

**UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR**  
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS  
LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES

VALIDACIÓN EN LABORATORIO DE UN MÉTODO DE EVALUACIÓN  
DE RESISTENCIA A LA ROYA DE CAÑA DE AZÚCAR (*Puccinia melanocephala*)  
TESIS DE GRADO

**SILVIA PATRICIA AGUIRRE RIVERA**  
CARNET 20859-02

ESCUINTLA, SEPTIEMBRE DE 2015  
SEDE REGIONAL DE ESCUINTLA

**UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR**  
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS  
LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES

VALIDACIÓN EN LABORATORIO DE UN MÉTODO DE EVALUACIÓN  
DE RESISTENCIA A LA ROYA DE CAÑA DE AZÚCAR (*Puccinia melanocephala*)  
TESIS DE GRADO

TRABAJO PRESENTADO AL CONSEJO DE LA FACULTAD DE  
CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS

POR  
**SILVIA PATRICIA AGUIRRE RIVERA**

PREVIO A CONFERÍRSELE  
EL TÍTULO DE INGENIERA AGRÓNOMA CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES EN EL GRADO  
ACADÉMICO DE LICENCIADA

ESCUINTLA, SEPTIEMBRE DE 2015  
SEDE REGIONAL DE ESCUINTLA

## **AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR**

RECTOR: P. EDUARDO VALDES BARRIA, S. J.  
VICERRECTORA ACADÉMICA: DRA. MARTA LUCRECIA MÉNDEZ GONZÁLEZ DE PENEDO  
VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y PROYECCIÓN: ING. JOSÉ JUVENTINO GÁLVEZ RUANO  
VICERRECTOR DE INTEGRACIÓN UNIVERSITARIA: P. JULIO ENRIQUE MOREIRA CHAVARRÍA, S. J.  
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO: LIC. ARIEL RIVERA IRÍAS  
SECRETARIA GENERAL: LIC. FABIOLA DE LA LUZ PADILLA BELTRANENA DE LORENZANA

## **AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS**

DECANO: DR. ADOLFO OTTONIEL MONTERROSO RIVAS  
VICEDECANA: LIC. ANNA CRISTINA BAILEY HERNÁNDEZ  
SECRETARIA: ING. REGINA CASTAÑEDA FUENTES  
DIRECTOR DE CARRERA: MGTR. LUIS MOISÉS PEÑATE MUNGUÍA

## **NOMBRE DEL ASESOR DE TRABAJO DE GRADUACIÓN**

ING. WERNER RODERICO OVALLE SÁENZ

## **TERNA QUE PRACTICÓ LA EVALUACIÓN**

MGTR. ADÁN OBISPO RODAS CIFUENTES  
MGTR. RICARDO ARMANDO MORALES RAMÍREZ  
LIC. EDGAR ARTURO GARCIA SALAS CORDON

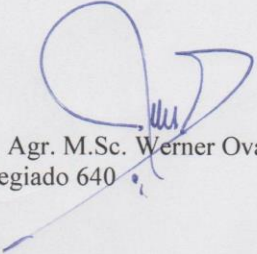
Escuintla 31 de agosto de 2015

Consejo de la Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas  
Universidad Rafael Landívar  
Campus Central

Estimados señores:

Respetuosamente les informo que he concluido la asesoría de la investigación de tesis titulada "Validación de un método de evaluación de resistencia a la Roya de la Caña de Azúcar (*Puccinia melanocephala*) a nivel de laboratorio", de la estudiante Silvia Patricia Aguirre Rivera. En mi opinión los resultados son importantes y de aplicación inmediata en el proceso de evaluación de variedades por su resistencia a la Roya de la caña de azúcar. Por lo tanto recomiendo que el informe de la investigación sea aprobado para su publicación como un requisito para la graduación de la señorita Aguirre Rivera.

Atentamente,



Ing. Agr. M.Sc. Werner Ovalle  
Colegiado 640



Universidad  
Rafael Landívar  
Tradición Jesuita en Guatemala

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS  
No. 06349-2015

### Orden de Impresión

De acuerdo a la aprobación de la Evaluación del Trabajo de Graduación en la variante Tesis de Grado de la estudiante SILVIA PATRICIA AGUIRRE RIVERA, Carnet 20859-02 en la carrera LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES, de la Sede de Escuintla, que consta en el Acta No. 06101-2015 de fecha 5 de septiembre de 2015, se autoriza la impresión digital del trabajo titulado:

VALIDACIÓN EN LABORATORIO DE UN MÉTODO DE EVALUACIÓN  
DE RESISTENCIA A LA ROYA DE CAÑA DE AZÚCAR (*Puccinia melanocephala*)

Previo a conferírsele el título de INGENIERA AGRÓNOMA CON ÉNFASIS EN CULTIVOS TROPICALES en el grado académico de LICENCIADA.

Dado en la ciudad de Guatemala de la Asunción, a los 30 días del mes de septiembre del año 2015.

  
\_\_\_\_\_  
ING. REGINA CASTAÑEDA FUENTES, SECRETARIA  
CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS  
Universidad Rafael Landívar



## **AGRADECIMIENTOS**

A mi asesor Ing. Agr. Werner Ovalle por su amistad, apoyo y asesoría en la investigación.

A la Dra. Andrea Maldonado por su amistad y el apoyo para la realización de la investigación.

Al Dr. Mario Melgar por permitirme realizar la investigación en las instalaciones de CENGICAÑA.

A Salomón García, Lorenzo Hernández y Carlos Pérez, por el apoyo al momento de establecer dicha investigación.

Al Ing. Agr. Ezequiel López por su ayuda para realizar el análisis estadístico de dicha investigación.

## DEDICATORIA

A

Dios: Por la vida, por sus bendiciones. Gracias por permitirme culminar esta meta.

Mi Madre: Por su amor y comprensión. Por sus esfuerzos y sacrificios para darnos lo mejor.

Mis Hermanos: Myrna Ligia, Blanca y Daniel, por su apoyo y consejos.

A mi hijo: Santiago Roberto, quien me dio el sentido para seguir adelante y culminar mi meta.

A mis compañeros de promoción: Por los momentos vividos a lo largo de nuestra carrera.

# ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
RESUMEN	i
SUMMARY	ii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1 IMPORTANCIA DE LA CAÑA DE AZÚCAR	3
2.2 DESCRIPCIÓN DE LA CAÑA DE AZÚCAR	3
2.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA CAÑA DE AZÚCAR	4
2.4 MORFOLOGÍA DE LA CAÑA DE AZÚCAR	5
2.4.1 El tallo	5
2.4.2 Nudo	5
2.4.3 Entrenudo	5
2.4.4 La hoja	6
2.4.5 La flor	7
2.4.6 El sistema radicular	7
2.5 ENFERMEDADES DE LA CAÑA DE AZÚCAR	8
2.5.1 La roya	9
2.5.2 <i>Puccinia Melanocephala</i>	10
2.5.1 La roya de caña de azúcar	11
2.5.2 Métodos de control de la roya de la caña de azúcar	11
2.5.3 Resistencia genética a la roya de la caña de azúcar	11
2.5.4 Métodos de inoculación artificial	12
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
3.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO	14
IV. OBJETIVOS	16
a. General	16
b. Específico	16
V. HIPÓTESIS	17



	<b>Página</b>
<b>VI. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>18</b>
<b>4.1 LOCALIZACIÓN DEL TRABAJO</b>	<b>18</b>
<b>4.2 MATERIAL EXPERIMENTAL</b>	<b>18</b>
4.2.1 Variedades	18
4.2.2 Fuentes de inóculo	18
4.2.3 Semilla de caña de azúcar	18
4.2.4 Inóculo	19
4.2.5 Suelo	19
<b>4.3 FACTORES ESTUDIADOS</b>	<b>20</b>
<b>4.4 DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS</b>	<b>20</b>
<b>4.5 DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	<b>21</b>
<b>4.6 MODELO ESTADÍSTICO</b>	<b>21</b>
<b>4.7 UNIDAD EXPERIMENTAL</b>	<b>21</b>
<b>4.8 MANEJO DEL EXPERIMENTO</b>	<b>21</b>
4.8.1 Manejo del inóculo	21
4.8.2 Preparación del inóculo	22
<b>4.9 VARIABLES RESPUESTA</b>	<b>26</b>
4.9.1 Tamaño de pústulas	26
4.9.2 Abundancia de esporulación	26
4.9.3 Abundancia de lesiones	26
<b>4.10 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN</b>	<b>28</b>
4.10.1 Análisis estadístico	28
<b>VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>29</b>
<b>5.1 TAMAÑO DE PÚSTULAS</b>	<b>29</b>
5.1.1 Concentración de inóculo $1 \times 10^5$ uredosporas/ml de agua	29
5.1.2 Concentración de inóculo $1 \times 10^4$ uredosporas/ml de agua	31
<b>5.2. ABUNDANCIA DE ESPORULACIÓN</b>	<b>32</b>
5.2.1 Concentración de inóculo $1 \times 10^5$ uredosporas/ml de agua	32
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	<b>39</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	<b>40</b>

<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>41</b>
<b>IX. ANEXOS</b>	<b>45</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

No.	Descripción	Página
1.	Descripción de los tratamientos	20
2.	Escala de clasificación de la reacción a royas en el cultivo de la caña de azúcar	27
3.	Resultado del análisis de la varianza por el método de Kruskal-Wallis para la variable tamaño de pústulas con inóculo de $1 \times 10^5$ uredosporas/mililitro de agua	30
4.	Prueba de comparación múltiple aproximada de Kruskal-Wallis para tamaño de pústulas con inóculo $1 \times 10^5$ uredosporas/mililitro de agua	30
5.	Resultado del análisis de varianza por el método de Kruskal-Wallis para la variable tamaño de pústulas con inóculo $1 \times 10^4$ uredosporas/mililitro de agua	31
6.	Prueba de comparación múltiple aproximada de Kruskal-Wallis para tamaño de pústulas con inóculo $1 \times 10^4$ uredosporas/mililitro de agua	32
7.	Resultado del análisis de varianza por el método de Kruskal-Wallis para la variable abundancia de esporulación con inóculo de $1 \times 10^5$ uredosporas/mililitro de agua	33
8.	Prueba de comparación múltiple aproximada de Kruskal-Wallis para abundancia de esporulación con inóculo $1 \times 10^5$ uredosporas/mililitro de agua	33

