

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

**Aplicación de variables cuantitativas en el método de muestreo para evaluar la roya parda de la caña de azúcar**

**Application of quantitative variables in the sampling method to evaluate the sugarcane rust brown**

Joaquín Montalván Delgado, José Rodríguez Zayas, Isabel Alfonso Terry, Eida Rodríguez Lema, Osmany Aday Díaz, Isabel Torres Varela, Yoslén Fernández Gálvez y Nicolas Quintana Bernabe

*Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). Carretera al CAI «Martínez Prieto», km 2½, Rancho Boyeros, La Habana, Cuba, CP 19390*

*E-mail: JMontalvan@eticacm.azcuba.cu*

**RESUMEN**

Para desarrollar un sistema que incremente la precisión en las evaluaciones de resistencia a roya parda en caña de azúcar a través de la utilización del muestreo cuantitativo, se estudiaron seis cultivares de comportamiento diferencial ante la enfermedad (PR980, My5514, Ja60-5, C334-64, C323-68 y B4362). Se utilizó un diseño experimental de bloque al azar con tres réplicas en un fondo provocativo aportado por el cultivar altamente susceptible B4362. Las evaluaciones fueron realizadas a los tres y cinco meses de edad, en los tercios inferior, medio y superior de las hojas +1, +3 y +5 de 10 plantas por réplica. Se analizaron las variables área foliar afectada total de la hoja y en cada tercio. Para determinar el área de la pústula mayor y más frecuente, y el porcentaje de área ocupada por la pústula más frecuente por cada centímetro cuadrado se tomó el largo y ancho de la pústula mayor y más frecuente, así como el total de pústulas en 2 cm<sup>2</sup>. Fueron realizados análisis de varianza y prueba Tukey, así como análisis de intervalos de confianza para determinar el coeficiente a utilizar como constante del ancho de las pústulas, debido a la poca variación de este parámetro. La hoja +3 representó la infección media de la incidencia de la roya parda, por lo que constituyó la más adecuada para realizar las observaciones y dentro de ella el tercio medio. También se obtuvo una ecuación que permite calcular el área ocupada por pústulas con un alto nivel de confianza.

**Palabras clave:** área foliar, *Puccinia melanocephala*, pústulas, *Sacharum* sp.

**ABSTRACT**

To develop a system that increase the precision in the resistance evaluations to sugarcane brown rust disease through the use of the quantitative sampling, six cultivars of differential behavior versus the disease (PR980, My5514, Ja60-5, C334-64, C323-68 and B4362) were studied. A random block experimental design with three replications was used in a heavy

infections conditions obtained from the cultivar highly susceptible B4362. The evaluations were done at three and five months of age, in the three-thirds: bottom, half and top of the +1, +3 and +5 sugarcane plant leaves of 10 plants for replica. The variable total leaf area affected of the leaf and in each third was analyzed. In 2 cm<sup>2</sup> were observed the long and wide of the biggest and more frequent pustule, the total of pustule and the area of the biggest and more frequent pustule, and the area percentage occupied by the most frequent pustule by each cm<sup>2</sup> were determined. Variance analysis and Tukey tests as well as confidence intervals analysis to determine the coefficient to use as constant of the pustule width, due to the little variation of this parameter were realized. The +3 leaf represented the half infection of the incidence of the brown rust, constituting for it the most appropriate to carry out the observations and the half third. An equation was also obtained to calculate the area occupied by pustules with a high level of confidence.

**Keywords:** leaf area, *Puccinia melanocephala*, pustule, *Sacharum* sp.

## INTRODUCCIÓN

La roya parda de la caña de azúcar (*Puccinia melanocephala* Sydow & P. Sydow) causa graves pérdidas en el rendimiento agrícola que oscilan desde un 10 a un 40 % (Comstock *et al.*, 2015), lo que obliga a tomar costosas medidas para su control.

