

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Modelos lineales para evaluar resistencia a la enfermedad mosaico de la caña de azúcar

Lineal models for sugarcane mosaic disease resistance evaluation

Yaquelin Puchades^{1*}, María La O², Eida Rodríguez², Mérida Rodríguez²

¹ Estación Territorial de Investigaciones de la Caña de Azúcar (ETICA) Oriente Sur, Carretera Central Km 2 ½, Los Coquitos, Palma Soriano, Santiago de Cuba, Cuba

² Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA), km 2 ½, carretera a la CUJAE, Boyeros, La Habana, Cuba, CP 19390

Correo para correspondencia: yaquelin.puchades@inicas.azcuba.cu

RESUMEN

La evaluación de la resistencia a enfermedades es un paso clave en los Programas de Mejoramiento Genético de la Caña de Azúcar. Por ello se fundamenta la actualización de las metodologías establecidas con este propósito. El objetivo de este trabajo fue realizar una comparación entre la metodología vigente y el empleo de la regresión lineal para la clasificación de los cultivares por su reacción frente a la enfermedad mosaico de la caña de azúcar. Se utilizaron los datos correspondientes a un estudio multiambiental conducido en los tres Centros de Prueba: Jovellanos, Florida y Mayarí, donde se incluyeron 13 cultivares de caña de azúcar. Los resultados mostraron variabilidad en la magnitud de la respuesta esperada de los controles, lo que impidió la validación de los seis ensayos evaluados por la metodología vigente y, por tanto, la clasificación del material en estudio. Sin embargo, la aplicación de la comparación de medias entre el porcentaje de infección de los cultivares controles ofreció una alternativa para la revalidación de los estudios. Además, la aplicación de la regresión lineal permitió obtener modelos matemáticos para la asignación de grados y categorías de reacción frente al mosaico a los cultivares en estudio, lo que les confiere mayor precisión a los resultados.

Palabras clave: estudio multiambiental, regresión lineal, SCMV

ABSTRACT

The evaluation of diseases resistance is a key step in the Sugarcane Breeding Program. For this reason, it is necessary the updating of the methodologies established for this purpose. The objective of this work was to compare the current methodology and the use of linear regression for the classification of cultivars by their reaction to the sugarcane mosaic disease. Data from a multi-environmental study conducted at the three Test Centers: Jovellanos, Florida and Mayarí, were used. Thirteen sugarcane cultivars were included. The results showed variability in the magnitude of the expected response of the control, which prevented the validation of the six trials evaluated by the current methodology and, therefore, the

classification of the material under study. However, the application of the comparison of means between the infection percentages of the control cultivars offered an alternative for the revalidation of the studies. In addition, the application of linear regression allowed obtaining mathematical models for the assignment of a rate and reaction category against the mosaic to the cultivars in the studies, which gives them greater precision in the results.

Keywords: multi-environment trial, linear regression, SCMV

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar es susceptible a la infección por numerosas enfermedades que impactan significativamente en su productividad. La mayoría de las patologías de este cultivo son controladas a través del uso de cultivares resistentes (Medeiros *et al.*, 2014). Los Programas de Mejoramiento Genético tienen como objetivo obtener nuevos híbridos comerciales con un adecuado nivel de resistencia a las enfermedades que representan un riesgo para la producción cañera.

Los ensayos de evaluación de resistencia son una parte integral de los Programas de Mejoramiento Genético. En ellos, los cultivares son expuestos natural o artificialmente a altos niveles del patógeno contra el cual se requiere tolerancia antes de la liberación a la práctica comercial (Ramesh-Sundar *et al.*, 2015). En Cuba, particularmente, los nuevos híbridos son evaluados para resistencia a carbón, roya parda, escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar (Rodríguez *et al.*, 2014).

El mosaico de la caña de azúcar es causado por el Sugarcane mosaic virus (SCMV) (Puchades *et al.*, 2016). El procedimiento para la obtención de cultivares resistentes comprende el establecimiento de ensayos para la inoculación mecánica con el virus en la etapa final del esquema de selección que conduce el Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). Para ello existen tres Centros de Prueba en las provincias de Matanzas (Jovellanos), Camagüey (Florida) y Holguín (Mayarí) (Jorge *et al.*, 2011).

