos, C96-435, C93-540 y C120-78, 100% de incidencia de la bacteria, contrario a lo observado en Jesús Rabí con muy baja propagación de la bacteria.
4. De acuerdo con diagnóstico con la técnica Inmunoimpresión Directa de Tejidos se encontró una propagación de la bacteria *L. xyli* de 9,3% de las muestras en Jesús Rabí y 24% en Ecuador. El análisis por campos reflejó una propagación en Ecuador de 48% de estos infectados.
5. En seis cultivares se calculó, en condiciones de producción, una merma del peso de los tallos infectados que alcanzó una media de 10%, siendo esta mayor en C96-435 y CP52-43, con 13 y 15%, respectivamente.
6. Al parecer, la alta incidencia de la bacteria *Leifsonia xyli*, en la empresa Ecuador está relacionada con el mal funcionamiento certificado de la planta de tratamiento hidrotérmico en el banco de semilla.
7. La Tinción por Transpiración de los Vasos del Xilema resulta una técnica eficiente para certificar la calidad del tratamiento hidrotérmico en los bancos de semilla.

6. RECOMENDACIONES

1. Mantener el monitoreo de las enfermedades transmisibles por los propágulos de caña de azúcar empleados como semilla.
2. Mantener, sistematizar y perfeccionar el tratamiento térmico como una medida eficaz contra enfermedades trasmisibles por la semilla y amigable con el medio ambiente.
3. Profundizar en las investigaciones sobre la tinción de los vasos del xilema como una técnica con posibilidades de mayor uso en otras evaluaciones con cultivares de caña de azúcar.
4. Utilizar los resultados de esta tesis como material de estudio en la carrera de agronomía, así como para preparar a los productores en la importancia y ventajas de esta tecnología.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Agrios, G. 2005. *Plant pathology. Fifth edition Department of Plant Pathology. University of Florida*. ISBN 0-12-0445-65-4, 948pp.
- Barber, C. A. (1920). The origin of sugarcane. *International sugar Journal*. 22, 249-251.
- Baudin, P. 1984. *L' Agronomie Tropicale* 39 (3). P 262-268.
- Benda, G.T.A. 1975. *Short hot-water treatment for the control of RSD. Sug. Azuc.* 70 (7): 59.
- Benda, G.T.A y C. Ricaud. 1977. *The use of heat treatment for sugarcane disease control. Proc. ISSCT. Brasil* vol I: 482-496.
- Bressiani, J. A., Sanguino, A., Burnquist, W. L., Vencovsky, R. y da Silva, J. A. 2007. *Breeding sugarcane for leaf scald resistance: a genetic study. Journal American Society Sugar Cane Technologists* 27:15-22.
- Byther, R.S. y Steiner, G.W. 1973. *Hawaiian Sugar Planters. Associations Experiment Stations. Annual Report*.
- Chagas, P.R.R. y Matsuoka, S. 1988. *Brasil Açucareiro*, Rio de Janeiro 105 (1): 40-44.
- Chagas, P. R. P y Tokeshi, H. 1994. Staining by transpiration methods for diagnosis of ratoon stunting disease in sugarcane. *Current Trends Sugarcane Pathology*, p. 159-162.
- China, A.; Pérez, G.; Naranjo F.; Abrantes, I. et al., 2007. Síntesis histórica de la Estación Experimental de la Caña de Azúcar de Jovellanos.
- China, A. J. Escalona, María C. Rodríguez y M. García. 1993. Propagación del raquitismo de los retoños de la caña de azúcar en Cuba. Resúmenes 46 Congreso ATAC, Santiago de Cuba. pp76.
- China, A. y J.R. Pérez M. 1994. Secuencia y manejo de la hidrotermoterapia para el control de enfermedades de la caña de azúcar. Resúmenes XXV Aniversario. INICA, Ciudad Habana, p75.
- China, 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,

pp.41-47.