Los factores ambientales de mayor importancia en su incidencia y desarrollo son las temperaturas y la humedad relativa del aire, a edades entre 3 y 6 meses, afectando más la cepa de caña planta (Barrera *et al.*, 2013).

En las escalas de evaluación de la roya parda son utilizados criterios cualitativos fundamentalmente y las que se fundamentan en evaluaciones cuantitativas son bastante disímiles e imprecisas teniendo en cuenta que incluyen síntomas en sus valores que no son de roya y que la vista humana responde a estímulos cuyas intensidades aumentan logarítmicamente. Esto trae como consecuencia que un mismo observador no pueda distinguir 15 o 20 % del área foliar, haciendo inestable esta variable tan utilizada en el mundo; como consecuencia, genotipos resistentes pueden ser evaluados como susceptibles.

Las escalas actuales no hacen distinción de los tipos de lesiones, suponiendo que pudieran asegurar que todo lo evaluado sea causado por la roya, algo bastante difícil basado en la sintomatología de la enfermedad.

Las escalas que miden el área foliar afectada adolecen de dos problemas fundamentales: primero, el área ocupada en las láminas foliares hace prácticamente imposible lograr la precisión de una variable porcentual en tal extensión

(Webber y Fehmer, citados por Zadoks y Schein, 1979) y segundo, el término área foliar afectada incluye todo tipo de lesiones de roya parda o parecidas, lo cual introduce otro factor de error.

El objetivo de este trabajo consistió en proponer un sistema que permita aumentar la precisión en las evaluaciones de la resistencia a la roya parda de la caña de azúcar en Cuba a través de la utilización del muestreo cuantitativo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los estudios se llevaron a efecto sobre los cultivares PR980, My5514, Ja60-5, C334-64, C323-68 y B4362. Estos presentan un comportamiento diferencial ante la roya parda de la caña de azúcar (Jorge *et al.*, 2011).

Se utilizó un diseño experimental de bloque al azar con tres réplicas. Las parcelas contaron de un surco de seis metros de largo. En el diseño se utilizó además un fondo provocativo aportado por el cultivar altamente susceptible B4362, plantando un surco del mismo cada dos cultivares en estudio y bordeando la totalidad del estudio para incrementar y homogenizar la presión de inóculo.

Las evaluaciones a cada variedad se realizaron a las edades de tres y cinco meses, en los tercios inferior, medio y superior de las hojas +1, +3 y +5 de 10 plantas por réplica.

Las variables analizadas fueron área foliar afectada total de la hoja y en cada tercio. En una estación de muestreo de 2 cm<sup>2</sup> se tomaron largo y ancho de la pústula mayor y de la más frecuente, así como la cantidad total de pústulas. Se determinó el área de la pústula mayor y más frecuente, así como el porcentaje de área ocupada

por la pústula más frecuente por cada cm<sup>2</sup>.

Los datos obtenidos se analizaron a través de análisis de varianza y prueba Tukey para detectar las posibles diferencias entre las hojas y tercios lo que contribuyó a definir cuál de ellos nos brindaba la mejor manifestación de la sintomatología; se realizaron análisis de correlación entre los datos obtenidos en las distintas porciones de las hojas y las generales de la planta con la finalidad de definir las mejores correlaciones.

Para establecer el coeficiente de la expresión matemática y determinar el porcentaje de área ocupada por pústulas por cada cm<sup>2</sup> se analizaron mediante intervalos de confianza 1081 valores de ancho de las pústulas, y se obtuvo la constante a utilizar.

Todo el procesamiento estadístico se realizó en el paquete estadístico IBM SPSS statistical 21.