Los ensayos de inoculación incluyen el empleo de un grupo de cultivares controles de resistencia conocida. Estos son utilizados para comparar la respuesta a la enfermedad de los nuevos híbridos y en consecuencia asignar una categoría de reacción que usualmente varía

desde altamente resistente hasta altamente susceptible (Stringer *et al.*, 2013).

A diferencia de otras patologías de la caña de azúcar, los estudios de evaluación del mosaico se centran en la determinación de la incidencia o el porcentaje de plantas enfermas (Thorat *et al.*, 2015). Pocos trabajos refieren el estudio de la severidad, es decir, la proporción del área o cantidad de tejidos de la planta que está afectada (Pinto *et al.*, 2013); o las pérdidas ocasionadas en producción (Comstock y Sood, 2013).

Las metodologías empleadas para la clasificación de la resistencia al mosaico emplean una escala de nueve o cuatro grados, basada en porcentajes fijos de plantas infectadas en planta y soca (Hutchinson y Daniels, 1971; Rao *et al.* 1996). Sin embargo, dada la alta influencia del ambiente sobre el carácter de resistencia y la variabilidad observada en tales ensayos en caña de azúcar, se han empleado otras metodologías que permiten ajustar los resultados a las condiciones específicas de cada estudio. Tal es el caso del uso de la regresión lineal (Postman *et al.*, 2010) y los modelos de efectos mixtos (Stringer *et al.*, 2013).

El Programa de Mejoramiento Genético de la Caña de Azúcar en Cuba mantiene una actualización constante de las estrategias de evaluación de la resistencia a las principales enfermedades del cultivo. El objetivo de este trabajo fue realizar una comparación entre la metodología vigente y el empleo de la regresión lineal para la clasificación de los cultivares según la reacción frente al SCMV.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estableció un estudio multiambiental en cada uno de los tres centros de prueba al SCMV en el país (Jovellanos (22° 47' 53"; 81° 08' 33"),

Florida (21° 31' 09"; 78° 15' 03") y Mayarí (20° 40' 20"; 75° 46' 59"). Los ensayos se establecieron en dos años consecutivos según las Normas Metodológicas del Programa de Fitomejoramiento del INICA (Jorge *et al.*, 2011).

Los ensayos fueron plantados en vivero, con un diseño completo al azar, tres repeticiones y 20 plantas por cultivar. La inoculación se realizó mediante frotación de las hojas más jóvenes con jugo extraído del cultivar B34104, que se mantiene infectado in vivo como fuente de inóculo en cada localidad. Se evaluaron 13 cultivares de caña de azúcar (Tabla 1) que incluyen los controles utilizados en los estudios de resistencia al mosaico, B42231 (altamente resistente, AR), 39MQ832 (moderadamente resistente, MR) y C236-51 (altamente susceptible, AS). La variable evaluada fue el porcentaje de infección (PI) a los 60 días posteriores a la inoculación de la siguiente manera:

$$PI = \frac{\text{Plantas enfermas}}{20} \times 100$$

Tabla 1. Cultivares evaluados en el estudio multiambiental realizado en los centros de prueba al SCMV

No	Cultivar	No	Cultivar	No	Cultivar
1	C334-64	6	Co997	10	My5514
2	C137-81	7	Ja60-5	11	B42231*
3	C86-12	8	Ja64-11	12	39MQ832*
4	C87-51	9	Ja64-19	13	C236-51*
5	C88-380				

* cultivares controles usados en los ensayos de resistencia al SCMV

La clasificación de los cultivares en las diferentes localidades se realizó mediante la metodología vigente en las Normas y Procedimientos del Programa de Mejoramiento Genético en Cuba (Jorge *et al.*, 2011) y se introdujo la comparación de medias entre cultivares controles, seguida de una regresión lineal como criterio de validación de ensayos y método de clasificación de los cultivares, respectivamente.

1) Metodología vigente en las Normas y Procedimientos del Programa de Mejoramiento Genético en Cuba

A partir del porcentaje de infección se determinó el grado y categoría de reacción de los cultivares controles según la escala propuesta por Kolobaev *et al.* (1983) (Tabla 2). La comprobación de los resultados se efectuó a través de los criterios de validación: (1) que B42231 (AR) no alcance un PI equivalente a 39MQ832 (MR) y (2) que el de C236-51 (AS) sea superior a este grado intermedio.

