

ESTUDIO DE LA DISTRIBUCIÓN DE LAS ENFERMEDADES VIROSAS DE LA CAÑA DE AZÚCAR EN COSTA RICA^A

*Erick Chavarría Soto^b, Lisela Moreira Carmona^c,
Benham E. Lockhart^d, Carmen Rivera Herrero^e, William Villalobos Müller^f.*

RESUMEN

El estudio de las enfermedades de origen viral requiere de técnicas inmunológicas de alta precisión y confiabilidad. Haciendo uso de estas herramientas y con el apoyo del Ministerio de Ciencia y Tecnología y del Centro de Investigaciones en Biología Celular y Molecular de la Universidad de Costa Rica, se procedió a desarrollar los anticuerpos para la detección del ScYLV con el fin de aplicar la técnica de ELISA para determinar la distribución del ScYLV en las plantaciones comerciales de caña de azúcar de Costa Rica. El estudio abarcó también a los Virus del Mosaico (ScMV), al Badnavirus de la caña de azúcar (ScBV), y al Virus del Enanismo del Maíz (MDCV). Se logró determinar que el ScYLV, pese a ser un virus de reciente descubrimiento, se encuentra en un 61% de los lotes muestreados a nivel nacional, mientras que el ScMV, que está reportado para Costa Rica desde 1958, se encuentra en un 15,2% de los lotes muestreados y particularmente concentrado en la región del Valle Central. Los virus ScBV y el MDCV no mostraron estar presentes en ninguna de los lotes analizados, por lo que se presume que no se encuentran en el país asociados a caña de azúcar.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de las plantas ocasionadas por virus pueden llegar a ocasionar pérdidas importantes a nivel comercial. La caña de azúcar es un cultivo en el cual el componente genético es la herramienta más importante en el combate de enfermedades, plagas, y en la adaptación a las diversas condiciones de cultivo en el país. Específicamente, la resistencia a las enfermedades es una de las cualidades básicas que debe poseer una variedad para su uso comercial, debido a que en caña no se acostumbra a utilizar labores como el combate químico para reducir el efecto de las enfermedades sobre la producción.

Las enfermedades de origen viral son un problema, debido a que por sus características no hay otra opción más que el uso de materiales resistentes o tolerantes y la utilización de semilla sana, para minimizar los efectos negativos.

En Costa Rica por mucho tiempo se ha reconocido la presencia del Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (ScMV), cuyos síntomas son muy característicos por la

conspicua clorosis variegada que muestran las hojas de las plantas afectadas. Así mismo ha sido evidente la concentración del problema en la región del Valle Central, donde históricamente el ScMV se ha mostrado con más intensidad.

En Costa Rica lo que se ha conocido como el Síndrome de la Hoja Amarilla (YLS) de la caña de azúcar produce una serie de síntomas que se han caracterizado por el amarillamiento de la nervadura central de la hoja, clorosis y quema de las puntas de la lámina foliar, acortamiento de los entrenudos y el enanismo de las cepas en casos severos. Inicialmente, el amarillamiento se nota en la vena central y posteriormente en la lámina foliar, en casos de alta sensibilidad se puede observar el enrojecimiento de la vena central, las hojas, y necrosis del tejido iniciando en los bordes y extendiéndose desde el ápice hacia la base de las hojas. Tanto los tallos como en el sistema radical de las cepas enfermas presentan menos desarrollo en comparación con los de las plantas sanas. Otros efectos que se han asociado al YLS son la acumulación de pigmentos de antocianina en la hoja lo que genera la coloración rojiza, y el bloqueo de la

translocación de solutos de la hoja al tallo, por lo que se da el acúmulo de azúcares en la nervadura central de la hoja. La enfermedad ha sido relacionada independientemente con dos diferentes patógenos: el virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar (ScYLV) y el fitoplasma del amarillamiento de la caña de azúcar (SCYLP) (Chavarría *et al*, 2003).

En Costa Rica, desde 1994 se han observado plantas con síntomas similares a los informados para el YLS en las zonas de San Carlos y Turrialba, donde los síntomas más fuertes se han observado en plantaciones comerciales ubicadas en las zonas medias y altas (800-1600 msnm) en la región occidental del Valle Central y en la provincia de Cartago (Chavarría *et al*, 2003).

Colombia ha reportado pérdidas de hasta 1,2 TM de caña por cada 1% de infección (Victoria *et al*, 1999) En Costa Rica se le han atribuido pérdidas de hasta un 50% en el tonelaje en el periodo que comprende desde 1995 hasta el 2000, en los cantones de Jiménez y Alvarado, provincia de Cartago.

Ávila y colaboradores (2001) determinaron la presencia del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar mediante pruebas de detección en diferentes muestras obtenidas de plantaciones comerciales con síntomas de la enfermedad.

El presente trabajo es un informe de los resultados preliminares obtenidos en el proyecto de Establecimiento y Estandarización de la Metodología de Diagnóstico de Enfermedades Virósas en el Cultivo de la Caña de Azúcar, investigación que se está llevando a cabo en forma conjunta entre la Dirección de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA) y el Centro de Investigaciones en Biología Celular y Molecular (CIBCM) de la Universidad de Costa Rica (UCR), el cual cuenta con el patrocinio del Consejo para la Investigación Científica y Tecnológica (CONICIT) y de la Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA).

OBJETIVO

Desarrollar anticuerpos y la metodología para la detección del virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar (ScYLV) mediante el método de ELISA y transferir la tecnología para la detección de este virus y el virus del mosaico de la caña del azúcar (ScMV) a la Dirección de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA) para el estudio de la distribución de las enfermedades virósas en plantaciones comerciales, semilleros y en material de reproducción *in vitro*.