9. Resultado del análisis de varianza por el método de Kruskall-Wallis para la variable abundancia de esporulación con inóculo $1 \times 10^4$ uredosporas/mililitro de agua	34
10. Prueba de comparación múltiple aproximada de Kruskall-Wallis para abundancia de esporulación con inóculo $1 \times 10^4$ uredosporas/mililitro de agua	34
11. Resultado del análisis de varianza por el método de Kruskall-Wallis para la variable abundancia de lesiones con inóculo $1 \times 10^5$ uredosporas/mililitro de agua	35
12. Prueba de comparación múltiple aproximada de Kruskall-Wallis para abundancia de lesiones para el inóculo $1 \times 10^5$ uredosporas/mililitro	36
13. Resultado del análisis de varianza por el método de Kruskal-Wallis para la variable abundancia de lesiones con inóculo $1 \times 10^4$	36
14. Prueba de comparación múltiple aproximada de Kruskall-Wallis para abundancia de lesiones para el inóculo $1 \times 10^4$ uredosporas/mililitro	37

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>No.</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1.	Germinación de semilla en vaso desechable	19
2.	Campos infestados con roya marrón de la caña de azúcar	22
3.	Colecta de uredosporas	23
4.	Colecta de uredosporas	23
5.	Inóculo preparado	23
6.	Llenado de cámara de Neubauer	23
7.	Inoculación de plántulas	24
8.	Inoculación de plántulas y colocación de bolsas plásticas	24
9.	Plántulas inoculadas y cubiertas con bolsa plástica	25
10.	Plántulas sin bolsa después de la incubación inicial	25
11.	Resultados de las inoculaciones	38

# VALIDACIÓN EN LABORATORIO DE UN MÉTODO DE EVALUACIÓN DE RESISTENCIA A LA ROYA DE LA CAÑA DE AZÚCAR (*Puccinia melanocephala*)

## RESUMEN

La roya de la caña de azúcar ha tenido un impacto importante en varios países en donde ha llegado a regiones en las que se cultivan variedades altamente susceptibles. En México se estimó que las pérdidas fueron del orden del 50% de la producción de 1981 a 1983 con la variedad B43-62 (Asnaghi, D'Hont, Glaszmann y Rott, 2001). Los métodos utilizados para seleccionar variedades resistentes a la roya incluyen tanto la inoculación en laboratorio, como las evaluaciones de resistencia en el campo con inóculo natural, en plantas jóvenes y en plantas desarrolladas. El método aplicado a plantas jóvenes con inóculo colocado en el cogollo ha sido propuesto recientemente por Sood, Comstock y Glynn (2009), y en el presente trabajo el objetivo fue validar ese método. Se inocularon nueve variedades, tres susceptibles, tres de reacción intermedia y tres resistentes con inóculo colectado en campo. La inoculación se hizo en plantas en estado de 5-6 hojas aplicando la suspensión inoculadora en el cogollo. Se evaluaron dos concentraciones de inóculo. La variable de respuesta fue la reacción (presencia de síntomas o no y reacción de la planta; tamaño de pústulas y abundancia de esporulación, según proponen Sood, Comstock y Glynn). Además, se analizó la variable abundancia de lesiones. Las variables tamaño de pústulas, abundancia de esporulación y abundancia de lesiones se analizaron por el método sugerido por Kruskal-Wallis para datos no paramétricos. Los resultados encontrados permiten afirmar que la clasificación correcta de la resistencia de variedades a roya, se logra con la aplicación de  $1 \times 10^4$  uredosporas/ml, con un volumen de 100µl por planta. A pesar de que dicha dosis no permite diferenciar entre variedades de resistencia intermedia y susceptible, permite alcanzar el objetivo de seleccionar las variedades resistentes.

# Validation at laboratory of a method for evaluating resistance to Sugarcane rust (*Puccinia melanocephala*)

## SUMMARY

Rust of sugarcane has a significant impact in several countries where it has reached regions where highly susceptible varieties are grown. It was estimated that in Mexico, the losses with B43-62 variety were in the order of 50% of production from 1981 to 1983 (Asnaghi, D'Hont, Glaszmann and Rott, 2001). The used methods to select rust resistant varieties include both, laboratory inoculation and field resistance evaluations with plants. The method applied to young plants with inoculums placed in the leaf bud has been recently proposed by Sood, Comstock y Glynn (2009), and the objective was to validate this method. Nine varieties were inoculated, three susceptible, three intermediate and three resistant with inoculum collected in the field. The inoculation was performed in plants in 5-6 leaf stage applying the inoculum suspension to the leaf bud. Two different inoculum concentrations were evaluated. The measured variable was the reaction (presence of symptoms or not and the plant reaction as size of pustules and sporulation abundance as suggested by Sood, Comstock y Glynn, 2009). Besides, the lesions abundance variable was added. Variables size of pustules, sporulation abundance and lesions abundance were analyzed by the Kruskal-Wallis method test for nonparametric data. The results support the conclusion that the better rust resistance is achieved with the application of  $1 \times 10^4$  uredospores/ ml, and a volume of 100  $\mu$ l per plant. Although this dosage not distinguishes between intermediate and susceptible varieties, it can achieve the goal of selecting resistant varieties.

## I. INTRODUCCIÓN

El Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar - CENGICAÑA – tiene dentro de sus objetivos desarrollar variedades propias de caña de azúcar con potencial de producción mayor al de las variedades comerciales actuales y con niveles adecuados de resistencia a enfermedades. Desde el inicio del Programa de Producción de Variedades en 1993, se han validado métodos de evaluación de resistencia al carbón (*Ustilago scitaminea*) (Ovalle, 1993); escaldadura foliar (*Xanthomonas albilineans*) (González, 1996 y Ceballos, 2005) y mosaico (SCMV) (López, 2006); las tres enfermedades consideradas importantes en las condiciones del cultivo en Guatemala. La roya de la caña de azúcar también se considera una enfermedad de importancia económica, pero hasta el momento se ha evaluado su incidencia y severidad en condiciones de inóculo natural, lo cual puede permitir que algunas variedades susceptibles se consideren resistentes por no haber sido alcanzadas por el inóculo.

Existen varios argumentos sobre la existencia de razas del agente causal de la roya de la caña de azúcar (*Puccinia melanocephala* H. y P. Sydow) en diferentes zonas de producción del mundo. La base para eso, es el cambio de reacción que han mostrado diversas variedades tales como CP79-1580, CP72-1210, CL73-239, CP74-2005 y CL41-223, las cuales se comportaron como resistentes por un período variable de tiempo y luego se mostraron susceptibles a la enfermedad en la zona cañera de La Florida (Shine, Comstock y Dean, 2005).

Una situación similar ocurre actualmente en la zona cañera guatemalteca, en la cual se ha observado el fenómeno descrito en variedades distintas.

Lo indicado en los párrafos anteriores proporciona indicios de que nuevas razas fisiológicas del patógeno se desarrollan paralelamente con el desarrollo de nuevas variedades, lo cual hace necesaria la constante evaluación de resistencia a la roya en el desarrollo de nuevas variedades.



La evaluación de resistencia a la roya marrón se ha efectuado con diversos métodos, tales como el de foco de infección natural o esparcidos y método de inoculación en trozos de hoja (Chinea, O'Relly y Carvajal, 1996).

El método de infección natural o esparcidos es relativamente más sencillo y se utiliza en los estados iniciales del desarrollo de variedades en los cuales se evalúan gran número de variedades. El método de inoculación de trozos de hojas requiere de condiciones especiales, por lo cual se utiliza en estados avanzados de desarrollo de variedades en los cuales se evalúan pocas variedades y asegura la selección de genotipos resistentes pues la exposición al inóculo es segura.

## **II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 IMPORTANCIA DE LA CAÑA DE AZÚCAR**

El área más importante de producción del cultivo de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) en Guatemala, se encuentra localizada en la región sur, en donde actualmente ocupa alrededor de 260,000 hectáreas de cultivo (CENGICAÑA, 2013).

Para la zafra 2012-2013 se reportan producciones promedio de 101.68 toneladas de caña por hectárea y un rendimiento de azúcar promedio de 10.4 por ciento (CENGICAÑA, 2013).

La caña de azúcar, es considerada como uno de los cultivos agroindustriales de mayor importancia económica para Guatemala, es fuente de trabajo para miles de personas, y genera divisas para el país por la exportación de azúcar que de ella se extrae (González, 1996).

En Guatemala se cuenta con 342,000 hectáreas potenciales para el cultivo de caña de azúcar, localizadas principalmente en la planicie costera del Océano Pacífico, entre las coordenadas 14° 0' – 14° 40' latitud norte y 90° 30' – 91° 45' longitud oeste (Orozco, 1995). Esto permite la expansión del cultivo de caña de azúcar con los consecuentes beneficios mencionados.

### **2.2. DESCRIPCIÓN DE LA CAÑA DE AZÚCAR**

La caña de azúcar es una planta gramínea que se caracteriza porque durante su desarrollo forma un sistema vegetativo subterráneo, del cual nacen gran número de tallos y a todo el conjunto se le llama cepa (Flores, 1976).

Es una gramínea perenne, y posee la característica de ser una de las mejores captadoras de energía y transformadoras de carbohidratos en azúcares (González, 1996).