- China, A.; Rodriguez, E.; Pérez, G.; China Horta. A.; Y. Pérez. 2012. Actualización del inventario de enfermedades de la caña de azúcar detectadas en Cuba. Revista ATAC, Vol. 73, Nro 1: 33-37.
- China, M. A.; Nass, H.; Davoin, C. y Diez, María Dolores. 2000. Enfermedades y daños de la Caña de Azúcar en Latinoamérica, Imprecolor S. A. Barquisimeto, Venezuela, p.108.
- Comstock, J.C. y Gilbert, R.A. 2012. *Sugarcane Ratoon Stunting Disease. University of FloridaSS-AGR-202* Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu/sc002>.
- COPERSUCAR. 1987. *Como formar viveiros de mudas de cana - de -Acucar, serie melhormento No. 20, 8pp.*
- COPERSUCAR. 1988. *Formación de viveiros de cana - de - acucar a partir de tratamento térmico de gemas isoladas.* Serie melhormento No. 009; 12pp.
- COPERSUCAR. 1989. *Binomio tempo x temperratura no control da raquitismo da soqueira (RSD) la cana - da - acucar pelo processo do termoterapia en gemas isoladas.* Seriel melhoramento, No. 25, 5pp.
- COPERSUCAR. 1983. *Reuniao técnica agronomica. Variedades de cana-de-açúcar e suas implicações na lavoura canavieira.* Cent. Tec. COPERSUCAR. P 30-43.
- Eisenhart, C. 1947. *The assumption underlyny. The Analisis of variante. Biometrics, 3:1-11.*
- Evtushenko, Li., L. Dorofeeva, S.Subbotin, J. Cole y J. Tiedje. 2000. *Leifsonia poae gen. nov., sp. nov., isolated from nematode galls on Poa annua, and reclassification of Corynebacterium aquaticum Leifson 1962 as Leifsonia aquatica (ex Leifson 1962) gen. nov., nom. rev., comb. nov. and Clavibacter xyli.*
- Davis et al.,1984 *Two subspecies as Leifsonia xyli. gen. nov., comb. nov. Int.. J. Syst. Evol. Microbiol. 50: 371-380.*
- Dillewijn, V. 1975. *Botánica de la Caña de Azúcar. Edición revolucionaria. La Habana. Inst. del Libro.139 p.*

- FAO.2016. El cultivo de la caña de azúcar. Disponible en: <http://azuquita> 2012. Centro de información del paraquat en nombre de Syngenta Crop protection-AG. (Consultado 25/04/2020).
- Frison, E.A. y Putter, C.A.J. 1993. *Technical Guidelines for the Safe Movement of Sugarcane Germplasm*. FAO/IBPGR. Roma, 44 pp.
 - García, H., Ortiz, C. F., Salgado, S., Valdez, A., Silva, H. V., Ovalle, W. 2015. Presencia de *Xantomonas albilineans* (Ashby) Dowson en caña de azúcar en la Chontalpa, Tabasco, México. *Revista de Fitotecnia Mexicana* 38(4): ISSN 0187-7380.
 - Gheller A.C.A. y Godoy, D.P. 1987. 4^{to} Congreso Nacional STAB.
 - Grisham, M. P., Johnson, R. M. and Viator, R. V. 2009. *Effect of ratoon stunting disease on yield of recently released sugarcane cultivars in Louisiana; Journal of the American Society of Sugar Cane Technologists* 29: 119-127.
 - Grisham, M.P., Pan, Y.-B., Richard Jr, E.P. 2007. *Rating Sugarcane Varieties for Susceptibility to RSD with Real-Time PCR. Journal of the American Society of Sugar Cane Technologists*. 27:60.
 - Gupta, M.R. 1977. *Indian Sugar* 27:385-386.
 - Hernández, A.; Pérez Jiménez, JM.; Bosch, D y Castro, N. 2015. Clasificación de los suelos de Cuba: Instituto de Suelos. La Habana. Cuba. INCA, 92 pp.
 - Hughes, C. G. 1954. *Ratoon stunting disease of sugarcane. Internacional Sugar Journal*. 56: 338-340.
 - INICA. 2017. II Variedades, XXIV Reunión Nacional de Variedades, Semilla y Sanidad Vegetal, P. 2-16, La Habana, mayo 22 y 23, 2017.
 - INICA. 2019. Sanidad Vegetal. En XXV Reunión Nacional de Variedades, Semilla y Sanidad Vegetal, pp.84-100, La Habana, 85pp.
 - James, G.L. 1971. *Sugarcane Pathologists Newsletter*. 11-12.
 - Jiménez, Odalis.; Contreras, Nancy. y Nass, H. 2004. *Xanthomonas albilineans* agente causal de la escaldadura foliar de la Caña de Azúcar (*Saccharum* spp.) en los estados Lara y Yaracuy. *Rev. Fac. Agron. Uruguay*, 21 (3): 233-245.