METODOLOGÍA

Muestreo de Campo:

El muestreo se realizó en las diferentes zonas productoras de caña de Costa Rica de acuerdo a lo que muestra el Cuadro 1. A cada zona se le asignó una cantidad de lotes evaluar en concordancia con el área sembrada de caña, de manera que cada lote muestreado representa un área de aproximadamente 25 ha, lo que brinda una confiabilidad del 99,4% y una precisión del 3% al muestreo.

CUADRO 1
Distribución de Muestras para la Determinación de la Presencia de Enfermedades Virósas en Costa Rica.

REGIÓN		ÁREA ²	Número de
		(ha)	Lotes ³
Guanacaste	Carrillo, Liberia, Santa Cruz, Nicoya	14.157	576
	Cañas, Bagaces, Abangares	8.033	334
Total Guanacaste		22.190	910
Pacífico Central		6.284	303
Valle Central		6.751	248
Norte		6.302	219
Atlántica		3.683	151
Sur		4.167	169
TOTAL ¹		49.377	2.000

- 1 Área total estimada con base en documento publicado por DIECA en 1998.
- 2 El área de cada zona está calculada en base a las entregas de caña.
- 3 Cada lote a muestrear representa aproximadamente un área de 25 ha.

Una vez seleccionados los lotes o fincas, se procedió extraer de manera sistemática un total de 5 muestras de 5 hojas cada una, recorriendo el lote en forma de zeta en un área representativa no mayor a 1 ha. La hoja seleccionada para la muestra en todos los casos fue la hoja +3.

Los lotes se seleccionaron al azar con la excepción de aquellos casos en que existía un especial interés de carácter técnico en evaluar áreas específicas, tales como semilleros de cultivo de tejidos, lotes para semilla, variedades nuevas de importancia, o áreas con sospechas

y manifestaciones poco evidentes del síntoma de la enfermedad.

Análisis Serológicos:

En el Laboratorio del Programa de Caracterización y Diagnóstico de Virus y Viroides en Cultivos de Interés Económico y Alimentario del Centro de Investigaciones en Biología Celular y Molecular de la Universidad de Costa Rica (PCDV-CIBCM), las 5 muestras que correspondían cada lote fueron procesadas para el respectivo análisis. Cada muestra fue macerada empleando un rodillo mecánico y Tris-HCl 0.1M pH6.0 con 1% de NaSO₃ como amortiguador de extracción, y posteriormente se evaluó para la presencia del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV) mediante la prueba de DAS-ELISA (double antibody sandwich enzyme linked immunosorbent assay).

Los anticuerpos para el ScYLV fueron desarrollados por el PCDV-CIBCM, el cual fue purificado a partir de plantas sintomáticas de caña. Una vez purificadas las partículas virales, se procedió a la etapa de inmunización, para la cual se utilizaron conejos "New Zealand" a los que se les inyectó el virus para la obtención de los anticuerpos.

Del total de las muestras, se seleccionaron al azar un total de 198 para realizar las valoraciones del Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (ScMV), Badnavirus de la Caña de Azúcar (ScBV), y el Virus del Mosaico del Enanismo del Maíz (MDCV), para los cuales se utilizaron anticuerpos comerciales específicos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV):

Con base en los resultados de las pruebas publicadas por Arrieta y colaboradores en el 2000, a partir de extractos para purificación obtenidos de la variedad H 65-7052, así como las llevadas a cabo por microscopía electrónica, se revela la presencia del ScYLV en Costa Rica asociado al amarillamiento observado en el campo. La figura 1 evidencia la forma de las partículas virales en la muestra, lo que fue corroborado por análisis de isoenzimas que determinaron la presencia de la proteína viral.

Partículas del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV) observadas a 125.000 aumentos mediante ISEM a partir de purificaciones parciales de caña de azúcar con síntomas de amarillamiento de la vena y la lámina foliar. (Arrieta *et al*, 2000)

El cuadro 2 muestra una fuerte presencia del ScYLV en todas las regiones cañeras del país, destacándose la región del Valle Central como la de mayor incidencia de

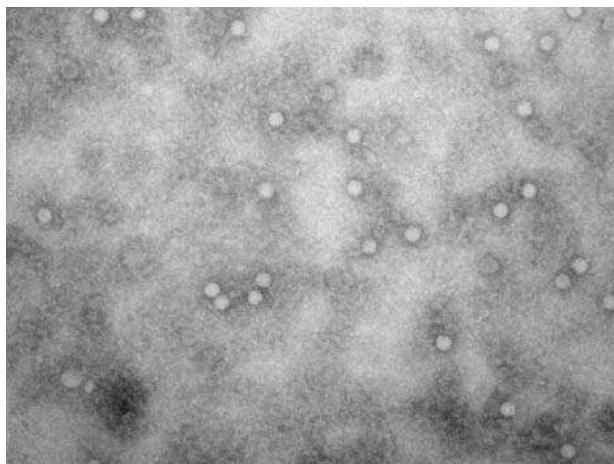


Figura 1

la enfermedad. Tal y como fue reportado en avances del proyecto publicados anteriormente (Chavarría *et al*, 2003), la gran mayoría de las muestras positivas se obtuvieron de plantas asintomáticas. Esto se debió a que la gran mayoría de las muestras se tomaron en estados tempranos de desarrollo de la planta, que es cuando se da la mayor tasa de crecimiento del cultivo. En algunos casos de muestreos en edades avanzadas, se pudieron notar síntomas muy visibles en variedades como la H60-8521, H65-7052, SP71-5574, RB73-9735, CP72-1210 y CP72-2086 principalmente. El cuadro 2A en los anexos muestra el listado de variedades evaluadas con los respectivos niveles obtenidos para el ScYLV.