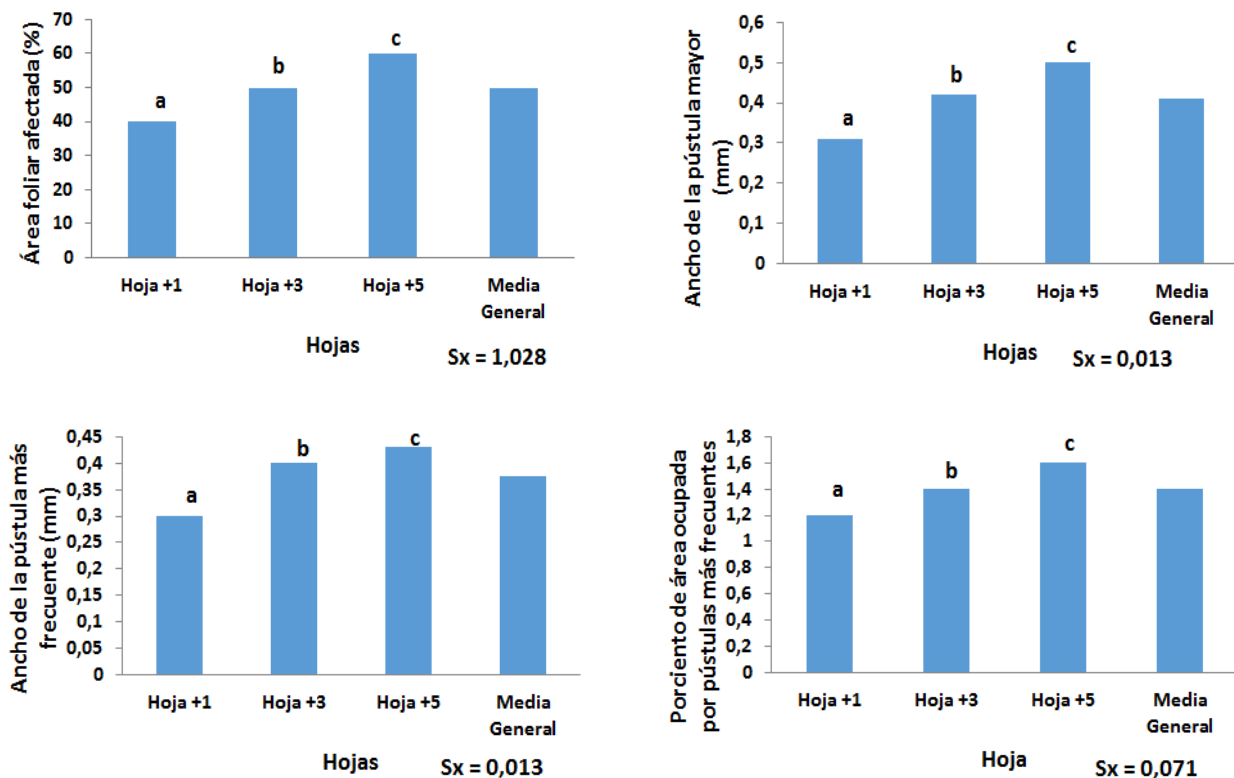
### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza arrojó diferencias significativas para todas las fuentes de variación, así como en las interacciones para todas las

variables analizadas. La manifestación de la enfermedad mostró las mayores afectaciones en la hoja +5, lo que pudo deberse a las reinfecciones ocurridas debido a la edad de la hoja. Esto permite estar mayor tiempo expuesta a la presencia del patógeno. La hoja +3 representó la afectación media de la enfermedad en las plantas, coincidiendo con lo observado por Durán (1986) y Tokeshi (1986). La realización de las evaluaciones de la sintomatología de la roya parda en esta hoja nos brinda la mejor información sin correr el riesgo de sobreestimar o subestimar la reacción de los cultivares ante la enfermedad.

Los resultados relacionados con el área foliar afectada, el ancho de la pústula mayor y la más frecuente, así como el porcentaje de área ocupada por pústulas se muestra en la Figura 1.