Tabla 2. Escala vigente para la evaluación de resistencia al mosaico (Kolobaev *et al.*, 1983)

Grado	Infección (%)	Reacción
1	0	Inmune (I)
2	1-10	Altamente resistente (AR)
3	11-33	Resistente (R)
4	34-66	Moderadamente resistente (MR)
5	>66	Altamente susceptible (AS)

2) Comparación de medias entre cultivares controles y Regresión lineal

Con la variable PI de los cultivares controles, transformada según la expresión ($PI = \sqrt{PI+0,5}$), se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias mediante las dójimas de Tukey como criterio estadístico para precisar diferencias entre estos, según el modelo siguiente:

$$\gamma_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

donde:

γ_{ij} = observación correspondiente al cultivar i en la repetición j

μ = media general

α_i = efecto de los cultivares

ε_{ij} = error experimental

Para determinar la existencia de asociación entre PI (variable dependiente) de los cultivares controles y los grados establecidos (variable independiente) para cada uno se aplicó un análisis de regresión lineal. En cada ensayo se

calculó el coeficiente de correlación de Pearson y se definió el modelo lineal asociado, así como el valor del coeficiente de determinación (r^2). Con las ecuaciones se estimó el grado de reacción de todos los cultivares en estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los resultados de los métodos empleados para la evaluación de los ensayos de resistencia al SCMV.

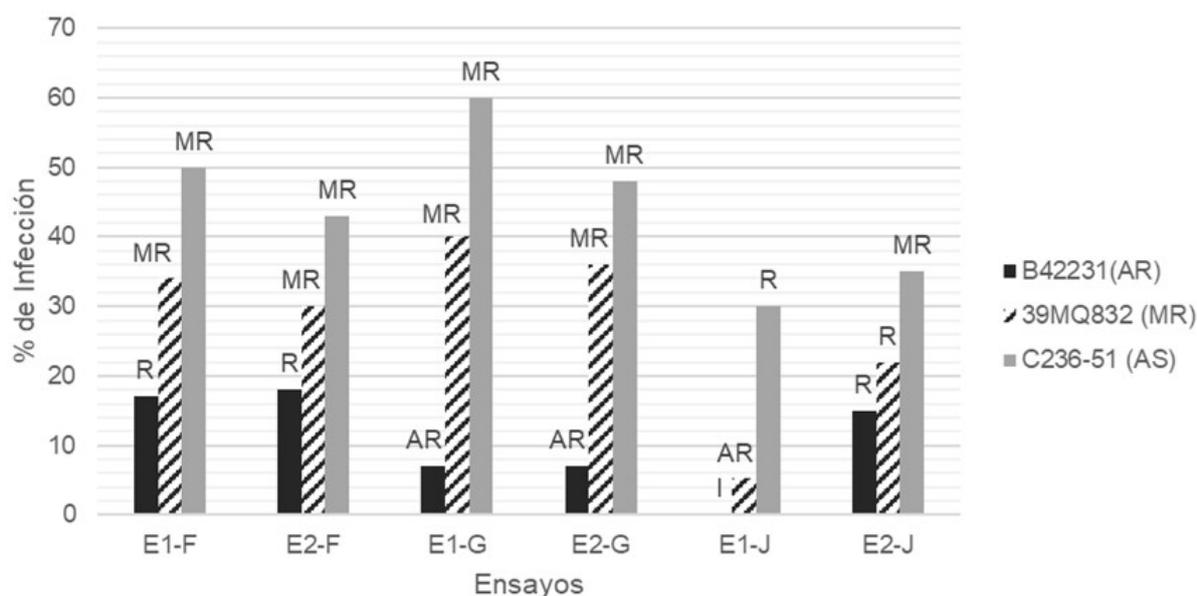
1) Metodología vigente en las Normas y Procedimientos del Programa de Mejoramiento Genético en Cuba

Según la metodología vigente, en ningún caso el cultivar control C236-51 (AS) alcanzó esta categoría (Figura 1), no obstante, fue el de mayor PI en todos los ensayos. Por otra parte, los controles B42231 (AR) y 39MQ832 (MR) presentaron variabilidad en sus respuestas, las que oscilaron en tres y dos categorías de reacción, respectivamente, para la evaluación de la resistencia al mosaico en Cuba.

Con estos resultados, los ensayos de resistencia al SCMV se consideraron no válidos en las tres localidades de prueba. Con

excepción de un ensayo (E1-J) que presentó los valores más bajos de incidencia, el resto no permitió diferenciar la categoría moderadamente resistente de altamente resistente (un ensayo), o altamente susceptible (cuatro ensayos). El incumplimiento de los criterios de validación de las normas vigentes no permitió realizar la clasificación de los cultivares en estudio.