La zona Sur, la cual depende únicamente de la variedad SP 71-5574 mostró niveles aceptables de incidencia, en comparación con las otras regiones. Esta situación brinda cierta tranquilidad debido a que la SP 71-5574 ha manifestado síntomas muy fuertes en la región del Valle Central, por lo que la posible susceptibilidad de esta variedad al ScYLV constituía un temor latente tomando en cuenta su alto desempeño en la región de Pérez Zeledón y la dificultad que ha existido de encontrar otros clones que le superen en productividad. Los síntomas de ScYLV en la región Sur fueron observados en su mayoría en plantaciones marginales con limitantes fuertes en cuanto a su producción y con deficiencias visibles en su manejo.

El cuadro 3 destaca el alto nivel de incidencia en la provincia de Alajuela, influenciado por el hecho de que esta provincia abarca una porción importante de la región del Valle Central en donde los niveles encontrados fueron bastante altos. El cuadro 1A de los anexos detalla los valores de incidencia obtenidos para cada localidad en la que se efectuó el muestreo.

Costa Rica tiene la particularidad, en comparación con otros países, de que se produce caña de azúcar en

CUADRO 2
Resultados parciales por regiones de la evaluación del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV) en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Regiones	Lotes muestreados	Lotes analizados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes (%) ¹	Incidencia (%) ²
Guanacaste A: Filadelfia, Liberia, Santa Cruz y Nicoya	576	576	1.282	1.598	58,2	44,5 bd
Guanacaste B: Cañas, Bagaces y Abangares	334	334	837	833	65,0	50,1 a
Guanacaste	910	910	2.119	2.431	61,6	47,3
Puntarenas	303	303	421	1.094	45,9	27,8 e
Valle Central	252	252	776	484	81,0	61,6 f
San Carlos	215	215	416	659	60,5	38,7 bcd
Turrialba	151	151	331	424	68,2	43,8 abc
Sur	169	169	233	612	54,4	27,6 e
TOTAL:	2.000	2.000	4.296	5.704		
PROMEDIO NACIONAL:					61,0	43,0

1 Relación porcentual entre los lotes positivos y el total muestreado en cada región.

2 Relación porcentual promedio entre el total de muestras positivas entre el total analizadas. Los valores con las mismas letras no difieren estadísticamente según prueba de t al 5%.

CUADRO 3.
Resultados por provincias de la evaluación del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV) en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Provincia	Lotes muestreados	Lotes analizados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes ¹ (%)	Incidencia (%) ²
Alajuela	470	470	1.196	1.154	71,7	50,9 a
Cartago	151	151	331	424	68,2	43,8 ab
Guanacaste	910	910	2.119	2.431	60,7	46,6 c
Puntarenas	363	363	515	1.300	46,8	28,4 ab
San José	106	106	135	395	54,7	25,5 b
TOTAL:	2.000	2.000	4.296	5.704		
PROMEDIO:					61,0	43,0

1 Relación porcentual entre los lotes positivos y el total muestreado en cada región.

2 Relación porcentual promedio entre el total de muestras positivas entre el total analizadas. Los valores con las mismas letras no difieren estadísticamente según prueba de t al 5%.

múltiples condiciones agroclimáticas, de ahí que se pueden encontrar plantaciones en diferentes estratos, destacándose la característica prácticamente única a nivel mundial de la presencia de plantaciones a más de los 1.000 msnm. Debido a que la manifestación de los síntomas en enfermedades virosas pueden variar de acuerdo a las condiciones agroecológicas de las regiones,

se evaluaron los resultados de acuerdo al piso altitudinal en que se encontraban las plantaciones. De esta manera se obtuvieron niveles más elevados de ScYLV en las plantaciones de altura, y pese a que no se encontraron diferencias significativas desde el punto de vista estadístico, se puede notar en el cuadro 4 que en términos absolutos, las zonas que se encuentran a más de los 900

CUADRO 4
Resultados por piso altitudinal de la evaluación del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV)
en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Piso Altitudinal	Lotes muestreados	Lotes analizados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes (%)	Incidencia (%)
Zona Alta (a más de 901 msnm)	211	211	616	439	76,8	58,4 b
Zona Media (201 a 900 msnm)	396	396	780	1.200	65,4	39,4 a
Zona Baja (0 a 200 msnm)	1.393	1.393	2.900	4.065	57,4	41,6 a
TOTAL:	2.000	2.000	4.296	5.704		
PROMEDIO NACIONAL:					61,0	43,0

msnm presenta en promedio un incremento de casi un 10% en incidencia.

El Cuadro 5 muestra los resultados obtenidos en cuanto a lo que a plantaciones de caña soca y de caña planta se refiere, vale aclarar que la caña planta incluye los datos tanto de semilleros como de plantaciones comerciales renovadas. No se encontraron diferencias y se puede notar que los niveles obtenidos no difieren en magnitud a la media nacional. Sin embargo es preocupante que en plantaciones nuevas se encuentren valores tan altos, lo que refleja la posible transmisión de la enfermedad a través de la semilla.

El cuadro 6 muestra que existe una diferencia a considerable entre los resultados de las determinaciones en plantaciones de ingenios y de productores independientes. Tomando en cuenta que los ingenios ejercen influencia sobre los productores de su región, se esperaba que los niveles fueran más cercanos entre sí a los obtenidos, sin embargo se nota una diferencia bastante

significativa la cual puede deberse a los ciclos de renovación que los ingenios programan de una temporada a otra, los cuales se dan con mayor frecuencia que en las plantaciones de los productores independientes.

Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (ScMV):

El ScMV se valoró con menor intensidad que el ScYLV por dos razones importantes. La primera es que se tenía bastante certeza de la presencia del ScMV desde mucho tiempo atrás debido a la manifestación de síntomas muy claros en el cultivo, y la segunda corresponde a la facilidad de encontrar anticuerpos comerciales específicos para este virus, lo cual disminuye la presión de probar y estandarizar una metodología de diagnóstico.