La hoja de la planta donde debían realizarse las evaluaciones de roya parda ha sido un aspecto controvertido; así, algunos investigadores consideran apropiada la hoja +1 (TVD) (Purdy y Dean, (1983) o la hoja 0 (Sordi *et al.*, 1988; Arizono y Matzuoka, 1988), mientras la mayoría



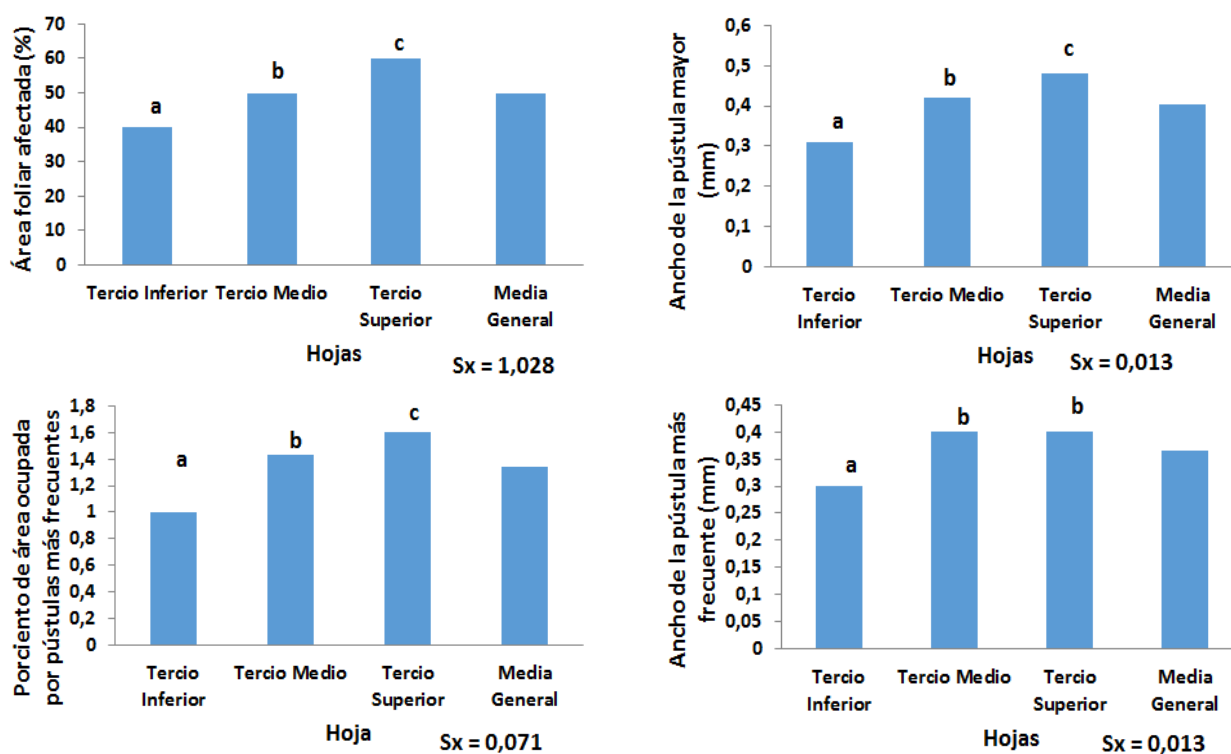
**Figura 1.** Comportamiento de las variables área foliar afectada, ancho de la pústula mayor y más frecuente y porcentaje de área ocupada por la pústula más frecuente en las hojas +1, +3 y +5

Letras desiguales difieren significativamente p<0,01

tienen en cuenta todas las hojas (Xavier *et al.*, 2010). Por su parte, Ángel *et al.*, 2010, Almeida *et al.*, 2015 y Chapola *et al.*, 2015 utilizaron la hoja +3 para evaluar la reacción de los cultivares frente

a la roya parda, todos con buenos resultados.

Al analizar similares variables en los tres tercios de la hoja se constató que el tercio medio brindó los mejores valores, los cuales están en correspondencia



**Figura 2.** Comportamiento de las variables área foliar afectada, ancho de la pústula mayor y más frecuente y porcentaje de área ocupada por la pústula más frecuente en los distintos tercios de hojas que se evaluaron  
Letras desiguales difieren significativamente  $p \leq 0,01$

con la afectación media de la hoja (Figura 2).