Al respecto, Da Silva *et al.* (2015) observaron alta variabilidad en ensayos de resistencia al mosaico en caña de azúcar. Los componentes de la varianza estimados indicaron que la resistencia a la enfermedad tiende a ser cuantitativa. En líneas isogénicas de maíz también se observaron interacciones significativas genotipo-localidad y genotipo-años al estudiar los PI ocasionados por SCMV (Jones *et al.*, 2011). En este cultivo, aunque la resistencia al mosaico se atribuyó a dos genes dominantes (*scm1* y *scm2*), la presencia de estos no es suficiente para evitar la infección viral (Xia *et al.*, 2014). De ahí la importancia de analizar la estabilidad de la respuesta en los cultivares controles en múltiples ensayos para obtener un estimado preciso de la resistencia



E1 - ensayo 1; E2 - ensayo 2; F - Florida; G - Guaro; J - Jovellanos; I - Inmune; AR - Altamente resistente; R - Resistente; MR - Moderadamente resistente; AS - Altamente susceptible

Figura 1. Reacción de resistencia al SCMV observada en los cultivares controles de caña de azúcar en diferentes ensayos

varietal.

Pataky *et al.* (2011) refieren que, aunque la resistencia a las enfermedades en caña de azúcar es un carácter cuantitativo, las descripciones y comparaciones de los cultivares se comprenden mejor cuando se emplea una escala de valores ordinales, por ejemplo, de 1 a 5 o de 1 a 9 grados. No obstante, dada la influencia de las condiciones ambientales en el desarrollo de la enfermedad es necesario un método de procesamiento de datos que permita ajustar los resultados de cada ensayo.

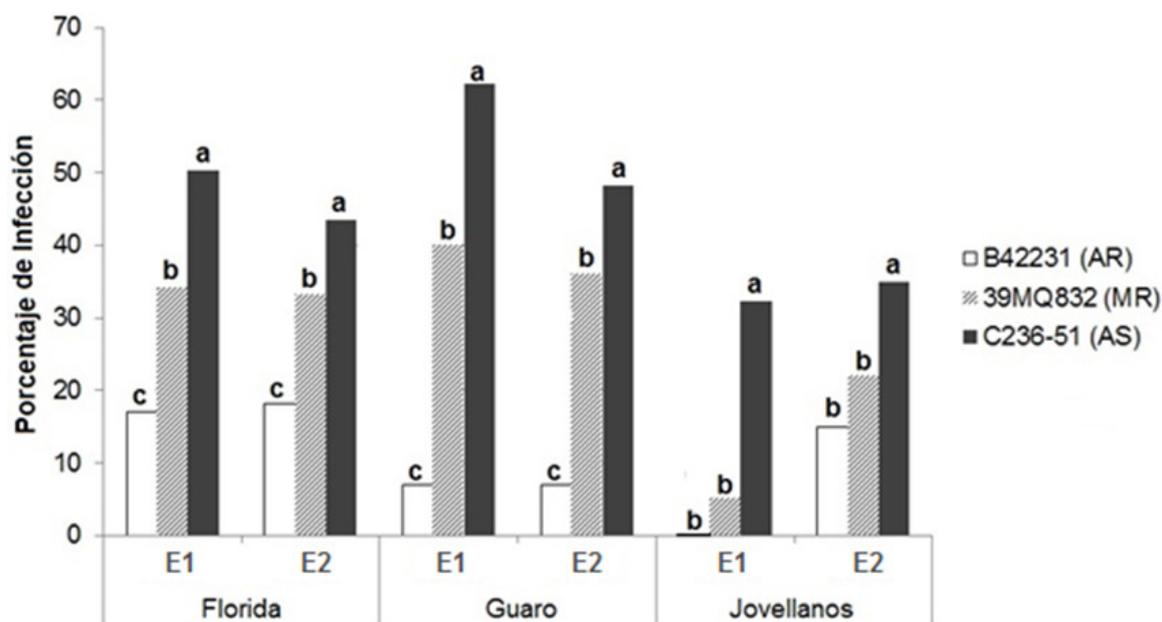
Hutchinson y Daniels (1971) propusieron el cálculo de los grados de resistencia a partir de una regresión lineal entre la variable que describe la magnitud de la enfermedad (incidencia o severidad) y los grados históricos de los controles. Aunque en la actualidad se ha incrementado el uso de modelos estadísticos para la evaluación de enfermedades (Nayak *et al.*, 2018), la mayoría de los programas de mejoramiento genético de caña de azúcar han usado por años la regresión lineal para la evaluación de la resistencia (Stringer *et al.*, 2013).