- Jorge, S. H., Bernal, N., Jorge, I., Mesa, J., González, F., González, A. y Cabrera, L. 2011. Selección. Capítulo 6. Normas y procedimientos del mejoramiento genético de la caña de azúcar en Cuba .Eds. Jorge, H y Jorge, I. Revista Cuba & Caña, Edición Especial. pp. 187-190.
- Koike, H. 1977. *Disease as a factor influencing sugarcane yields in Louisiana during the last decade. En Proceedings American Society of Sugarcane Technologist*, vol. 6, 178-181.
- Martín G., M. 2014. La caña es más que azúcar. Juventud Rebelde, Diario de La Juventud Cubana, 3 de septiembre, Edición Digital.
- Martin, L.A., D. L. Evans; L. Castlebury; J. Sifundza; J. Comstock., S. Rutherford, S. McFarlane. 2015. *An update on the new species of rust infecting sugarcane in southern Africa. International Society os sugarcane Technologist XI Entomology Workshops. September 14-18, 2015, Guayaquil, Ecuador. Programme and Abstracts.*
- Matos, Madyu. 2002. Escaldadura foliar: Evaluación de métodos para el saneamiento y comportamiento de variedades comerciales de Caña de Azúcar. Tesis de Maestría. Universidad de la Habana. Facultad de Biología, p.60.
- Matsuoka, S. 1976. *Brasil Açucareiro*, Rio de Janeiro 87 (5): 20-24.
- Matsuoka, S. 1981. Revista Sociedad Brasileira Fitopatología. Piracicaba (4):63-64.
- Matsuoka, S. 1983. Congreso Paulista de Fitopatología, Araras.
- Matsuoka, S. 1984. Congreso Nacional. STAB 3. Anais. 244-249.
- Metzler, M.C.1998. Fastidious, Gram positive bacteria of the genus Clavibacter. RSD Conference / Workshop at the 7th International Congress of Plant pathology, Edinburg, Scotland. (Abstract).
- MINAZ. 1994. Taller de variedades, semillas y Sanidad Vegetal. Informe Situación Fitosanitaria de la caña de azúcar. IBP, Santa Clara, 17pp.
- Moore, P. H., Paterson, A.H. y Tew, T (2014). Sugarcane: The Crop, The Plant and Domestication. In Sugarcane Physiology, Biochemistry y Functional Biology. Chapter 1, p. 1-15.

- Nodarse, O. y I. Santana, A. China, R. Rodríguez, E. Héctor y Y. Figueredo. 1993. Hidrotermoterapia y micromeristemas para saneamiento en caña de azúcar. VIII Fórum de Ciencia y Técnica, Matanzas, 8p.
- Pérez, G.; Bernal, N.; China, A.; O'Reilly J. y De Prada, F. 1997. Recursos Genéticos de la caña de azúcar. IMAGO, ISBN 959-7051-08-7, pp. 10.
- Pérez Milian, J. R., Pérez, Yaritza, Castillo León, Ramiro y Pellón, Yenima. 2019. Estudios anatomorfológicos. Informe final de Proyecto RSD., p.27-30 (INICA).
- Pérez Milian, J.R. 1985. El raquitismo de los retoños (RSD) de la caña de azúcar en Cuba. Tesis de Doctor en Ciencias Agrícolas. Ciudad Habana, 112pp.
- Pérez Milian, J.R. 1994. Producción de semilla de caña de azúcar en Cuba: categorías y estrategias. Jornada XXV aniversario del INICA, Mesa redonda. 15 pp.
- Pérez Milian, J.R. 1988. Aspectos que se deben considerar en la explotación del tratamiento hidrotérmico en la agricultura cañera cubana. Revista ATAC, 5:12-16.
- Pérez Milian, J.R. Ada González, A. China y G. Delgado. 1994. Pérdidas por RSD en Cuba y factores que intervienen en el éxito de las campañas de control. Resúmenes XXV Aniversario. INICA, La Habana, p96.
- Pérez Milian, J.R., A. China, R. Almeida y L. Pérez V. 1995. Realidades y perspectivas del empleo del tratamiento hidrotérmico en la obtención de semilla de caña de azúcar X Fórum de Ciencia y Técnica. 14 pp.
- Pérez Ponce, J. 1994. Desarrollo de tecnologías integrales de propagación masiva. IX Fórum Nacional de Ciencia y Técnica. La Habana. 20pp.
- Pérez, J., López, M. y Castro, M. 1981. Un método para el control de la enfermedad del raquitismo de los retoños (RSD) de la caña de azúcar. Memoria 45 Conf. de la ATAC. Tomo IV. La Habana, 46-61.
- Pérez, L y F. Mauri. 1986. Efectividad del tratamiento con agua caliente a la semilla de caña de azúcar sobre las infecciones por *Ustilago scitaminea*. Agrotecnia de Cuba 18 (2): 81-88.