Un aspecto importante a tener en consideración son las interacciones que se manifiestan entre los distintos factores de variación, lo que es fundamental al analizar la interacción hoja x tercio. Como se refleja en la Figura 3, la mejor representación de los síntomas de la enfermedad se manifiesta en el tercio medio de la hoja +3, porción de la hoja que nos permite dirigir el muestreo hacia la presencia del signo típico de la enfermedad (pústulas), disminuir el área a muestrear y eludir el error introducido por el observador en las evaluaciones cualitativas.

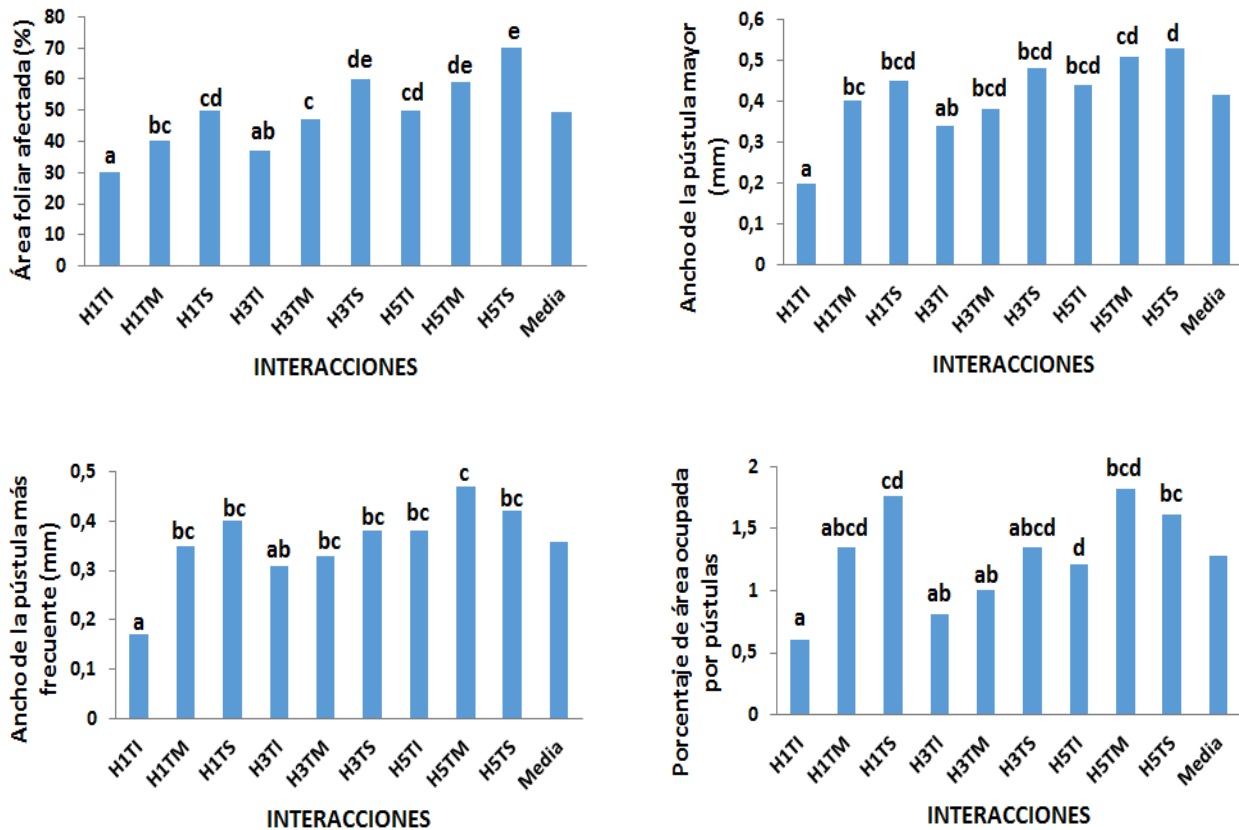
Con la finalidad de comprobar si existía correspondencia entre las variables cuantitativas que se tomaron en los 2 cm<sup>2</sup> evaluados en el tercio medio, con las afectaciones que se mostraron en toda la hoja, se realizaron análisis de correlación entre los mismos. Los resultados de este análisis