### 2.3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA CAÑA DE AZÚCAR

La caña de azúcar fue clasificada como *Saccharum officinarum* en 1753 por Linneo, y posteriormente sufrió numerosos intentos de sistematización por diversos autores, Roxburgh en 1832, Hackel en 1887 y Hooker en 1897. Con el transcurso del tiempo se produjeron nuevos intentos en la sistematización de la caña de azúcar, entre ellos los estudios de Jeswiet en 1916, 1925 y 1927. Los trabajos de Jeswiet son reconocidos actualmente como válidos por la mayoría de autores y él dividió al género *Saccharum* en cinco especies (Martin, 1987).

Martin (1987) clasificó a la caña de azúcar de la siguiente manera:

Reino: Plantae  
Subreino: Embryobionta  
División: Spermatophyta  
Subdivisión: Angiospermae  
Clase: Monocotyledonea  
Orden: Cyperales  
Familia: Poaceae  
Tribu: Andropogonoidea  
Género: *Saccharum*  
Especies: *S. officinarum* L.  
*S. robustum* Jes W  
*S. spontaneum* L.  
*S. barberi* Jes W.  
*S. sinense* L.

## **2.4. MORFOLOGÍA DE LA CAÑA DE AZÚCAR**

### **2.4.1. El tallo**

El tallo es el órgano más importante de la planta de la caña, ya que en él se almacenan los azúcares. La caña de azúcar forma cepas constituidas por la aglomeración de los tallos, que se originan de las yemas del material vegetativo de siembra y de las yemas de los nuevos brotes subterráneos. El número, el color y el hábito de crecimiento del tallo dependen principalmente de las variedades. El tamaño o longitud de los tallos depende, en gran parte, de las condiciones agroecológicas de la zona donde crece y del manejo que se le brinde a la variedad (Cassalet y Torres, 1995).

### **2.4.2. Nudo**

Es la porción dura y más fibrosa del tallo de la caña que separa dos entrenudos vecinos. El nudo está formado por el anillo de crecimiento, la banda de raíces, la cicatriz foliar, el nudo propiamente dicho, la yema y el anillo ceroso (Cassalet y Torres, 1995).

### **2.4.3. Entrenudo**

Es la porción del tallo localizada entre dos nudos. En la parte apical del tallo, los entrenudos miden unos pocos milímetros y en ellos ocurre la división celular que, a su vez, determina la elongación y la longitud final.

El diámetro, el color, la forma y la longitud de los entrenudos cambian con las variedades. El color es regulado por factores genéticos, cuya expresión y penetración pueden ser influidos por las condiciones ambientales, en especial, por la exposición directa a la luz (Cassalet y Torres, 1995).

#### 2.4.4. La hoja

Las hojas de la caña de azúcar se originan en los nudos y se distribuyen en posiciones alternas a lo largo del tallo a medida que éste crece. Cada hoja está formada por la lámina foliar y por la vaina. La unión entre estas dos partes se denomina lígula y en cada extremo de ésta existe una aurícula con pubescencia variable. La forma y el color de la lígula, así como la forma de la aurícula, son características importantes en la diferenciación de las variedades de la caña de azúcar.

La clorofila se encuentra en ciertas células de la hoja y tiene aptitud para utilizar la energía solar para combinar el agua y el bióxido de carbono que se localizan en las células de las plantas en los espacios intercelulares y en las cámaras de aire de la hoja para formar carbohidratos (varias clases de azúcares). Se puede considerar a la hoja como una fábrica donde se hace el azúcar y el tallo como el almacén donde éste se guarda (Cassalet y Torres, 1995).

- Lámina foliar

La lámina foliar es la parte más importante para el proceso de la fotosíntesis, y su disposición en la planta difiere con las variedades, siendo las más comunes la pendulosa y la erecta. La disposición de la lámina no determina los rendimientos en sacarosa ni la producción de caña; por lo tanto, es posible encontrar variedades con altos o bajos rendimientos que tienen distintas formas de disposición de las hojas en cualquier densidad de siembra (Cassalet y Torres, 1995).

- Vaina

La vaina tiene forma tubular, envuelve el tallo y es ancha en la base. Puede ser glabra o recubierta de pelos urticantes en cantidad y longitud que cambian con las variedades. Su color es generalmente verde cuando joven, pero cambia a rojo

púrpura cuando la hoja logra su completo desarrollo. La Intensidad con que se adhieren las vainas al tallo difiere con las variedades, siendo preferible que se desprendan fácilmente una vez que éste se desarrolla (Cassalet y Torres, 1995).

#### **2.4.5. La flor**

En la caña se conocen tres procesos involucrados en su crecimiento: división, diferenciación y elongación celular. Estos dan lugar a nuevas células y tejidos cuyo origen se sitúa en el meristemo apical de la yema terminal o cogollo; las nuevas células se diferencian en forma gradual para formar tejidos específicos que posteriormente se alargan. Este crecimiento no se realiza a velocidad uniforme, siendo lento durante la germinación de la yema y primordios radiculares para posteriormente alcanzar su máximo durante los meses de calor y humedad abundante, decreciendo en forma gradual a medida que se presenta la maduración y emergencia de la flor, la que ocurre generalmente cuando las condiciones ambientales de fotoperíodo, temperatura, disponibilidad de agua y nivel de nutrimentos en el suelo son favorables.

La inflorescencia de la caña es una panícula de aspecto sedoso, que cuando se abre por completo muestra muchas pequeñas espiguillas las cuales están dispuestas en pares sobre ramas. Cada espiguilla contiene una flor hermafrodita, es decir que lleva los órganos de los dos sexos: masculino (filamentos y anteras que producen el polen) y femenino (compuesto por el ovario, estilo y estigma). Al efectuarse la polinización tiene lugar la producción de semilla verdadera de la caña, que los genetistas utilizan para la creación de nuevas variedades (Cassalet y Torres, 1995).

#### **2.4.6. El sistema radicular**

El sistema radicular constituye el anclaje de la planta y el medio para la absorción de nutrimentos y de agua del suelo. Está formado por dos tipos de raíces:

- Raíces de la estaca original o primordiales

Las raíces de la estaca original o primordiales se originan a partir de la banda de primordios radicales, localizada en el anillo de crecimiento del trozo original (estaca) que se planta o siembra. Son delgadas, muy ramificadas y su período de vida llega hasta el momento en que aparecen las raíces de los nuevos brotes, lo cual ocurre entre los dos y tres meses de edad (Cassalet y Torres, 1995).

- Raíces permanentes

Las raíces permanentes brotan de los anillos de crecimiento radical de los nuevos brotes. Son numerosas, gruesas, de rápido crecimiento y su proliferación avanza con el desarrollo de la planta.

La cantidad, la longitud y la edad de las raíces permanentes dependen de las variedades; sin embargo, existen factores ambientales como el tipo de suelo y la humedad que influyen en estas características (Cassalet y Torres, 1995).

## **2.5. ENFERMEDADES DE LA CAÑA DE AZÚCAR**

El cultivo de la caña de azúcar, como otros cultivos, es susceptible al ataque de insectos y enfermedades, los cuales afectan el desarrollo de la caña y disminuyen el rendimiento (Flores, 1976).

Las enfermedades reportadas en Guatemala y que pueden causar daños económicos al cultivo de la caña de azúcar son: a) Causadas por hongos: carbón (*Ustilago scitaminea*), roya (*Puccinia melanocephala*), pokkah boeng (*Fusarium moniliforme*), peca amarilla (*Mycovellosiella koepkei*), mancha púrpura (*Dimeriella sacchari*), mancha de ojo (*Bipolaris sacchari*), mancha café (*Cercospor alongipes*), mancha de anillo (*Leptosphæria sacchari*), muermo rojo (*Colletotrichum*

*falcatum*), chamuscado de la hoja (*Stagonospora sacchari*), mal de piña (*Ceratocystis paradoxa*), enfermedad de la corteza (*Phaeocystostroma sacchari*), chamuscado por septoria (*Septoria sp.*) y raya negra (*Cercospora atrofiliiformis*). b) Causadas por virus: mosaico (SCMV) y amarillamiento foliar (ScYLV). c) Causadas por bacterias: raya roja (*Pseudomonas rubrilineans*), raquitismo de las socas (*Leifsonia xyli*), raya moteada (*Herbaspirillum rubrisubalbicans*) y escaldadura de la hoja (*Xanthomonas albilineans*) (González, 1996).

### **2.5.1 La roya**

Las royas se encuentran dentro de la clase Basidiomycetes donde también se encuentran a los carbones y setas. Se considera como la clase más evolucionada por la complejidad de sus estructuras. Se agrupan en el orden Uredinales y familia Pucciniaceae (Mendoza, 1983). Cavallinien (1998), menciona que se conocen alrededor de 5,000 especies de royas, muchas de las cuales causan enfermedades de importancia económica. Las royas atacan principalmente el follaje del hospedero, pero las también hay en tallos y frutos.

Según Agrios, citado por García (2009) indica que por lo común las infecciones causadas por royas tienen el aspecto de numerosas manchas rojizas, anaranjadas, amarillas o incluso de color blanco que causan el rompimiento de la epidermis. Las royas pueden producir hasta cinco tipos de esporas según la especie. Estas esporas son los espermacios, ecidiósporas, uredósporas, teliósporas, y basidiosporas. Las royas macrocíclicas presentan los cinco tipos de espora. Las demicíclicas carecen de uredosporas y las microcíclicas producen solo teliosporas como espora dicariótica. Las royas pueden requerir de dos hospedantes, llamados hospedantes alternos, para completar su ciclo, estas royas se denominan heteroicas y en ellas las esporas infectivas haploides (basidiosporas) infectan un tipo de hospedante y las dicarióticas (ecidiosporas y uredosporas) infectan el otro. Las royas autoicas completan todo su ciclo en el mismo hospedante. Las royas microcíclicas necesariamente son autoicas. Las royas macrocíclicas y demicíclicas pueden ser heteroicas o autoicas, así puede



definirse cinco grupos de acuerdo a si son autoicas o heteroicas y macrociclicas, demiciclicas o microciclicas (Cavallini, 1998).