- Pérez, M. J. R.; China, A.; Matos, Madyu y Montalván, J. 2000. Causas de la propagación y desarrollo de la escaldadura foliar de la caña de azúcar en Cuba. Resúmenes, 15 Aniversario EPICA Santiago de Cuba, p. 32-33.
- Pérez, M.J.R.; Matos, M.; Montalván, J.; Peralta, E. L.; Pérez, G; Carvajal, O. y China, A. 2003. Desarrollo de la escaldadura foliar *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson en Cuba: patógeno, variedades y clima. *Protección Vegetal*. 18(3):162-167.
- Reynoso, A. 1862. Ensayo sobre el cultivo de la caña de azúcar. Tercera Edición, 1878, corregida y aumentada. París, pp. 372.
- Ricaud, C., y Ryan C. C. 1989. *Leaf scald in: Disease of sugarcane. Major disease*. Eds: C. Ricaud, B. T. Egan, A. G. Gillaspie Jr., C. G. Huges. Amsterdam. The Netherlands: Elsevier Science Publisher, p.39-58.
- Rivera, N.; Hevesi, Mary.; Stefanova, Marucia y Albornoz, A. 1979. Dos nuevas enfermedades bacterianas en Caña de Azúcar en Cuba. Primera Jornada Científica de Sanidad Vegetal, p. 25-31.
- Roach, B.T., D.H. Parsons y P.J. Nielsen. 1992. *Incidence and control of RSD in sugarcane in New South Wales. Proc. Aust. Sug. Cane Technol.* 43-50.
- Rodríguez, M., Rodríguez, E. L.; Alfonso, I.; Fuentes, A. 2014. Enfermedades y plagas. Capítulo 8. En: Instructivo Técnico para el manejo de la Caña de Azúcar, 2da Ed., Santana, I.; Maribel González; S. Guillen; R. Crespo (eds), Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar, La Habana, Cuba: 209-255.
- Rott, P., Girard, J., Comstock, J. C. 2013. *Impact of pathogen genetics on breeding for resistance to sugarcane diseases. Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol., vol. 28.*
- Salomón García, H., Ortiz, C.F., Salgado A. Valdez-Balero, A., Silva-Rojas, H. V. y Ovalle-Sáenz, W. R. (2015): Presencia de *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson en caña de azúcar en la Chontalpa, Tabasco, México. *Rev. Fitotec. Mex.* 38(4):397-404.
- Santana Aguilar, I. 1994. Estudio de la Variabilidad en poblaciones de caña de azúcar obtenidos por cultivo de tejidos. Tesis de Doctor en Ciencias

- Agrícolas. La Habana, 95pp.
- Singh, K. 1972) *Foundation seed for three-tier seed program of sugarcane. Indian Farmers Digest.* 10 (10): 11-23.
 - Singh, K. 1977. *Sugarcane disease and the three tier seed program. Sugar News,* 9(6-7).
 - Steindl, D.R.L. 1951. *Proceedings ISSCT Congress* 7:457-465.
 - Steindl, D.R.L. 1961. *Sugar cane Diseases of the World* Vol.1. Ed. C.G. Hughes, E.V. Abbott y C.A. Wismer. Elsevier Publishing. Co. Amsterdam.
 - Steindl, D.R.L. y Hughes C.G. 1953. *Cane Growers Quaterly Bull. Queensland.* 16:79-94.
 - Steindl, S.P.J. 1971. *Proceedings ISSCT Congress* 14. P. 525-529.
 - Thompson, G.M. 1970. *Sugarcane Pathologists Newsletter* 5:48.
 - Victoria, I.I., Ochoa, O. y Cassalet, C. 1986. Mesa Redonda Latinoamericana de Enfermedades de la Caña de Azúcar. FAO-MINAZ.
 - Victoria, J.I., Ochoa, O. y Cassalet, C. 1984. Enfermedades de la caña de azúcar en Colombia. CENICAÑA. Serie Técnica No. 2. 27 pp.
 - Waterworth, P y R.P. Kahn. 1978. *Thermoterapy y aseptic bud culture of sugarcane to facilitate the exchange of germoplasm and passage through quarantine. Plant. des report.* 62 (9): 772-76.
 - Zardón, M.A., Gallo, A., Mesa, J. M., Arencibia, A., Zamora, L., Martínez, Y., Sautié, M., Casas, M., La O, M. 2012. "Detección de infecciones mixtas en genotipos de caña de azúcar en Cuba", *Prot. Veg.*, 27 (2): 77-84.
 - Zhang, R. Y., Shan, H. L., Li, W. F., Cang, X. Y., Wang, X. Y., Ying, J., Luo, Z. M. y Huang, Y. K. 2017. *First Report of Sugarcane Leaf Scald Caused by Xantomonas albilineans in the Province of Guangxi, China. Plant Diseases,* 101(8): 1541.