2) Comparación de medias entre cultivares controles y regresión lineal

La comparación entre medias del PI de los cultivares controles arrojó diferencias significativas en todos los ensayos de resistencia al SCMV (Figura 2). Sin embargo, en Jovellanos las reacciones MR y AR, de ambos años se agruparon en una sola categoría.

La utilización de la comparación de medias como criterio estadístico para establecer diferencias entre los controles permitió reconsiderar el cumplimiento de los criterios de validación vigentes en las Normas y Procedimientos del Programa de Mejoramiento Genético a estos resultados. De esta manera, todos los ensayos fueron admitidos, excepto los de Jovellanos, en el que no se diferenció la reacción AR y MR.

En este sentido, tiene particular relevancia lo expresado por Postman *et al.* (2010) sobre no fijar valores predeterminados para cada categoría de reacción, sino ajustar estas últimas según las diferentes condiciones ambientales en las que se desarrollan los estudios.



Leyenda: E1 - ensayo primer año, E2 - ensayo segundo año
Letras diferentes denotan diferencias significativas $p \leq 0,05$

Figura 2. Comparación de medias del PI entre cultivares controles en los ensayos de resistencia al SCMV en las localidades Jovellanos, Florida y Guaro

El empleo de la regresión lineal detectó en todos los ensayos una relación significativa entre el PI y los grados asignados a los cultivares controles (Tabla 3). Los modelos matemáticos obtenidos explicaron entre 97 y 64 % de la variación total de los datos.

El empleo del modelo de regresión lineal permitió calcular el grado y asignar una categoría de reacción a los cultivares para cada ensayo (Figura 3).

Se observó estabilidad en los niveles de resistencia al mosaico de los cultivares de caña de azúcar, aunque B42231, C334-64, Ja64-19 y C88-380 presentaron mayor variabilidad. Esto indicó posibles errores en su clasificación anterior, al ser evaluados en una sola localidad y no disponer de un método que permitiera ajustar los resultados a las condiciones del

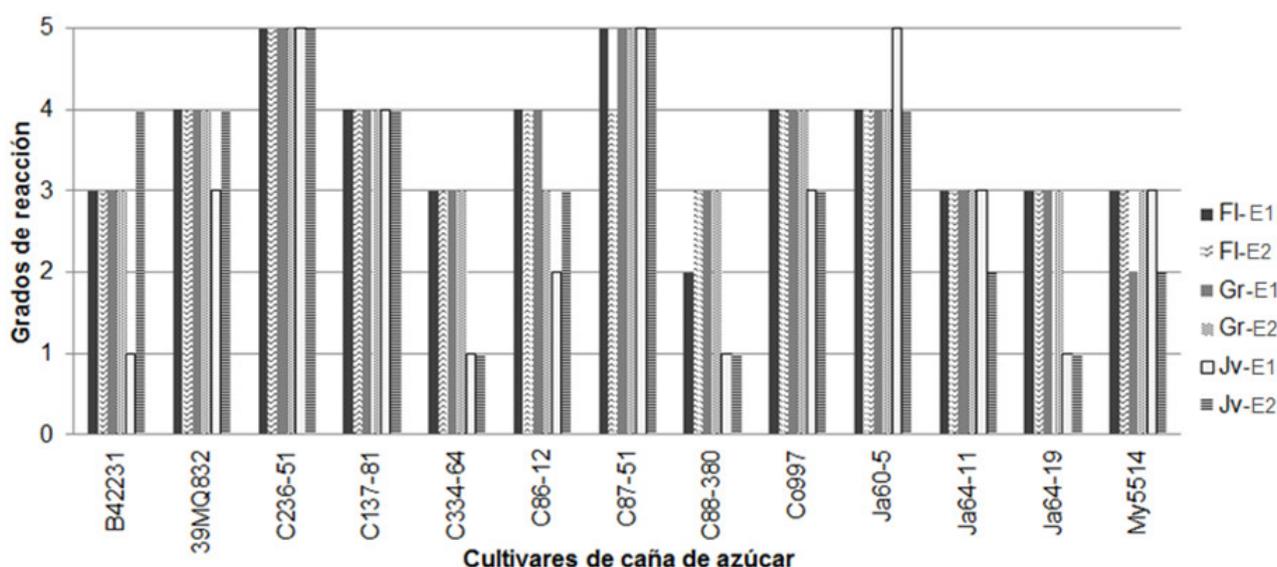
ensayo.