### **2.5.2 *Puccinia melanocephala***

Según Mendoza, citado por García (2009). Describe las características de *Puccinia melanocephala* son: uredosporas de color café anaranjado ovales, con paredes gruesas, unicelulares, teliosporas claviformes, bicelulares, la célula superior redondeada con un engrosamiento apical y más grande que la basal; que es más clara y alargada y unida al peciolo con abundantes parafisos de forma claviforme y hialinos. Uredias lineares, color café anaranjado; las telias son pequeñas y de color café oscuro negro, ambas con parafisos y se presentan en ambos lados de la hoja.

Los síntomas que produce son el apareamiento de pequeñas manchas de color amarillo pálido, que al aumentar de tamaño toman una coloración café rojiza, rodeada por un halo pajizo, las lesiones se hinchan en el envés de la hoja formando pústulas que rompen la epidermis para liberar las esporas (uredosporas de uredias). Las pústulas crecen longitudinalmente, llegan a coalescer y forman áreas necróticas irregulares y diversos tamaños, las pústulas cafesosas posteriormente cambian a un color negruzco (telia con teliospora). Los daños producen un secamiento de la hoja, baja su actividad fotosintética, reduce el desarrollo de la planta, en general los daños varían de acuerdo a la intensidad del ataque, condiciones ambientales y a la susceptibilidad de la variedad. Las condiciones que favorecen su desarrollo son temperaturas y humedad relativa altas, siendo más fuertes las incidencias durante el periodo de lluvias entre los meses de mayo a septiembre.

### **5.1.3 La roya de la caña de azúcar**

La roya de la caña de azúcar ha tenido un impacto importante en varios países en donde ha sido introducida a regiones en las que se cultivan variedades altamente susceptibles. La variedad más notable, altamente susceptible, afectada por la roya fue B43-62 y como consecuencia se registraron pérdidas económicas serias en África, Norteamérica y en la región del Caribe (Autrey, Moutia, Saumtally, 1996). En México se estimó que las pérdidas fueron del orden del 50% de la producción de 1981 a 1983 con la variedad mencionada (Asnaghi, D'Hont, Glaszmann y Rott, 2001).

La importancia asignada a la enfermedad es variable. En algunos países se considera sin importancia y en otros ha provocado la sustitución de variedades susceptibles, en miles de hectáreas, con pérdidas millonarias (Ovalle, 1997).

### **2.5.4 Métodos de control de la roya de la caña de azúcar**

El método más efectivo de control de la roya de la caña de azúcar es a través del uso de variedades resistentes (Autrey, Moutia, Saumtally, 1996) (Peros, 1993). Los métodos utilizados para seleccionar variedades resistentes incluyen tanto la inoculación en laboratorio, como las evaluaciones de resistencia en el campo con inóculo natural, en plantas jóvenes y en plantas desarrolladas.

### **2.5.5 Resistencia genética a la roya de la caña de azúcar**

Según Purdy *et al.* Y Liu citados por Autrey *et al.*, (1996), las infecciones por roya son más severas en las etapas tempranas de desarrollo (1 – 6 meses) y generalmente declinan con la edad del cultivo, aunque pueden persistir aun hasta la madurez en algunas variedades altamente susceptibles. Las plantas desarrolladas completamente parece ser que adquieren resistencia con la edad pero el mecanismo de resistencia aún no ha sido explicado.

Según Robinson, citado por Sandoval (2001), debido a la complejidad genética de la caña de azúcar, dado su elevado nivel de heterocigosis y poliploidía, es difícil demostrar cuantos genes operan en la interacción patógeno-hospedante. Debido a las características de la caña, su origen, propagación vegetativa y ocurrencia de cruzamientos interespecíficos, la resistencia vertical se torna inoperante e ineficiente a la sobrevivencia y por eso su ocurrencia es de mínima significación.

Según Tokeshi, citado por Sandoval (2001), el fenómeno mostrado por la variedad B43-62, que fue infectada por la roya en prácticamente todo el mundo, muestra que dicha variedad carece de genes de resistencia horizontal hacia las diversas razas de *P. melanocephala*, lo que no ha sucedido con otras variedades como POJ28-78 que ha sido cultivada por más de 30 años manteniendo su resistencia a la enfermedad.

Estudios más recientes (Grivet *et al.*, Tomkins *et al.*, y Asnaghi *et al.*, citados por Maldonado, 2006) realizados en poblaciones producto de la autopolinización de la variedad R570, que presenta resistencia a la roya, mostraron que la característica de resistencia segregó claramente en proporciones 3 (resistentes): 1 (susceptible), lo cual demuestra, por primera vez, la ocurrencia de herencia monogénica (resistencia vertical) para resistencia a enfermedades en caña de azúcar.

### **2.5.6 Métodos de Inoculación artificial**

Para las evaluaciones de resistencia a la roya de la caña de azúcar se ha utilizado el método de campo con el uso de variedades esparcidoras y a través de inóculo natural. Los métodos de laboratorio (utilizando trozos de hoja) varían en cuanto a la forma de aplicación de inóculo, concentración de inóculo y formas de incubación. El método aplicado a plantas jóvenes con inóculo aplicado al cogollo ha sido propuesto recientemente por Sood, Comstock y Glynn. (2009). En el presente trabajo se pretende validar ese método.

**- El método de inoculación artificial sugerido por Sood, Comstock y Glynn**

En el método sugerido por Sood, Comstock y Glynn (2009), las esporas de roya se colectan del campo, del envés de hojas con el hongo en esporulación activa, utilizando una bomba de vacío y una boquilla conectada a un kitasato el cual permite la recolección de las esporas. Con las esporas se prepara una suspensión agregando tween 20 para facilitar la dispersión. Se agita utilizando un vórtex y luego un agitador magnético para lograr una suspensión uniforme. Esto permite la obtención de una muestra adecuada para determinar con un hematocímetro la concentración inicial. Luego por dilución se logra la concentración deseada que para Sood y colaboradores fue  $1 \times 10^5$ . El inóculo a la concentración deseada se aplica al cogollo de las plantas a razón de 100  $\mu$ l por planta. Luego se incubó a 24 grados centígrados por cuatro semanas (Comstock, J. indica que a partir de 21 días los resultados no varían, -comunicación personal-). Para la lectura de reacción se registra presencia o ausencia de síntomas, tamaño de pústulas y abundancia de esporulación en las pústulas. La evaluación se hace en la zona de las hojas que al momento de ser inoculadas aún estaban enrolladas formando el cogollo. Los autores sugieren que para tamaño de pústulas se evalúe como pequeñas, medianas y grandes y para abundancia de esporulación se evalúe como muy poco, moderado y abundante. Luego para clasificar se utiliza la tabla mostrada en el punto 4.9.1 (Reacción varietal) en Materiales y Métodos.

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

#### **3.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO**

A inicios de la década de los 1980, la roya de la caña de azúcar llegó a los países de la región del Caribe y provocó la eliminación de la variedad B43-62 en miles de hectáreas en México, Cuba y Guatemala, causando pérdidas millonarias.

Una situación importante en relación con la enfermedad es que existen indicios de que se desarrollan razas fisiológicas nuevas del patógeno paralelamente con el desarrollo de nuevas variedades, lo cual hace necesaria la constante evaluación de resistencia a la roya en el desarrollo de nuevas variedades.

La roya de la caña de azúcar se considera una enfermedad importante en Guatemala pero hasta el momento se ha evaluado su incidencia y severidad en condiciones de inóculo natural a nivel de campo.

Las evaluaciones de resistencia en condiciones de inóculo natural pueden permitir la selección de genotipos aparentemente resistentes, debido a que no han sido expuestos a una adecuada presión de inóculo, que permita conocer con precisión su nivel de resistencia.

La selección de genotipos resistentes a la roya se efectúa de manera más adecuada, utilizando métodos de inoculación artificial en los cuales todos los genotipos sujetos a evaluación se exponen al patógeno de manera uniforme. Sin embargo, para tales evaluaciones debe utilizarse el ambiente y la concentración adecuada de inóculo, puesto que el excesivo inóculo o las condiciones muy favorables para el patógeno pueden romper la resistencia de variedades que en el campo son resistentes.

En Guatemala no se ha generado información en relación con métodos de inoculación artificial de *Puccinia melanocephala*, por lo cual la realización de trabajos de investigación en este tópico y su aplicación, permitirá conocer el potencial de los nuevos genotipos para resistir la presencia del mencionado patógeno, además de hacer más eficiente la labor de los fitomejoradores de la caña de azúcar en Guatemala.

## IV. OBJETIVOS

### 4.1 GENERAL

Aportar información que contribuya a implementar metodologías para mejorar la calidad en la selección de los genotipos de caña de azúcar seleccionados por el Programa de Variedades de CENGICAÑA.

### 4.2 ESPECÍFICOS

- Validar el método de evaluación de resistencia a la roya de la caña de azúcar propuesto por Sood, Comstock y Glynn (2009) a nivel de laboratorio.
- Determinar la concentración adecuada de inóculo de *P. melanocephala* para la evaluación de resistencia a la roya de la caña de azúcar.

## **V. HIPÓTESIS**

- Los resultados de la evaluación permitirán la validación del método de evaluación de resistencia a roya.
- Al menos una de las concentraciones de inóculo evaluadas será adecuada para la evaluación de resistencia a la roya de la caña de azúcar.



## **VI. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 LOCALIZACIÓN DEL TRABAJO**

El estudio se realizó en las instalaciones del Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar - CENGICAÑA – ubicadas en el kilómetro 92.5 Carretera al Pacífico, Santa Lucía Cotzumalguapa, Escuintla. CENGICAÑA se encuentra en las coordenadas 14° 19' 30" latitud Norte y 91° 03' 03" longitud Oeste; se ubica a una altura de 280 metros sobre el nivel del mar, con temperatura promedio de 26° C., precipitación pluvial promedio de 3,614 mm anuales y humedad relativa de 82.2 por ciento. (CENGICAÑA, 2001.)