mostraron coeficientes altamente significativos ( $p \leq 0,01$ ) para las evaluaciones realizadas en el tercio medio y las que se consideraron en todas las láminas foliares de la planta (Figura 4).

Puede apreciarse que los coeficientes están por encima de 0,85, los que resultan altamente significativos y permiten estimar la posibilidad de realizar los muestreos de las lesiones por cm<sup>2</sup>.

Con estos resultados se demuestra que que los muestreos son útiles, ya que mantienen una alta asociación con la evaluación en toda la hoja y además, por ser cuantitativos, contribuyen a aumentar la precisión al disminuir el espacio de observación a 2 cm<sup>2</sup> por hoja. El muestreo resuelve uno de los problemas de las escalas porcentuales motivado por el fenómeno visual que enunciaran en su Ley Webber y Fechner, citados por Zadoks y Schein (1979).

Según criterios aportados por Sordi *et al.*,



**Figura 3.** Comportamiento de las variables área foliar afectada, ancho de la pústula mayor y más frecuente y porcentaje de área ocupada por la pústula más frecuente en las distintas interacciones

Letras desiguales difieren significativamente  $p \leq 0,01$

Leyenda: H1, Hoja +1; H3, Hoja +3; H5, Hoja +5; TI, Tercio inferior; TM, Tercio medio; TS, Tercio Superior

1988 y Alfonso *et al.*, 2011, la introducción de otras variables cuantitativas es otro elemento importante que merece atención.

Para definir una ecuación matemática que nos permitiera calcular, a partir del número y largo de las pústulas, el área ocupada por éstas en  $cm^2$ , se estableció una constante para el ancho de las mismas, teniendo en cuenta la poca variabilidad que presentan en este carácter, siendo más variable el largo y el número.

Al establecer este coeficiente se realizó un análisis de intervalos de confianza para cada porción de hoja que se evaluó, de igual manera se le realizó a la planta en sentido general. Esto permitió definir, con un alto grado de confiabilidad (95 %), la constante a utilizar.

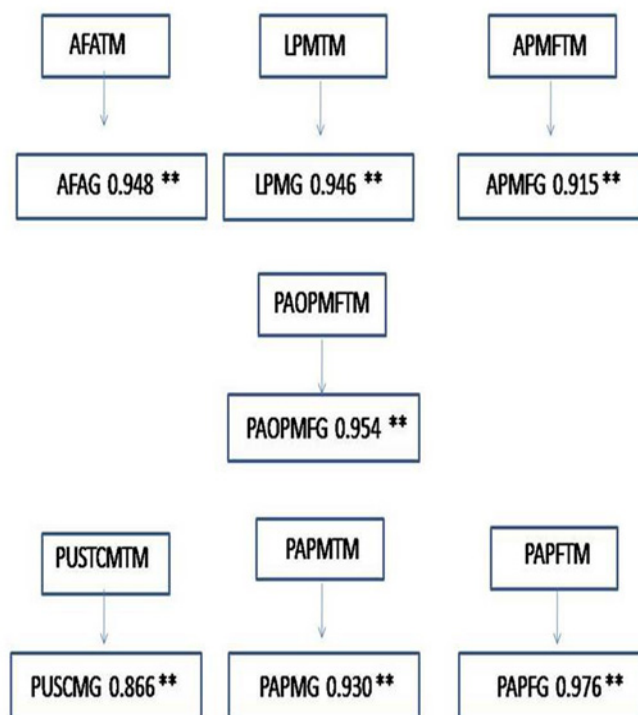
En la Tabla se muestran los intervalos de confianza para cada sección de la hoja que fue evaluada.