Al respecto, Putra *et al.* (2013) expresaron que el número de cultivares controles y los grupos estadísticamente diferentes de estos, determina la cantidad de categorías de resistencia que se identifican por ensayo. Por lo que, con el empleo de tres controles en los ensayos de resistencia al mosaico, solo es posible identificar igual número de reacciones.

Los resultados alcanzados en el presente trabajo revelaron limitaciones del método vigente en las Normas y Procedimientos del Programa de Mejoramiento Genético para evaluar resistencia al SCMV en Cuba. Esta es la falta de un criterio estadístico que confirme la diferencia entre los controles en cada ensayo y la utilización de una escala que considera más categorías de reacción que el número de

Tabla 3. Modelos lineales asociados a la determinación del grado de afectación por SCMV en cultivares de caña de azúcar

Localidad	Ensayo	Ecuación	r	r ²	p
Florida	E1	$v(PI+0,5)= 0,72*Grado + 2,25$	0,94	0,88	<0,01
	E2	$v(PI+0,5)= 0,76*Grado + 2,47$	0,94	0,89	<0,01
Guaro	E1	$v(PI+0,5)= 0,71*Grado + 1,99$	0,98	0,97	<0,01
	E2	$v(PI+0,5)= 1,15*Grado + 2,11$	0,92	0,84	<0,01
Jovellanos	E1	$v(PI+0,5)= 0,53*Grado + 1,4$	0,82	0,67	<0,01
	E2	$v(PI+0,5)= 0,72*Grado + 0,14$	0,80	0,64	<0,01



FI-E1 (Florida, ensayo 1), FI-E2 (Florida, ensayo 2), Gr-E1 (Guaro, ensayo 1), Gr-E2 (Guaro, ensayo 2), Jv-E1 (Jovellanos, ensayo 1), Jv-E2 (Jovellanos, ensayo 2)

Figura 3. Grados de reacción calculados (según modelo lineal) en la evaluación de resistencia al mosaico de 13 cultivares de caña de azúcar, durante los ensayos en las localidades Jovellanos, Florida y Guaro

cultivares controles.

Las diferencias estadísticas observadas entre los cultivares controles en los ensayos de resistencia, proporcionó una alternativa para la revalidación de estos experimentos. El empleo de este criterio y los modelos matemáticos obtenidos mediante regresión lineal permiten el establecimiento de una gradología y categorías de reacción de los cultivares de caña de azúcar frente a SCMV de mayor utilidad que las normas vigentes.

En el país existen condiciones ambientales y los vectores que favorecen el desarrollo del mosaico. Se conoce que las diferentes variantes virales que provocan la enfermedad y sus vectores están presentes en países del área geográfica con los que se mantiene intercambio de germoplasma (Rodríguez *et al.*, 2013). De lo anterior se deriva la importancia de mantener una estricta vigilancia sobre el desarrollo de esta patología; además, fundamenta la introducción de variaciones en el esquema de evaluación de la resistencia a la enfermedad como la presentada en este trabajo.

CONCLUSIONES

1. La comparación de medias del porcentaje de infección entre cultivares controles constituye una alternativa para la revalidación de los ensayos de resistencia al mosaico de la caña de azúcar.
2. La regresión lineal y los modelos matemáticos asociados permiten el establecimiento de categorías de resistencia para los cultivares de caña de azúcar frente a SCMV.
3. La aplicación conjunta de la comparación de medias de la incidencia entre cultivares controles y los métodos lineales de regresión resulta más eficiente que las normas vigentes para la clasificación de la resistencia al mosaico de los cultivares de caña de azúcar.

BIBLIOGRAFÍA

COMSTOCK, J.C. y SOOD, S.G. 2013. Developing Disease Resistance in CP-Cultivars. *J. Am. Soc. Sugar Cane Technol.*, 15: 3 p.

DA SILVA, M.F., CESAR, M., PINTO, L., *et al.* 2015. Evaluation of brazilian sugarcane genotypes for resistance to Sugarcane Mosaic Virus under greenhouse and field conditions. *Crop Protection*, 70: 15-20.