### **4.2 MATERIAL EXPERIMENTAL**

#### **4.2.1 Variedades**

Se evaluaron nueve variedades con diferente reacción de susceptibilidad a la enfermedad roya de la caña de azúcar. De ellas tres son variedades susceptibles BT65-152, MEX67-2969 y B73-714, tres moderadamente susceptibles PR75-2002, CG97-97 y CG96-135 y tres resistentes CP72-2086, MEX68P23 y CGCP95-55.

#### **4.2.2 Fuente de inóculo**

Las uredosporas que se utilizaron para inocular se obtuvieron de campos cultivados con la variedad CG97-97, infectados con roya marrón de la caña de azúcar.

#### **4.2.3 Semilla de caña de azúcar**

El material vegetativo que se utilizó como semilla fue obtenido de la Estación Experimental de CENGICAÑA. Se sembraron 10 yemas de cada variedad en

vasos desechables individuales con suelo esterilizado en autoclave, a 121 °C. y 15 lbs/pulg<sup>2</sup> de presión por 20 minutos y se identificaron con marcador indeleble (Figura 1). Se trasladaron a una casa de malla y se aplicó riego dos veces por día, una por la mañana y otra por la tarde. Durante su desarrollo, se le aplicó a las plantas dos fungicidas, Previcur 25 ml/ 15 l de agua y Derosal 16 ml/l de agua en volumen de 20 mililitros por vaso para protegerlas contra infecciones fungosas. Las plantas se fertilizaron con Calcinit (nitrógeno nítrico 14.4 %, nitrógeno amoniacal 1.1% y oxido de calcio 26.3%) a razón de 170 g/l y 40 ml por vaso.



Figura 1. Germinación de semilla en vasos desechables

#### **4.2.4 Inóculo**

El inóculo se preparó en el laboratorio de Fitopatología de CENGICAÑA, a partir de las hojas con lesiones traídas de campos infectados.

#### **4.2.5 Suelo**

El sustrato utilizado para la siembra de las plántulas fue Sunshine<sup>®</sup>, esterilizado en autoclave a 121 °C, a 15 lb/pulg<sup>2</sup> de presión, por 20 minutos.

### 4.3 FACTORES ESTUDIADOS

Los factores en estudio fueron variedades de caña y concentraciones de inóculo. Las variedades fueron nueve y las concentraciones dos.

### 4.4 DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

Los tratamientos se formaron por la combinación de las nueve variedades y dos concentraciones de inóculo. Los 18 tratamientos resultantes se describen a continuación.

Cuadro 1. Descripción de Tratamientos.

<b>Concentración <math>1 \times 10^4</math> uredosporas/ml</b>	<b>Concentración <math>1 \times 10^5</math> uredosporas/ml</b>
BT65-152	BT65-152
MEX67-2969	MEX67-2969
B73-714	B73-714
PR75-2002	PR75-2002
CG97-97	CG97-97
CG96-135	CG96-135
CP72-2086	CP72-2086
MEX68P23	MEX68P23
CGCP95-55	CGCP95-55

#### **4.5 DISEÑO EXPERIMENTAL**

Se utilizó un diseño bi-factorial completo (nueve variedades y dos concentraciones de inóculo) con distribución completamente al azar y ocho repeticiones.

#### **4.6 MODELO ESTADÍSTICO**

Debido a que las variables se registraron con valores no paramétricos, el análisis se efectuó con las concentraciones de inóculo por separado utilizando el método de Kruskal-Wallis, el cual no aplica modelo estadístico. El análisis se hizo por separado porque las variables no paramétricas no permiten la aplicación de análisis bifactoriales (López, E. Comunicación Personal).

#### **4.7 UNIDAD EXPERIMENTAL**

La unidad experimental fue una plántula sembrada en vaso desechable individual, con sustrato estéril, en estado de 5-6 hojas (2 meses de edad).

#### **4.8 MANEJO DEL EXPERIMENTO**

##### **4.8.1 Manejo del inóculo**

Se identificaron campos con la Variedad CG97-97 infectados con roya marrón de la caña de azúcar, se seleccionaron las hojas con esporulación activa del hongo y se trasladaron al Laboratorio de Fitopatología de CENGICAÑA en bolsas plásticas (Figura 2).



Figura 2. Campos infestados con roya marrón de la caña de azúcar

#### **4.8.2 Preparación del inóculo**

Se colectaron las uredosporas de las lesiones de hojas con una bomba de vacío adaptada para el proceso (Figuras 3 y 4).

Luego de colectar las uredosporas se procedió a preparar el inóculo haciendo una suspensión concentrada de esporas en agua, con 1 gota de tween 20 para que las esporas se dispersaran. Se hizo conteo de la concentración de la suspensión de inóculo en una cámara de Neubauer. Con el valor de concentración se calcularon los volúmenes de suspensión concentrada inicial y de agua que se necesitaba agregar para conseguir las suspensiones de  $1 \times 10^4$  y  $1 \times 10^5$  uredosporas/ml. Se preparó un total de 15 ml de la suspensión a utilizar (Figuras 5 y 6).

#### **Equipos y reactivos utilizados**

- Beakers
- Probetas
- Pipetas graduadas
- Pipetas Pasteur
- Bomba de vacío adaptada
- Cámara de Neubauer
- Tween 20
- Agua estéril



Figura 3. Colecta de uredosporas



Figura 4. Colecta de uredosporas



Figura 5. Inóculo preparado



Figura 6. Llenado de cámara de Neubauer

Del inóculo preparado se procedió a inocular las plántulas con 100  $\mu$ l de la suspensión. Para ello se utilizó una micropipeta Eppendorf de 100  $\mu$ l; la inoculación se realizó en el centro del cogollo, luego se le colocó una bolsa plástica para evitar pérdida de agua del inóculo, la bolsa se dejó por 24 horas. Las plántulas inoculadas se colocaron en una incubadora a una temperatura de 21 °C y las primeras 24 horas en total oscuridad, esto para inducir la germinación de las uredosporas y la penetración del tubo germinativo (Figuras 7, 8 y 9).



Figura 7. Inoculación de Plántulas



Figura 8. Inoculación de plantas y colocación de bolsa



Figura 9. Plántulas inoculadas y cubiertas con bolsas plásticas

24 horas después de la inoculación se quitó la bolsa y se programó la incubadora con un fotoperiodo de 12 horas (Figura 10).



Figura 10. Plántulas sin bolsa después de la incubación inicial



Nueve días después de inoculadas se cambió la temperatura a 24 °C y se mantuvo el mismo fotoperiodo. Se aplicó agua diariamente directo al sustrato.

#### **4.9 VARIABLES RESPUESTA**

La variable de respuesta fue la reacción (presencia de síntomas o no y reacción de la planta, tamaño de pústulas y abundancia de esporulación según proponen Sood, Comstock y Glynn, Cuadro 1). Además se evaluó la variable abundancia de lesiones para considerar la conveniencia de ser agregada para afinar la evaluación de resistencia-susceptibilidad. La lectura del efecto de la inoculación se realizó 21 días después de aplicado el inóculo.

##### **4.9.1 Tamaño de pústulas:**

El tamaño de pústulas es un componente de la susceptibilidad o resistencia de una variedad debido a que a medida que aumenta el tamaño de pústulas, el porcentaje de área foliar dañada es mayor.

##### **4.9.2 Abundancia de esporulación:**

La abundancia de esporulación interviene en el proceso de la enfermedad aumentando o disminuyendo la severidad puesto que si el patógeno es capaz de producir mayor cantidad de esporas, cada una de ellas puede provocar nuevos puntos de infección.

##### **4.9.3 Abundancia de lesiones:**

Se consideró importante evaluar esta variable puesto que, a pesar de que las variedades tienen comportamiento distinto en cuanto a tamaño de pústulas, también lo tienen en cuanto a abundancia de lesiones lo cual puede permitir que aunque las pústulas sean pequeñas, si son más abundantes pueden producir altas cantidades de esporas.

Cuadro 2. Escala de clasificación de la reacción a royas en el cultivo de caña de azúcar.

Escala de evaluación	Clasificación	Características
0	Muy resistente	No se observan síntomas
1	Resistente	Manchas (hipersensibilidad), sin pústulas
2	Moderadamente susceptible	Pequeñas pústulas con muy poca esporulación
3	Susceptible	Pústulas medianas con moderada esporulación
4	Altamente susceptible	Pústulas grandes con abundante esporulación

**Sood (2008).**

Para asignar los valores de la escala de evaluación (0-4) utilizando el cuadro anterior el tamaño de pústulas se clasificó así: pequeñas (1-2 mm), medianas (2.1 -4 mm) y grandes (>4 mm) y la abundancia de esporulación se clasificó como muy poca, moderada y abundante (Sood, Comstock y Glynn, 2009). Anexo 2 para ejemplos. Para abundancia de lesiones se adoptó el mismo criterio (Anexo).

## **4.10 ANÁLISIS DE INFORMACIÓN**

### **4.10.1 Análisis estadístico**

Las variables tamaño de pústulas, abundancia de esporulación y abundancia de lesiones se analizaron por el método sugerido por Kruskal-Wallis para datos no paramétricos. Dicha prueba fue propuesta por William Kruskal y Allen Wallis en 1952 y se utiliza para experimentos donde se evalúa un solo factor en un diseño completamente al azar y cuando se duda que los residuos sigan una distribución normal. Esto ocurre principalmente en variables discretas como conteos (por ejemplo de poblaciones de insectos) o en variables que se miden en escala ordinal (como el grado de severidad de una enfermedad en plantas), lo cual ocurre en nuestro caso. El análisis se efectuó con el paquete Infostat versión 2012 y se verificó con el paquete SAS 9.3. Se utilizó este método debido a que las variables fueron medidas de forma no cuantitativa tal como sugiere Sood, Comstock y Glynn (Ver Cuadro 1 en Anexo).