Estos valores sugieren la posibilidad de tomar

como constante un valor medio de los intervalos, el cual puede fijarse en 0,38. Este valor se encuentra en el rango comprendido entre los límites inferior y superior de cada intervalo y representa la media general de los intervalos.

Con estos resultados las variables involucradas hacen más precisa la evaluación al no incluir síntomas de otras enfermedades que, en sus estadios iniciales, se confunden con los de la roya parda, mientras el muestreo cuantitativo evita los errores de la vista humana al evaluar grandes áreas. El tiempo es significativamente menor que al evaluar el área foliar afectada, excluyendo el conteo en cultivares resistentes.

Estos resultados permiten realizar evaluaciones en el tercio medio de la hoja +3 con una lupa preparada (2 cm x 1cm). La muestra se toma dirigida a las poblaciones de pústulas, registrando el número de ellas en  $2 cm^2$  y la longitud de la más frecuente, en 10 plantas por cada una de las



- AFATM: Área foliar afectada en el tercio medio
- AFAG: Área foliar afectada en toda la hoja
- LPMTM: Largo de la pústula mayor en el tercio medio
- LPMG: Largo de la pústula mayor en toda la hoja
- APMFTM: Ancho de la pústula más frecuente en el tercio medio
- APMFG: Ancho de la pústula más frecuente en la hoja
- PAOPMFTM: Porcentaje de área ocupada por pústulas en el tercio medio
- PAOPPMFG: Porcentaje de área ocupada pústulas en toda la hoja
- PUSTCMTM: Pústula por cm<sup>2</sup> en el tercio medio
- PUSTCMG: Pústula por cm<sup>2</sup> en toda la hoja
- PAPMTM: Área de la pústula mayor en el tercio medio
- PAPMG: Área de la pústula mayor en toda la hoja
- PAPFTM: Área de la pústula más frecuente en el tercio medio
- PAPFG: Área de la pústula mayor en toda la hoja

**Figura 4.** Coeficientes de correlación de Pearson entre, el tercio medio de la hoja y las afectaciones de la planta en general

réplicas. Estas variables representan la reacción del cultivar y la severidad de la enfermedad, por lo que pueden integrarse en otra (Ecuación):

$$P = \frac{CPUST * LPUST * 0,38}{2} \quad (1)$$

donde,

- % de pústulas/cm<sup>2</sup> = área de pústulas de 1mm<sup>2</sup>/cm<sup>2</sup>
- LPUST = longitud media de la pústula más frecuente

en mm

- CPUST = número medio de pústulas en 2cm<sup>2</sup>
- 0,38 = diámetro medio de las pústulas en mm

### CONCLUSIONES

1. La hoja +3 representó la infección media de la incidencia de la roya parda, constituyendo por ello la más adecuada para realizar las observaciones al respecto.
2. El tercio medio mantuvo asociaciones