JONES, M.W., BOYD, E.C., REDINBAUGH, M.G. 2011. Responses of maize (*Zea mays* L.) near isogenic lines carrying Wsm1, Wsm2, and Wsm3 to three viruses in the Potyviridae. *Theor. Appl. Genet.*, 123, 729e740.

JORGE, H., JORGE, I., MESA, J.M., BERNAL, N. 2011. Normas y Procedimientos del Programa de Fitomejoramiento de la Caña de Azúcar en Cuba. 2da edición, La Habana, INICA, pp. 147-198. ISSN 1028-6527.

HUTCHINSON, P.B. y DANIELS, J.A. 1971. rating scale for sugarcane characteristics. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.*, 14: 128-131.

KOLOBAEV, V.A., CARVAJAL, O., ALFONSO, F., *et al.* 1983. Breeding sugarcane resistant to multiple disease and pest in Cuba. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.*, 18: 719-727.

MEDEIROS, C.N.F., CESAR, M., HARAKAVA, R., *et al.* 2014. Sugarcane transcript profiling assessed by cDNA-AFLP analysis during the interaction with sugarcane mosaic virus. *Advances in Microbiology*, 4: 511-520.

NAYAK, P., KUMAR, A., PANDIT, E., *et al.* 2018. Application of Statistical Tools for Data Analysis and Interpretation in Rice Plant Pathology. *Rice Science*, 25: 1-19.

PATAKY, J.K., Williams, M.M., Headrick, J.M., *et al.* 2011. Observations from a quarter century of evaluating reactions of sweet corn hybrids in disease nurseries. *Plant Disease*, 95: 1492-1506.

PINTO, L.R., CESAR, M., MANZANO, D., *et al.* 2013. Preliminary investigation of sugarcane mosaic virus resistance and

- marker association in a sugarcane family sample derived from a bi-parental cross. *Proc. Int. Soc. Sugarcane Technol.*, 28: 6 p.
- POSTMAN, J., Volk, G., Aldwinckle, H. 2010. Standardized plant disease evaluations will enhance resistance gene discovery. *Hort Science*, 45: 1317-1320.
- PUCHADES, Y., La O, M., Montalvan, J., *et al.* 2016. Genetic and Symptomatic Characterization of Sugarcane mosaic virus (SCMV) in Cuba. *Sugar Tech*, 18 (2): 184-191.
- PUTRA, L.K., ACHADIAN, A.E., *et al.* 2013. Sugarcane streak mosaic virus in Indonesia: distribution, characterization, yield losses and management approaches. *Sugar Tech*, 16 (4): 392-399.
- RAMESH-SUNDAR, A., ASHWIN, N.M.R., *et al.* 2015. Disease resistance in sugarcane: an overview. *Scientia Agraria Paranaensis*, 14: 200-212.
- RAO, G.P., TRIPHATHI, D.N.P., *et al.* 1996. CoSe-91423 and CoSe-93232, New promising red rot and smut resistant sugarcane varieties for Eastern Uttar Pradesh. *Ind. Sugar J.*, PP: 261-263.
- RODRÍGUEZ, E., PUCHADES, Y., *et al.* 2013. Studies of Sugarcane mosaic virus in Cuba. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.*, 29: 1-4.
- RODRÍGUEZ, M., RODRÍGUEZ, E., *et al.* 2014. Enfermedades y plagas. En: SANTANA I., GONZÁLEZ M., GUILLÉN S., CRESPO R. Instructivo Técnico para el Manejo de la Caña de Azúcar. Grupo Azucarero AZCUBA, INICA, Cuba, 209-256. ISBN: 978-959-300-036-9.
- STRINGER, J., CROFT, B., *et al.* 2013. Analysis of sugarcane disease screening trials over years with a mixed model to improve ratings of varieties. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.*, 28: 1-6.
- THORAT, V.S., PAL, R.K., *et al.* 2015. Detection of Sugarcane Mosaic Virus in diseased sugarcane using ELISA and RT-PCR technique. *J. Pure and Applied Microbiology*, 9: 319-327.
- XIA, Z., PENG, J., Li, Y., *et al.* 2014. Characterization of small interfering RNAs derived from Sugarcane Mosaic Virus in infected Maize plants by deep sequencing. *PLoS ONE*, 9: e97013. doi: 10.1371/journal.pone.0097013.

Recibido el 23 de octubre de 2017 y Aceptado el 29 de septiembre de 2019