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 TAMAÑO DE PÚSTULAS

#### 5.1.1. Concentración de inóculo: $1 \times 10^5$ uredosporas/ml de agua

En el cuadro 2 se muestra el resultado del análisis de varianza por el método no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable tamaño de pústulas cuando se aplicó  $1 \times 10^5$  uredosporas por mililitro de agua. Se observa que ocurrieron diferencias altamente significativas ( $p < 0.0001$ ) entre las medias de tamaño de pústulas entre las variedades en prueba. En la prueba de comparación múltiple aproximada de las medias (cuadro 3) correspondiente se observa que la clasificación del tamaño de pústulas ordenó a las variedades, de manera tal, que dos variedades resistentes (CP72-2086 y CGCP95-55) fueron ubicadas como resistentes, en el grupo estadístico correspondiente, pero la tercera resistente (Mex68-P-23) se ubicó en grupos estadísticos compartiendo con las variedades susceptibles. Se puede indicar que para la variable tamaño de pústulas, si se aplica la dosis  $1 \times 10^5$ , existe la posibilidad de eliminar variedades resistentes que pueden reaccionar como susceptibles. Esto debido a que un exceso en la concentración de inóculo puede romper la resistencia que un material genético presenta en el campo. Tal fenómeno ya fue indicado por Barksdale, Papavizas y Johnston (1984), los cuales mencionan que un factor importante en las evaluaciones de resistencia es el nivel de inóculo del patógeno, ya que niveles altos pueden romper la resistencia de materiales con esa característica. Por lo tanto, la concentración de inóculo debe ser determinada y la aplicación de la cantidad es esencial. Además se debe aplicar siempre el mismo volumen de inóculo a cada planta (Dhingra y Sinclair, 1985). Las variedades susceptibles se ubicaron todas dentro del grupo estadístico de mayor susceptibilidad.

Cuadro 3. Resultado del análisis de varianza por el método de Kruskal-Wallis para la variable tamaño de pústulas con inóculo  $1 \times 10^5$  uredosporas/ml de agua

Variedad	N	Medias	D.E.	Medianas	gH	p
B73-714	8	2,00	0,00	2,00	8	
41,70 < 0,0001						
BT65-152	8	2,63	0,52	3,00		
CG96-135	8	1,50	0,93	2,00		
CG97-97	8	3,38	0,92	4,00		
CGCP95-55	8	0,50	0,93	0,00		
CP72-2086	8	0,25	0,71	0,00		
Mex67-2969	8	2,00	0,00	2,00		
Mex68-P23	8	1,75	0,71	2,00		
PR75-2002	8	0,25	0,71	0,00		

Cuadro 4. Prueba de comparación múltiple aproximada de Kruskal-Wallis para tamaño de pústulas con inóculo  $1 \times 10^5$  uredosporas/ml de agua

Variedad	Categoría	Grupo estadístico
CP72-2086	15,81	A
PR75-2002	15,81	A
CGCP95-55	19,63	B
CG96-135	34,88	C
Mex68-P23	38,69	D
B73-714	42,50	E
Mex67-2969	42,50	E
BT65-152	56,25	E
CG97-97	62,44	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

### 5.1.2. Concentración de inóculo: $1 \times 10^4$ uredosporas/ml de agua

Cuando se aplicó  $1 \times 10^4$  uredosporas/ml de agua a la variable tamaño de pústulas (cuadros 4 y 5) dio como resultado diferencias altamente significativas entre los promedios y la clasificación de variedades, esta concentración fue la correcta para las tres variedades resistentes, las cuales fueron incluidas sin excepción, en el grupo estadístico con las dimensiones menores de tamaño de pústulas. Las de susceptibilidad intermedia y las susceptibles se mezclaron tanto en el orden como en los grupos estadísticos, lo cual ha sido observado por otros autores para la enfermedad de escaldadura foliar (González, 1996 y Ceballos, 2005). Esta situación carece de importancia en un programa de producción de variedades resistentes, puesto que la cuestión importante es identificar a las variedades resistentes.

Cuadro 5. Resultado del análisis de varianza por el método de Kruskal-Wallis para la variable tamaño de pústulas con inóculo  $1 \times 10^4$  uredosporas/ml de agua

Variedad	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H p
B73-714	8	1,50	1,07	2,00	836,13<0,0001	
BT65-152	8	2,63	1,06	3,00		
CG96-135	8	2,75	0,46	3,00		
CG97-97	8	3,13	1,46	4,00		
CGCP95-55	8	0,50	0,53	0,50		
CP72-2086	8	0,50	0,76	0,00		
Mex67-2969	8	3,13	1,46	4,00		
Mex68-P23	8	1,25	1,04	2,00		
PR75-2002	8	2,63	1,06	3,00		

Cuadro 6. Prueba de comparación múltiple aproximada de Kruskal-Wallis para tamaño de pústulas con inóculo  $1 \times 10^4$  uredosporas/ml de agua

Variedad	Categoría	Grupo estadístico	
CP72-2086	15,50	A	} Resistentes
CGCP95-55	15,75	A	
Mex68-P23	23,88	A	
B73-714	27,75	B	
PR75-2002	45,81	C	
BT65-152	45,81	C	
CG96-135	46,38	C	
Mex67-2969	53,81	C	
CG97-97	53,81	C	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

## 5.2 ABUNDANCIA DE ESPORULACIÓN

### 5.2.1. Concentración de inóculo $1 \times 10^5$ uredosporas/mililitro de agua

Para la variable abundancia de esporulación, los resultados muestran prácticamente la misma situación. La variedad Mex68-P-23 quedó posicionada de manera errada cuando se aplicó  $1 \times 10^5$ , lo cual también se explica porque esa concentración de inóculo constituye un exceso que puede romper la resistencia. Cuando se aplicó  $1 \times 10^4$  uredosporas/ml las variedades resistentes se ubicaron de manera correcta (cuadros 6, 7, 8 y 9). Como se aprecia, cuando se aplicó  $1 \times 10^4$ , otra vez el grupo estadístico de las variedades resistentes fue exactamente separado del resto, mientras que las intermedias y susceptibles se mezclaron. La concentración adecuada encontrada difiere con la de Sood, Comstock y Glynn, la cual fue de  $1 \times 10^5$ .

Cuadro 7. Resultado del análisis de varianza por el método de Kruskall-Wallis para la variable abundancia de esporulación con inóculo  $1 \times 10^5$  uredosporas/ml de agua

<u>Variedad</u>	<u>N</u>	<u>Medias</u>	<u>D.E.</u>	<u>Medianas</u>	<u>H</u>	<u>p</u>
B73-714	8	3,75 0,71	4,00	43,97	<0,0001	
BT65-152	8	4,00 0,00	4,00			
CG96-135	8	2,25 1,16	2,50			
CG97-97	8	4,00 0,00	4,00			
CGCP95-55	8	1,13 0,35	1,00			
CP72-2086	8	1,13 0,35	1,00			
Mex67-2969	8	4,00 0,00	4,00			
Mex68-P23	8	2,50 1,41	2,50			
PR75-2002	8	1,38 1,06	1,00			

Cuadro 8. Prueba de comparación múltiple aproximada de Kruskall-Wallis para abundancia de esporulación con inóculo  $1 \times 10^5$  uredosporas/ml de agua

<u>Variedad</u>	<u>Categoría</u>	<u>Grupo estadístico</u>
CP72-2086	16,00	A
CGCP95-55	16,00	A
PR75-2002	19,06	A
CG96-135	28,75	A
Mex68-P23	33,75	B
B73-714	51,44	C
CG97-97	54,50	C
BT65-152	54,50	C
Mex67-2969	54,50	C

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )*



Cuadro 9. Resultado del análisis de varianza por el método de Kruskal-Wallis para la variable abundancia de esporulación con inóculo  $1 \times 10^4$  uredosporas/ml de agua

Variedad	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
B73-714	8	2,00	1,51	2,50	34,90	<0,0001
BT65-152	8	2,38	1,06	3,00		
CG96-135	8	3,13 0,35	3,00			
CG97-97	8	3,501,41	4,00			
CGCP95-55	8	0,50 0,53	0,50			
CP72-2086	8	0,63 1,06	0,00			
Mex67-2969	8	3,001,31	3,00			
Mex68-P23	8	1,251,04	2,00			
PR75-2002	8	2,63 1,06	3,00			

Cuadro 10. Prueba de comparación múltiple aproximada de Kruskal-Wallis para abundancia de esporulación con inóculo  $1 \times 10^4$  uredosporas/ml de agua

Variedad	Categoría	Grupo estadístico
CGCP95-55	15,75	A
CP72-2086	17,31	A
Mex68-P23	22,00	A
B73-714	34,75	B
BT65-152	37,94	C
PR75-2002	42,31	D
CG96-135	49,44	D
Mex67-2969	49,63	D
CG97-97	59,38	D

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )*

Finalmente, para la variable abundancia de lesiones, los cuadros 10, 11, 12 y 13 muestran que aunque se detectó la ocurrencia de diferencias altamente significativas entre variedades, éstas se ubicaron de manera completamente mezclada entre los diferentes grupos de resistencia usados en el estudio, cuando se utilizó  $1 \times 10^5$ . La dosis  $1 \times 10^4$  uredosporas/ml presentó los mejores resultados, detectando al grupo de variedades resistentes en orden adecuado, aunque con menos precisión que las variables discutidas antes. Los resultados obtenidos con las tres variables evaluadas, cuando se aplicó la concentración  $1 \times 10^4$  uredosporas/ml que ubican a las variedades resistentes como resistentes, permiten concluir que esa es la dosis adecuada de inóculo para la evaluación de resistencia a roya marrón en caña de azúcar. Esto debido a que la variedad Mex68-P-23, aunque se posicionó dentro del grupo de variedades resistentes, compartió también con el grupo estadístico de variedades susceptibles, lo cual también se explica por un exceso en la concentración de inóculo. A pesar de eso se considera que podría ser una variable útil para confirmar la reacción de resistencia de las variedades de caña de azúcar.