El ScYLV al contrario del ScMV, es una enfermedad de reciente descubrimiento en cuanto al asocio con el síntoma en el campo, no solo en Costa Rica sino que también a nivel mundial. De hecho se le ha denominado

CUADRO 5
Resultados parciales por tipo de plantación de la evaluación del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV) en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Plantación	Lotes muestreados	Lotes analizados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes (%) ¹	Incidencia (%) ²
Planta	220	220	504	596	64,5	45,8
Soca	1.092	1.092	2.362	3.098	60,1	43,3
Sin determinar	688	688	1.430	2.010	61,3	41,6
TOTAL:	2.000	2.000	4.296	5.704		
PROMEDIO NACIONAL:					61,0	43,0

¹ Relación porcentual entre los lotes positivos y el total muestreado en cada región.

² Relación porcentual promedio entre el total de muestras positivas entre el total analizadas.

³ Los resultados no difieren estadísticamente con un valor de F de 0,64 y una probabilidad de 42,2%. Las plantaciones sin determinar no fueron incluidas en el análisis.

CUADRO 6
Resultados parciales por grupo productivo de la evaluación del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV) en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Grupo productivo	Lotes muestreados	Lotes analizados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes ¹ (%)	Incidencia (%) ²
Ingenios	1.260	1.260	2.867	3.433	62,9	45,5
Productores	636	636	1.198	1.982	56,1	37,7
Sin determinar	104	104	231	289	68,3	44,4
TOTAL:	2.000	2.000	4.296	5.704		
PROMEDIO:					61,0	43,0

1 Relación porcentual entre los lotes positivos y el total muestreado en cada región.

2 Relación porcentual promedio entre el total de muestras positivas entre el total analizadas. Las diferencias entre las medias son estadísticamente significativas con un valor de F de 14,4 y una probabilidad de F menor a 0,015%. Las plantaciones sin determinar se excluyeron del análisis.

como Síndrome de la Hoja Amarilla (YLS) debido a que no se conocía con certeza la causa del amarillamiento. Por esta razón se esperaba que la distribución de la enfermedad no alcanzara los niveles encontrados, sin embargo el cuadro 7 muestra que la frecuencia de lotes infectados con ScMV es mucho menor que la de aquellos con ScYLV.

El promedio nacional de incidencia para ScMV sobrepasó levemente el 15% del total de lotes evaluados mientras que en el ScYLV alcanzó el 61%.

Nuevamente se destaca el Valle Central como un foco importante en cuanto a la presencia del ScMV, lo cual se ha observado a través del tiempo debido a que concuerda con el hecho de que en esta región es donde se observan las manifestaciones sintomáticas más fuertes de la enfermedad. Por el contrario hay que destacar también que las regiones de Puntarenas y de Pérez Zeledón se hayan libres del virus.

El cuadro 8 muestra los valores obtenidos por provincias, en donde Alajuela se muestra con los mayores

CUADRO 7
Resultados por regiones de la evaluación del Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (ScMV) en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Regiones	Lotes muestreados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes (%)
Guanacaste A: Filadelfia, Liberia, Santa Cruz y Nicoya	76	6	70	7,9
Guanacaste B: Cañas, Bagaces y Abangares	14	4	10	28,6
Guanacaste	90	10	80	11,1
Puntarenas	30	-	30	-
Valle Central	25	13	12	52,0
San Carlos	21	3	18	14,3
Turrialba	15	4	11	26,7
Sur	17	-	17	-
TOTAL:	198	30	168	
PROMEDIO NACIONAL:				15,2

problemas debido a que gran parte de las plantaciones de esta provincia se ubican en el Valle Central.

CUADRO 8.

Resultados por provincias de la evaluación del Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (ScMV) en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Provincia	Lotes muestreados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes (%)
Alajuela	46	16	30	34,8
Cartago	15	4	11	26,7
Guanacaste	90	10	80	11,1
Puntarenas	35	-	35	-
San José	12	-	12	-
TOTAL:	198	30	168	
PROMEDIO NACIONAL:				15,2

Las plantaciones ubicadas en zonas altas muestran la tendencia de verse más afectadas por el ScMV, de la misma forma que con el ScYLV. El cuadro 9 muestra esta situación en donde las plantaciones a más de 900 msnm tienen un incremento mayor a un 27% en incidencia, en relación a las plantaciones de la zona media.

CUADRO 9

Resultados por piso altitudinal de la evaluación del Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (ScMV) en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Piso altitudinal	Lotes muestreados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes (%)
Zona Alta (a más de 901 msnm)	30	13	17	43,3
Zona Media (201 a 900 msnm)	31	5	26	16,1
Zona Baja (0 a 200 msnm)	137	12	125	8,8
TOTAL:	198	30	168	
PROMEDIO:				15,2

Badnavirus de la Caña de Azúcar (ScBV) y Virus del Mosaico del Enanismo del Maíz (MDCV):

Las muestras analizadas para ScBV y MDCV no mostraron reacción positiva para estos virus por lo que se presume que hasta el momento las plantaciones

de caña de azúcar de Costa Rica están libres de estas enfermedades.

CONCLUSIONES

- El procedimiento de valoración con los anticuerpos de ScYLV producidos por el PCDV-CIBCM resultó en un éxito, produciendo resultados confiables que permitieron realizar el diagnóstico de los lotes seleccionados para la valoración de enfermedades virales. Esta herramienta permitirá en el futuro realizar los controles necesarios para disminuir paulatinamente la incidencia de las enfermedades virales, especialmente el ScYLV.
- De la misma manera que se publicó en avances anteriores, la alta incidencia obtenida hasta el momento y la amplia distribución de la enfermedad en todas las regiones, parece revelar que el ScYLV entró al país más tiempo atrás que para el instante en que se comenzaron a detectar los primeros síntomas. La diseminación por semilla pudo haber sido el mecanismo más viable para la dispersión de la enfermedad, la cual se ha establecido con éxito convirtiéndose ya en un problema endémico de las plantaciones de Costa Rica (Chavarría *et al*, 2003). La dispersión de la enfermedad ha sido tan eficiente que ha superado en gran cantidad al ScMV el cual se presumía que por estar más tiempo en el país, obtendría niveles de incidencia mayores.
- Se puede decir que la evidencia no es suficientemente clara, pero se presume que los ciclos más cortos de siembra que los ingenios implantan en sus programas de renovación programada, podrían tener influencia negativa ya que se podría dar una mayor diseminación del ScYLV en comparación con los productores, los cuales tienen la tendencia de extender más los ciclos de renovación. De ahí que los resultados obtenidos en las plantaciones de los productores sean más bajos que los de los ingenios.
- Los resultados obtenidos ratifican la necesidad mejorar en lo que a la calidad de la semilla se refiere, ya que presumiblemente la transmisión del ScYLV por este medio es mucho más exitosa que por la vía de los insectos. Aunque no se descarta la transmisión por insectos vectores, en vista que este vehículo también se da y en Costa Rica existen las dos especies de áfidos transmisoras del ScYLV que son el *Rhopalosiphum maydis* y el *Melanaphis sacchari*.
- Como se ha indicado, hasta el momento no se han detectado problemas drásticos con el ScYLV con las variedades que se siembran en Costa Rica, con la excepción de la variedad LAICA82-135 que presenta una alta susceptibilidad a la enfermedad y que tuvo que ser remplazada por otras alternativas.

De la misma manera la H65-8521 ha tenido que ser remplazada en las zonas altas de producción, debido a los efectos negativos que la enfermedad ejerce sobre ella. Sin embargo la presencia en el campo de niveles tan elevados podrían estar teniendo efectos negativos en cuanto a la vida útil de las plantaciones, lo cual no ha sido medido hasta la fecha (Chavarría *et al*, 2003). No obstante, evaluaciones realizadas por Rassaby y colaboradores (2003) indican que los efectos de la enfermedad sobre el rendimiento son más apreciables después de la primera soca, los cuales pueden oscilar desde un 28 hasta un 37% de pérdidas por efectos directos de la enfermedad.

- La ausencia en el país del ScBV y el MDCV en plantaciones de caña, obliga a valorar responsablemente los materiales que ingresan al país, para evitar la introducción de otros problemas de origen viral que se establezcan de la misma forma que el ScYLV.

LITERATURA CITADA

1. ARRIETA, M.C.; ÁVILA, R.; CHAVARRÍA, E.; VILLALOBOS, W.; MOREIRA, L.; LOCKHART, B.E.L.; RIVERA, C. 2000. Virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar (ScYLV) en Costa Rica. En Memoria 5to Congreso de la Asociación de Técnicos Azucareros de Latinoamérica, San José, Costa Rica. 290 p.
2. ÁVILA, R.; ARRIETA, M.C.; VILLALOBOS, W.; MOREIRA, L.; CHAVARRÍA, E.; LOCKHART, B.E.; RIVERA, C. 2001. First report of *Sugarcane yellow leaf virus* (ScYLV) in Costa Rica. *Plant Disease* 85: 919.
3. CHAVARRÍA, E.; LOCKHART, B. E.; MOREIRA, C.; RIVERA, C.; VILLALOBOS, W. 2003. Resultados Preliminares del Estudio de la Distribución del Virus de la Hoja Amarilla en Plantaciones Comerciales de Caña en Costa Rica. En Memoria 15to Congreso de la Asociación de Técnicos Azucareros de Costa Rica. Guanacaste, Costa Rica. 432 p.
4. RASSABY, L.; GIRARD, J. C.; LETOURMY, P.; CHAUME, J.; IREY, M.S.; LOCKHART, B.E.L.; KODJA, H.; ROTT, P. 2003. Impact of Sugarcane Yellow Leaf Virus on sugarcane yield and juice quality in Réunion Island. *European Journal of Plant Pathology* 109: 459-466.
5. SCAGLIUSI, S.; LOCKHART B.E. 2000. Transmission, Characterization and serology of a luteovirus associated with yellow leaf syndrome of sugarcane. *Phytopathology* 90:120-124.
6. VICTORIA, J.I.; GUZMÁN, M.L.; CUERVO, E.; LOCKHART, B. 1999. Síndrome de la Hoja Amarilla en Colombia. CENICAÑA. Serie Divulgativa 7. 4 p.

ANEXOS

CUADRO 1A

Resultados por distritos de la evaluación del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV) en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Provincia	Cantón	Distrito	Lotes muestreados	Lotes analizados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes (%)	Incidencia(%)
Alajuela	Alajuela	Alajuela	2	2	10	-	100,0	100,0
		La Guácima	7	7	27	8	85,7	77,1
		San Isidro	3	3	15	-	100,0	100,0
		San José	6	6	25	5	100,0	83,3
		San Rafael	4	4	13	7	100,0	65,0
		Tambor	15	15	44	31	66,7	58,7
	Atenas	Santa Eulalia	17	17	37	48	58,8	43,5
		Bolívar	1	1	-	5	-	-
	Grecia	Puente de Piedra	30	30	94	56	76,7	62,7
		San Isidro	5	5	13	12	100,0	52,0
		San José	25	25	99	26	92,0	79,2
	Los Chiles	Tacares	47	47	124	111	78,7	52,8
		Los Chiles	8	8	13	27	37,5	32,5
		Pocosol	20	20	38	62	75,0	38,0
	Poás	Carrillos	30	30	79	71	80,0	52,7
		San Pedro	9	9	19	26	77,8	42,2
	San Carlos	Aguas Zarcas	11	11	6	49	18,2	10,9
		Cutris	73	73	132	233	52,1	36,2
		Florencia	85	85	184	241	69,4	43,3
	San Mateo	La Fortuna	4	4	-	20	-	-
		La Palmera	3	3	8	7	100,0	53,3
		Quesada	11	11	35	20	90,9	63,6
	San Ramón	San Mateo	3	3	4	11	100,0	26,7
		Alfaro	1	1	5	-	100,0	100,0
		Concepción	1	1	5	-	100,0	100,0
	Valverde Vega	Los Ángeles	3	3	2	13	33,3	13,3
		Piedades Norte	12	12	38	22	83,3	63,3
		San Juan	3	3	10	5	66,7	66,7
	Valverde Vega	San Rafael	1	1	5	-	100,0	100,0
		San Ramón	3	3	7	8	66,7	46,7
		Santiago	1	1	2	3	100,0	40,0
		Volio	6	6	22	8	83,3	73,3
	Valverde Vega	Sarchí Norte	20	20	81	19	100,0	81,0
Subtotal			470	470	1.196	1.154		
Promedio Alajuela							71,7	50,9