Cuadro 11. Resultado del análisis de varianza por el método de Kruskal-Wallis para la variable abundancia de lesiones con inóculo  $1 \times 10^5$  uredosporas/mililitro

Variedad	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
B73-714	8	3,25	0,89	3,50	29,26	0,0001
BT65-152	8	2,75	0,46	3,00		
CG96-135	8	2,00	0,00	2,00		
CG97-97	8	3,63	0,52	4,00		
CGCP95-55	8	2,38	0,74	2,00		
CP72-2086	8	2,50	0,53	2,50		
Mex67-2969	8	3,75	0,46	4,00		
Mex68-P23	8	3,00	0,76	3,00		
PR75-2002	8	2,50	1,20	3,00		

Cuadro 12. Prueba de comparación múltiple aproximada de Kruskal-Wallis para abundancia de lesiones con inóculo  $1 \times 10^5$  uredosporas/mililitro.

Variedad	Categoría	Grupo estadístico
CG96-135	14,50	A
CGCP95-55	23,81	B
CP72-2086	27,50	C
PR75-2002	31,88	C
BT65-152	34,00	C
Mex68-P23	39,63	D
B73-714	45,25	D
CG97-97	54,56	D
Mex67-2969	57,38	D

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )*

Cuadro 13. Resultado de análisis de varianza por el método de Kruskal-Wallis para la variable abundancia de lesiones con inóculo  $1 \times 10^4$  uredosporas/mililitro.

Variedad	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
B73-714	8	1,50	1,31	2,00	34,25	<0,0001
BT65-152	8	1,75	0,71	2,00		
CG96-135	8	2,50	0,76	2,00		
CG97-97	8	2,75	1,39	3,00		
CGCP95-55	8	0,50	0,53	0,50		
CP72-2086	8	0,38	0,52	0,00		
Mex67-2969	8	1,13	0,64	1,00		
Mex68-P23	8	0,63	0,52	1,00		
PR75-2002	8	1,75	0,71	2,00		

Cuadro 14. Prueba de comparación múltiple aproximada de Kruskal-Wallis para abundancia de lesiones con inóculo  $1 \times 10^4$  uredosporas/mililitro

Variedad	Categoría	Grupo estadístico
CP72-2086	16,75	A
CGCP95-55	19,00	A
Mex68-P23	21,25	B
Mex67-2969	31,13	C
B73-714	38,69	D
PR75-2002	44,56	D
BT65-152	44,56	D
CG96-135	56,13	D
CG97-97	56,44	D

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )*

En la figura 11 se muestran los resultados de la inoculación, en la primera fila cuando se aplicó inóculo con una concentración de  $1 \times 10^5$  uredosporas/ml y en la segunda fila cuando se aplicó inóculo  $1 \times 10^4$  uredosporas/ml. Es clara la diferencia en cuanto a las variables tamaño de lesiones y abundancia de lesiones y de cómo esta última variable puede ser importante para la diferenciación de la resistencia en variedades.

Los resultados mencionados permiten afirmar que para las tres variables utilizadas en la clasificación de la resistencia o susceptibilidad de variedades de caña de azúcar, a la infección por roya de la caña de azúcar, los resultados correctos al momento de seleccionar variedades resistentes se logran con la aplicación de  $1 \times 10^4$  uredosporas/ml, con un volumen de 100  $\mu$ l por planta. A pesar de que dicha dosis no permite diferenciar entre variedades de resistencia intermedia y susceptible, permite lograr el objetivo de seleccionar las variedades más adecuadas para uso comercial. Esos resultados coinciden con los encontrados por Gonzales y Ceballos, en inoculaciones para evaluar resistencia a escaldadura

foliar de la caña de azúcar, en los cuales, la separación es adecuada para variedades resistentes, pero no para distinguir entre variedades de resistencia intermedia y susceptibles.

Los resultados observados en la variedad CG97-97 (Cuadros 3, 5, 7, 9, 11 y 13) evidencian que dicha variedad es susceptible a la roya marrón de la caña de azúcar. Sin embargo, su comportamiento al momento de ejecutar la investigación la mostraba como una variedad de resistencia intermedia. La experiencia en su cultivo comercial posterior mostró su alta susceptibilidad, lo cual obligó a su eliminación. El fenómeno se confirma en la figura 11.

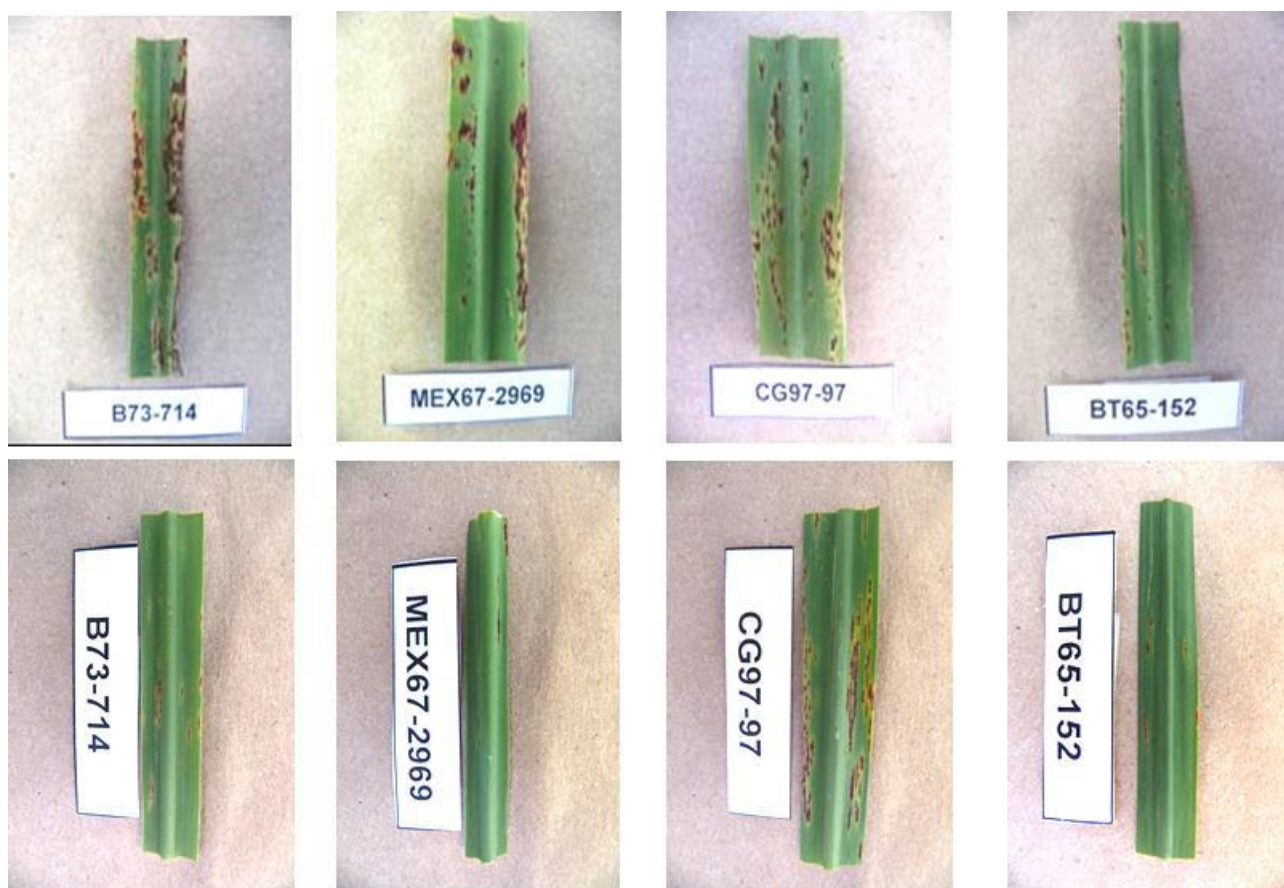


Figura 11. Resultados de las inoculaciones. En la primera fila cuando se aplicó la concentración de  $1 \times 10^5$  uredosporas/ml de agua y en la segunda fila cuando se aplicó la concentración de  $1 \times 10^4$  uredosporas/ml de agua.

## VIII. CONCLUSIONES

La inoculación de roya de la caña bajo las condiciones descritas permite los resultados adecuados para seleccionar variedades resistentes a la enfermedad. Esta conclusión valida el método propuesto por Sood, Comstock y Glynn.

La concentración adecuada de inóculo para la evaluación de resistencia bajo las condiciones usadas es de  $1 \times 10^4$  uredosporas/ml.

A pesar de que la dosis de  $1 \times 10^4$  no permite diferenciar entre variedades de resistencia intermedia y susceptibles, permite lograr el objetivo de seleccionar las variedades resistentes que son las adecuadas para uso comercial.

El registro de la variable abundancia de lesiones se muestra como una posibilidad que puede ser útil en la selección de variedades resistentes a la roya de la caña de azúcar, además de las variables tamaño de pústulas y abundancia de esporulación, que son las usadas en el método de Sood, Comstock y Glynn.

## **IX. RECOMENDACIONES**

Con base en los resultados obtenidos, se recomienda al Programa de Variedades de CENGICAÑA utilizar el método de inoculación al cogollo para evaluación de resistencia a roya marrón de la caña de azúcar.

## X. BIBLIOGRAFÍA

Asnagi, C.; D'Hont, A.; Glaszmann, J. C. and Rott, P. (2001). Resistance of sugarcane cultivar R 570 to *Puccinia melanocephala* isolates from different geographic locations. Montpellier, France. Plant Disease 85:3. pp 282 – 286.

Autrey, B.J.C; Moutia, Y. and Saumtally, S. (1996). Screening of seedlings against rust, inoculation treatment and assessment by video image analysis. Redit, Mauritius. Sugar Cane No. 1p 1 -10

Barksdale, T.H., Papavizas, G.C. and Johnston, S.A. (1984). Resistance to foliar blight and Crown rot of Pepper caused by *Phytophthora capsici*. Plant Disease (EEUU). 68(6):506-509

Cavallini, A. (1998). Fitopatología, un enfoque agroecológico. Primera edición, Editorial de la universidad de Costa Rica. San José de Costa Rica.

Cassalet, D. y Torres, E. (1995). El cultivo de la caña en la zona azucarera de Colombia. Cali, Colombia. Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia. 412 p

Ceballos, L. F. (2005). Determinación de la concentración de inóculo de *Xanthomonas albilineans* para la evaluación de resistencia a la enfermedad escaldadura foliar en caña de azúcar (*Saccharum spp.*). Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Centro Universitario del Sur Occidente.

Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar. CENGICANÁ (2001). Condiciones meteorológicas de la Finca Camantulul, Santa Lucía Cotzumalguapa, Escuintla, Guatemala. Informe Mensual. Guatemala. CENGICANÁ. 36 p.



CENGICAÑA. (2013). Memoria. Presentación de resultados de investigación. Zafra 2005-2006. Guatemala. 119-130 p.

Chinea, A.; O'Relly, J. y Carvajal, O. (1996). Obtención y selección de variedades de caña de azúcar. Resistencia genética en la caña de azúcar. Cuba, Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar.

Dhingra, O.D. and Sinclair, J.B. (1985). Basic Plant Pathology Methods. CRC Press. Inc. Boca Raton, Florida. p. 119

Flores, S. (1976). Manual de caña de azúcar. Guatemala. Instituto Técnico de Capacitación y Productividad. 172 p

García Juárez, E. de J. 2009. Evaluación de un método para determinar resistencia a Roya naranja *Puccinia kuehnii* (Uredinales; Pucciniaceae) en caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. (Cyperales; Poaceae) en condiciones de invernadero. Tesis Ing. Agr. Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas. Universidad Rafael Landívar. 48 p.

González, A. (1996). Evaluación de cuatro métodos de inoculación para la determinación de resistencia a Escaldadura de la hoja (*Xanthomonas albilineans* Ashby, Dowson) en caña de azúcar (*Saccharum* spp.). Tesis Ingeniero Agrónomo. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala.

López, J. E. (2006). Evaluación de cuatro métodos de inoculación artificial para determinación de resistencia al virus del Mosaico de la Caña de Azúcar (VMCA) en variedades de caña de azúcar (*Saccharum* spp.). Tesis Ingeniero Agrónomo. Guatemala. Universidad Rafael Landívar

Maldonado, A.; Quemé, J.L.; Ovalle, W. (2006). Desarrollo de marcadores tipo AFLP para determinar resistencia genética a *Puccinia melanocephala* H. Syd. & P.

Syd. (Roya marrón de la caña) en variedades de caña de azúcar (Saccharum spp). Guatemala. Centro Guatemalteco de Investigación de la Caña de Azúcar. 32 p

Martín J. R. (1987). La caña de azúcar en Cuba. Cuba. Cuba, Científico – Técnico. 612 p

Mendoza, C. (1,983). Principios de Fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Universidad Autónoma Chapingo, México.

Orozco, H. (1995). Estratificación preliminar de la zona de producción de caña de azúcar (Saccharum spp) en Guatemala con fines de investigación en variedades. Documento Técnico No. 6. Guatemala. Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar.

Ovalle, W. (1993). Procedimientos empleados en el Área de Fitopatología en CENICAÑA. Informe de visita. Guatemala, Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar

Ovalle, W. (1997). Manual para identificación de enfermedades de la caña de azúcar. Guatemala. Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar. pp 83.

Peros, J. P. (1993). Host and environmental influences on infection of sugarcane by Puccinia melanocephala. Réunion, France. Sugar Cane.No. 2. pp 13 - 17

Sandoval, I. (2001). La roya de la caña de azúcar en Cuba. La Habana, Cuba. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. 107 p

Shine, J. M.; Comstock, J. C. y Glynn, J. L. (2005). Comparison of five isolates of sugarcane brown rust and differential reaction on six sugarcane clones. In: Proceedings of the XXV Congress (Vol. 2). Guatemala, International Society of (Sugar Cane) Technologists

Sood, S. (2008). Field day for growers. Screening clones for sugarcane rust resistance. Sugarcane Field Station. Canal Point, Florida.

Sood, S., Comstock, J. and Glynn, N. (2009). Leaf whorl inoculation method for screening sugarcane rust resistance. Plant Disease 93:12. pp. 1335-1340.

## XI. ANEXOS

Cuadro 1. Resumen de valores de reacción para las variables tamaño de pústulas, abundancia de esporulación y abundancia de lesiones (valores con base en el cuadro Escala de clasificación de la reacción a royas en el cultivo de caña de azúcar -página 16).

Variedades		TAMAÑO DE PÚSTULAS															
		1x10 <sup>5</sup> uredosporas/mililitro de agua								1x10 <sup>4</sup> uredosporas/mililitro de agua							
		Repeticiones								Repeticiones							
		1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
BT65-152	3	3	3	3	3	2	2	2	0	3	3	3	3	3	3	3	
Mex67-2969	2	2	2	2	2	2	2	2	4	4	4	3	2	4	4	0	
B73-714	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	3	0	0	2	
CG97-97	4	3	2	2	4	4	4	4	0	2	4	4	4	3	4	4	
PR75-2002	0	0	0	2	0	0	0	0	3	3	3	3	0	3	3	3	
CG96-135	2	2	2	2	2	0	2	0	3	2	3	3	3	3	2	3	
CP72-2086	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1	0	0	0	
Mex68-P23	2	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	
CGCP95-55	2	0	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	1	1	0	0	

ABUNDANCIA DE ESPORULACIÓN

Variedades	1X10 <sup>5</sup>								1x10 <sup>4</sup>							
	Repeticiones								Repeticiones							
	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
BT65-152	4	4	4	4	4	4	4	4	0	3	3	3	3	2	2	3
Mex67-2969	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	4	4	0
B73-714	4	4	4	4	4	4	4	2	3	3	1	3	4	0	0	2
CG97-97	4	4	4	4	4	4	4	4	0	4	4	4	4	4	4	4
PR75-2002	1	1	1	4	1	1	1	1	3	3	3	3	0	3	3	3
CG96-135	3	4	3	3	1	1	2	1	4	3	3	3	3	3	3	3
CP72-2086	2	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	3	1	0	0	0
Mex68-P23	2	2		3	4	4	4		2	0	0	2	2	2	0	2
CGCP95-55	2	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0

ABUNDANCIA DE LESIONES

Variedades	1X10 <sup>5</sup>								1x10 <sup>4</sup>							
	Repeticiones								Repeticiones							
	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
BT65-152	3	3	3	3	2	3	2	3	0	2	2	2	2	2	2	2
Mex67-2969	4	3	4	4	4	4	4	3	1	1	1	1	1	2	2	0
B73-714	4	4	4	3	4	3	2	2	2	2	0	3	3	0	0	2
CG97-97	4	4	4	3	3	3	4	4	0	4	3	4	3	2	4	2
PR75-2002	0	3	3	4	3	2	3	2	2	2	2	2	0	2	2	2
CG96-135	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2	4	3	2
CP72-2086	2	3	2	2	3	2	3	3	0	1	0	1	1	0	0	0
Mex68-P23	2	3	4	2	3	4	3	3	1	0	0	1	1	1	0	1
CGCP95-55	4	3	2	2	2	2	2	2	0	1	1	0	1	1	0	0

### Abundancia de Lesiones

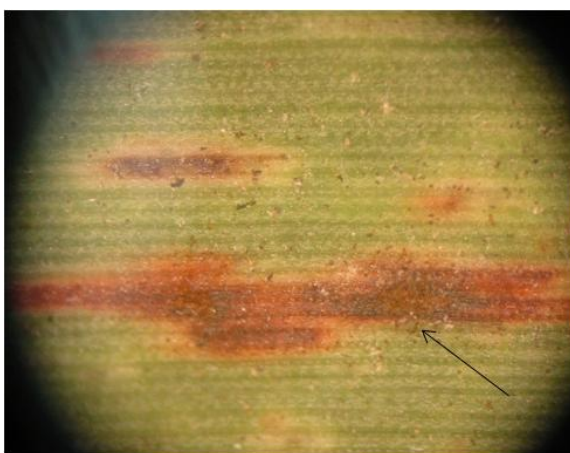


Muy Poca

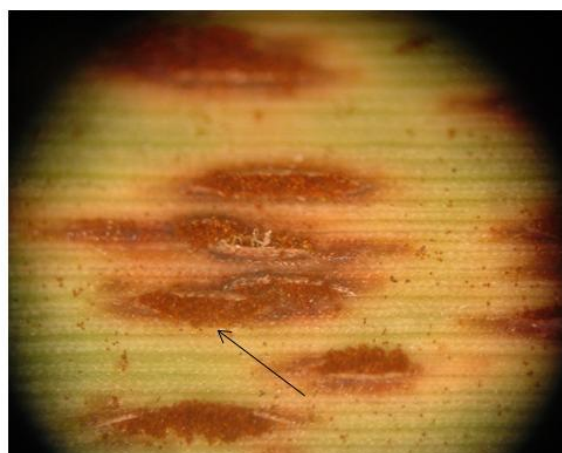
Moderada

Abundante

### Abundancia de Esporulaci3n



Muy poca



Abundante