CUADRO 1A (Continuación)

Resultados por distritos de la evaluación del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV) en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Provincia	Cantón	Distrito	Lotes muestreados	Lotes analizados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes (%)	Incidencia(%)
Cartago	Jiménez	Juan Viñas	60	60	180	120	81,7	60,0
		Pejibaye	16	16	45	35	93,8	56,3
		Tucurrique	2	2	9	1	100,0	90,0
		La Suiza	7	7	8	27	42,9	22,9
	Turrialba	Pacayitas	6	6	-	30	-	-
		Pavones	6	6	4	26	16,7	13,3
		Tayutic	3	3	4	11	66,7	26,7
		Tuis	3	3	11	4	100,0	73,3
		Turrialba	48	48	70	170	58,3	29,2
Subtotal		151	151	331	424			
Promedio Cartago						68,2	43,8	
Guanacaste	Abangares	Colorado	3	3	-	15	-	-
		Las Juntas	4	4	1	19	-	5,0
	Bagaces	Bagaces	36	36	125	55	86,1	69,4
		Bebedero	124	124	267	353	52,4	43,1
	Cañas	Cañas	67	67	228	107	82,1	68,1
		Porozal	31	31	71	84	67,7	45,8
		San Miguel	69	69	145	200	63,8	42,0
	Carrillo	Filadelfia	211	211	585	470	65,9	55,5
		Belén	11	11	8	47	-	14,5
		Palmira	10	10	7	43	-	14,0
		Sardinal	4	4	2	18	-	10,0
	Liberia	Nacascolo	9	9	2	43	22,2	4,4
		Liberia	277	277	590	795	59,6	42,6
	Nicoya	San Antonio	4	4	1	19	-	5,0
		Diriá	26	26	85	45	69,2	65,4
	Santa Cruz	Bolsón	19	19	2	93	-	2,1
		Santa Cruz	5	5	-	25	-	-
Subtotal		910	910	2.119	2.431			
Promedio Guanacaste						60,7	46,6	

CUADRO 1A (Continuación)

Resultados por distritos de la evaluación del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV) en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Provincia	Cantón	Distrito	Lotes muestreados	Lotes analizados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes (%)	Incidencia(%)
Puntarenas	Buenos Aires	Buenos Aires	19	19	34	61	78,9	35,8
		Volcán	44	44	64	156	43,2	29,1
	Esparza	Espíritu Santo	3	3	3	12	-	20,0
		San Rafael	1	1	-	5	-	-
		Macacona	5	5	7	18	-	28,0
		San Juan Grande	2	2	1	9	-	10,0
	Montes de Oro	Miramar	3	3	1	14	-	6,7
		Barranca	80	80	195	205	67,5	48,8
	Puntarenas	Chomes	19	19	13	82	-	13,7
		Pitahaya	187	187	197	738	37,4	21,1
Subtotal			363	363	515	1.300		
Promedio Puntarenas							46,8	28,4
San José	Pérez Zeledón	Cajón	26	26	16	114	38,5	12,3
		Daniel Flores	19	19	11	84	36,8	11,6
		General Viejo	11	11	2	53	18,2	3,6
		San Isidro	16	16	37	43	93,8	46,3
		San Pedro	34	34	69	101	70,6	40,6
		Subtotal	106	106	135	395		
Promedio San José							54,7	25,5
TOTAL:			2.000	2.000	4.296	5.704		
PROMEDIO NACIONAL:							61,0	43,0

CUADRO 2A.
Resultados parciales por variedades de la evaluación del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV)
en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Variedad	Lotes muestreados	Lotes analizados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes ¹ (%)	Incidencia (%) ²
B47-44	4	4	-	11	350,0	-
B60-125	18	18	52	38	77,8	57,8
B60-267	1	1	3	2	100,0	60,0
B74-132	29	29	43	102	51,7	29,7
B76-259	50	50	76	174	50,0	30,4
B77-95	28	28	42	98	67,9	30,0
B80-689	73	73	169	196	64,4	46,3
B82-333	5	5	7	18	60,0	28,0
B82-50	1	1	1	4	100,0	20,0
BJ75-04	7	7	24	11	85,7	68,6
BT65-152	9	9	17	28	44,4	37,8
CP57-603	2	2	1	9	50,0	10,0
CP70-1133	11	11	55	-	100,0	100,0
CP72-1210	182	182	386	524	57,7	42,4
CP72-1312	3	3	4	11	66,7	26,7
CP72-2086	212	212	574	486	67,0	54,2
CP73-1547	1	1	5	-	100,0	100,0
CP80-1557	1	1	5	-	100,0	100,0
CP80-1743	5	5	-	25	-	-
CP80-1827	1	1	3	2	100,0	60,0
CP80-1842	1	1	-	5	-	-
CP86-1633	2	2	10	-	100,0	100,0
H60-8521	2	2	5	5	50,0	50,0
H61-1721	3	3	6	9	66,7	40,0
H62-4671	2	2	10	-	100,0	100,0
H65-7052	3	3	11	4	100,0	73,3
H68-1158	3	3	10	5	66,7	66,7
H72-1365	1	1	4	1	100,0	80,0
H74-1715	7	7	23	12	85,7	65,7
H77-2545	21	21	62	43	76,2	59,0
H77-4643	26	26	64	66	73,1	49,2
H78-2313	4	4	12	8	75,0	60,0
H82-7318	3	3	9	6	100,0	60,0
JA60-5	7	7	15	20	42,9	42,9
LAICA85-653	10	10	15	35	50,0	30,0
LAICA87-601	2	2	5	5	50,0	50,0
LAICA92-14	1	1	5	-	100,0	100,0
LAICA94-316	2	2	-	10	-	-
MEX57-473	8	8	18	22	87,5	45,0
MEX69-290	2	2	6	4	100,0	60,0
MEX74-431	2	2	5	5	50,0	50,0
MZC74-275	1	1	5	-	100,0	100,0
NA56-42	151	151	340	415	59,6	45,0

CUADRO 2A.
Resultados parciales por variedades de la evaluación del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV)
en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Variedad	Lotes muestreados	Lotes analizados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes ¹ (%)	Incidencia (%) ²
NCO310	26	26	8	122	11,5	6,2
NCO376	28	28	-	128	50,0	-
PINDAR	71	71	143	212	60,6	40,3
PR87-2080	6	6	10	20	66,7	33,3
Q96	81	81	211	194	70,4	52,1
Q99	7	7	28	7	85,7	80,0
Q32	4	4	2	18	50,0	10,0
Q35	1	1	5	-	100,0	100,0
RB72-1012	3	3	10	5	66,7	66,7
RB73-9735	44	44	130	90	77,3	59,1
RD75-10	2	2	5	5	50,0	50,0
RD75-11	20	20	70	30	100,0	70,0
SABORIANA	30	30	-	67	46,7	-
SP70-1143	5	5	18	7	80,0	72,0
SP70-1284	155	155	371	404	63,2	47,9
SP71-3149	21	21	86	19	100,0	81,9
SP71-5574	232	232	321	839	52,2	27,7
SP71-6180	42	42	96	114	61,9	45,7
SP79-1011	1	1	-	2	1.400,0	-
SP79-2233	68	68	150	190	54,4	44,1
SP80-1520	1	1	-	5	-	-
SP80-1816	4	4	1	19	25,0	5,0
SP80-1842	1	1	4	1	100,0	80,0
SP81-2068	3	3	12	3	100,0	80,0
SP81-3250	2	2	1	9	50,0	10,0
SP82-1176	1	1	3	2	100,0	60,0
DESCONOCIDAS	221	221	361	744	53,4	32,7
OTRAS	13	13	36	29	76,9	55,4
TOTAL:	2.000	2.000	4.189	5.704		
PROMEDIO NACIONAL:					61,0	43,0

1 Relación porcentual entre los lotes con positivos y el total muestreado en cada región.

2 Relación porcentual promedio entre el total de muestras positivas entre el total analizadas.

CUADRO 3A.

Resultados por variedad de la evaluación del Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (ScMV) en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Variedad	Lotes muestreados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes (%)
B47-44	1	1	-	100,0
B76-259	3	-	3	-
B77-95	2	-	2	-
B80-689	6	2	4	33,3
BT65-152	3	-	3	-
CP57-603	1	-	1	-
CP70-1133	1	-	1	-
CP72-1210	13	1	12	7,7
CP72-2086	30	1	29	3,3
CP80-1743	1	-	1	-
H60-8521	1	1	-	100,0
H61-1721	1	1	-	100,0
H74-1715	2	-	2	-
H77-2545	2	2	-	100,0
H77-4643	4	2	2	50,0
H82-7318	1	1	-	100,0
LAICA85-653	2	-	2	-
LAICA92-14	1	-	1	-
MEX74-431	1	1	-	100,0
NA56-42	17	2	15	11,8
NCO310	2	-	2	-
NCO376	5	1	4	20,0
PINDAR	7	1	6	14,3
Q132	1	-	1	-
Q96	7	4	3	57,1
Q99	3	-	3	-
RB73-9735	3	-	3	-
SABORIANA	2	-	2	-
SP70-1143	1	1	-	100,0
SP70-1284	19	1	18	5,3
SP71-3149	3	-	3	-
SP71-5574	24	2	22	8,3
SP71-6180	3	-	3	-
SP79-2233	4	-	4	-
SP81-2068	1	1	-	100,0
SP81-3250	1	-	1	-
OTRAS	19	4	15	21,1
TOTAL:	5	51	214	
PROMEDIO:				15,2

CUADRO 4A.
Resultados por región y piso altitudinal de la evaluación del Virus de la Hoja Amarilla de la Caña de Azúcar (ScYLV)
en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Regiones	Piso Altitudinal	Lotes muestreados	Lotes analizados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes (%)	Incidencia (%)
Puntarenas	Zona Media (201 a 900 msnm)	16	16	15	65	43,8	18,8
	Zona Baja (0 a 200 msnm)	287	287	406	1.029	54,7	28,3
Valle Central	Zona Alta (a más de 901 msnm)	134	134	423	247	18,7	63,1
	Zona Media (201 a 900 msnm)	118	118	353	237	19,5	59,8
	Zona Alta (a más de 901 msnm)	1	1	5	-	100,0	100,0
San Carlos	Zona Media (201 a 900 msnm)	18	18	36	54	33,3	40,0
	Zona Baja (0 a 200 msnm)	196	196	375	605	40,3	38,3
Turrialba	Zona Alta (a más de 901 msnm)	76	76	188	192	31,6	49,5
	Zona Media (201 a 900 msnm)	75	75	143	232	32,0	38,1
TOTAL:		921	921	1.944	2.661		
PROMEDIO NACIONAL:						61,0	43,0

CUADRO 5A.
Resultados por región y piso altitudinal de la evaluación del Virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (ScMV)
en plantaciones comerciales de Costa Rica.

Regiones	Piso altitudinal	Lotes muestreados	Muestras positivas	Muestras negativas	Incidencia por lotes (%)
Puntarenas	Zona Media (201 a 900 msnm)	1	-	1	-
	Zona Baja (0 a 200 msnm)	29	-	29	-
Valle Central	Zona Alta (a más de 901 msnm)	21	10	11	47,6
	Zona Media (201 a 900 msnm)	4	3	1	75,0
San Carlos	Zona Media (201 a 900 msnm)	3	1	2	33,3
	Zona Baja (0 a 200 msnm)	18	2	16	11,1
Turrialba	Zona Alta (a más de 901 msnm)	9	3	6	33,3
	Zona Media (201 a 900 msnm)	6	1	5	16,7
TOTAL:		91	20	71	
PROMEDIO NACIONAL:					15,2

NOTAS

- a Proyecto financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología a través del Consejo Nacional para la Investigación Científica y Tecnológica de Costa Rica, MICIT-CONICIT FC-018-2000.
- b Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar. Dirección de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar. Santa Gertrudis Sur, Grecia, Alajuela, Costa Rica. Teléfonos: 494-1129, 494-2955, 494-7555. Fax: (506) 494-4451, (506) 223-0839. E – mail: echavarria@laica.co.cr
- c Centro de Investigaciones en Biología Celular y Molecular. Universidad de Costa Rica. San Pedro de Montes de Oca, San José, Costa Rica. Teléfonos: 207-3197, 207-3195, 207-3104. Fax: (506) 207-3190. E – mail: lmoreira@cariari.ucr.ac.cr
- d Departamento de Fitopatología. Minnesota University, Saint Paul. MN 55108, USA. E – mail: lockh002@umn.edu
- e Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica. E – mail: crivera@cariari.ucr.ac.cr
- f Centro de Investigaciones en Biología Celular y Molecular. Universidad de Costa Rica. San Pedro de Montes de Oca, San José, Costa Rica. Teléfonos: 207-3197, 207-3195, 207-3104. Fax: (506) 207-3190. E – mail: williamv@cariari.ucr.ac.cr

DETERMINACIÓN DEL RAQUITISMO DE LOS RETOÑOS (RSD) MEDIANTE EL EMPLEO DE TRES METODOLOGÍAS DE DIAGNÓSTICO

Erick Chavarría Soto^a; Javier Alfaro Porras^b; Manuel Rodríguez Rodríguez^c.

RESUMEN

La enfermedad del Raquitismo del Retoño (RSD) de la caña de azúcar ha sido la enfermedad de origen bacteriano más difícil de diagnosticar. Ocasionada por *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* la cual se aloja en el xilema, ocasionando la obstrucción de los haces vasculares, la enfermedad no produce síntomas visibles que delaten su ataque, a excepción de la disminución gradual del rendimiento en tonelaje. El RSD se transmite exitosamente por semilla y herramientas de corte lo que compromete en gran medida la sanidad de las plantaciones, especialmente los semilleros. El RSD se ha combatido satisfactoriamente con el tratamiento de la semilla con agua caliente (hidrotermoterapia), lo que se ha comprobado que disminuye su efecto negativo. Sin embargo el problema del diagnóstico oportuno sigue ocasionando incertidumbre entre los productores, razón por la que se estableció esta prueba con el fin de evaluar la viabilidad de tres metodologías para la estimación de la incidencia del RSD a nivel de plantaciones. Las pruebas seleccionadas consisten en la microscopía de autofluorescencia directa del metaxilema, y la tinción de los haces vasculares con safranina, ambas comparadas contra la prueba serológica de impresiones en membranas de nitrocelulosa (tissue blot). Los resultados de incidencia de las tres pruebas fueron estadísticamente significativos, en donde la prueba de autofluorescencia produjo menor cantidad de falsos positivos que la de tinción de los haces vasculares. Sin embargo la prueba del tissue blot cuenta con una limitación muy grande en la disponibilidad de anticuerpos y su ejecución requiere de personal calificado y de un mayor costo.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad conocida como Raquitismo del Retoño (o de las socas), conocida como RSD (por sus siglas en inglés), ha sido a través de la historia mundial de la caña de azúcar, una de las enfermedades más difíciles de diagnosticar. Inicialmente se creía que la enfermedad era ocasionada por un virus, y no fue hasta 1974 en que se pudieron observar bacterias asociadas con la enfermedad. Pruebas sucesivas pudieron demostrar que la enfermedad era ocasionada por bacterias y no por partículas virales como originalmente se pensaba hasta ese momento (Gillaspie *et al*, 1974; Teakle, 1974).

Fue hasta 1980 que se logró aislar y caracterizar a la bacteria asociada a esta enfermedad, originalmente clasificada por Davis (1980) como *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, actualmente conocida reclasificada como *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Lxx). Su difícil aislamiento y multiplicación por medios artificiales ha sido parte de las causas

que han dificultado su identificación y diagnóstico (Ricaud, 1974), el cual por mucho tiempo ha estado basado en la microscopía, especialmente la electrónica y la de contraste de fases (Damman *et al*, 1977; Bailey y Fox, 1984). La utilización de hospederos indicadores altamente sensibles a Lxx fue una alternativa que se evaluó para realizar pruebas de diagnóstico por inoculación directa (Teakle *et al*, 1978).

La implementación de diversas técnicas moleculares han facilitado el diagnóstico y la precisión de los resultados a nivel de laboratorio, en comparación con algunas pruebas de microscopía (Luna, 1983; Guzmán *et al*, 1987, Harrison y Davis, 1990). Sin embargo el uso de este tipo de técnicas obliga a la utilización de herramientas y reactivos especializados, implementación de procedimientos minuciosos, y a la utilización de personal calificado.

La aplicación de métodos rápidos y de bajo costo para la detección de RSD ha sido una preocupación y se