**Tabla.** Intervalos de confianza para el ancho de la pústula en cada sección de la planta (95 % de Confianza)

Interacción	Intervalo de confianza		Media	Error típico
	Límite inferior	Límite superior		
General	0,37	0,40	0,39	0,010
G-TS	0,39	0,45	0,42	0,015
G-TM	0,38	0,45	0,42	0,018
G-TI	0,28	0,35	0,32	0,017
G-H1-TS	0,36	0,47	0,42	0,028
G-H1-TM	0,30	0,42	0,36	0,032
G-H1-TI	0,12	0,24	0,18	0,030
G-H3-TS	0,36	0,45	0,41	0,022
G-H3-TM	0,35	0,44	0,39	0,022
G-H3-TI	0,32	0,43	0,37	0,046
G-H5-TS	0,38	0,49	0,44	0,028
G-H5-TM	0,43	0,57	0,50	0,035
G-H5-TI	0,34	0,46	0,40	0,030
E1	0,36	0,41	0,39	0,014
E1-TS	0,37	0,46	0,41	0,023
E1-TM	0,36	0,45	0,40	0,025
E1-TI	0,29	0,39	0,34	0,026
E2	0,36	0,41	0,39	0,013
E2-TS	0,39	0,47	0,43	0,02
E2-TM	0,38	0,48	0,43	0,025
E2-TI	0,25	0,34	0,30	0,023
E1-H1-TS	0,32	0,48	0,40	0,039
E1-H1-TM	0,26	0,43	0,34	0,043
E1-H1-TI	0,09	0,25	0,17	0,039
E1-H3-TS	0,29	0,42	0,36	0,031
E1-H3-TM	0,30	0,43	0,37	0,032
E1-H3-TI	0,29	0,45	0,37	0,039
E1-H5-TS	0,39	0,57	0,48	0,045
E1-H5-TM	0,41	0,60	0,51	0,049
E1-H5-TI	0,38	0,58	0,48	0,049
E2-H1-TS	0,35	0,51	0,43	0,041
E2-H1-TM	0,28	0,47	0,38	0,048
E2-H1-TI	0,09	0,28	0,19	0,047
E2-H3-TS	0,40	0,52	0,46	0,03
E2-H3-TM	0,36	0,48	0,42	0,029
E2-H3-TI	0,31	0,45	0,38	0,034
E2-H5-TS	0,32	0,46	0,39	0,034
E2-H5-TM	0,39	0,59	0,49	0,049
E2-H5-TI	0,26	0,39	0,32	0,033
X	0,32	0,44	0,38	

**Leyenda**

G: Toda la planta, TS: Tercio superior, TM: Tercio medio, TI: Tercio inferior, H1: Hoja +1, H3: Hoja +3, H5: Hoja +5, E1: Evaluación 1, E2: Evaluación 2, X: Media

significativas con la afectación foliar total, lo que posibilita, mediante muestreo en ese sitio, aumentar la precisión de la evaluación al disminuir el área de observación. El elemento cuantitativo que introduce también contribuye a aumentar la calidad de aquella.

3. Se obtuvo una ecuación que permite realizar el cálculo del área ocupada por pústulas/cm<sup>2</sup> con un alto nivel de confianza.

## BIBLIOGRAFÍA

- ALFONSO, I., J. DELGADO, Y. RUFIN, O. ADAY, J. MONTALVÁN, M. TAMAYO [*et al.*]. Tamaño de la pústula mayor, una variable categórica para evaluar la roya parda en caña de azúcar. Seminario Internacional de Sanidad Agropecuaria (SISA 2011). Palacio de las Convenciones de La Habana 3 – 6 mayo, pp. 278-279, 2011.
- ALMEIDA, T.W., M. CRISTINA, G. Da SILVA, C. de OLIVERA, F. SATTI, L. PLINIO [*et al.*]. Evaluation of sugarcane families for resistance to Brown rust disease using generalized linear mixed model. In: XI Pathology and IX Entomology Workshops. Enhancing innovative pest and disease management strategies in the sugarcane agro system. September, Guayaquil, Ecuador. p. 8, 2015.
- ÁNGEL, J.C., A. GUTIÉRREZ, J. LÓPEZ, M. GUZMÁN, L. CARDONA, J. VICTORIA. Monitoring the severity and variability of brown rust (*Puccinia melanocephala*) in sugarcane varieties in the Cauca Valley, Colombia. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.*, Vol 27: 5-16, 2010.
- BARRERA, W., J. HOY, B. LI. Effects of temperature and moisture variables on brown rust epidemic in sugarcane. *Journal of Phytopathology*, 161 (2): 96 – 106, 2013.
- COMSTOCK, J.C., S. SOOD, D. ZHAO, M. KANAAN, P. ROTT, R. RAID. Presence of BRU1 brown rust resistance in the CP sugarcane development programs. In: XI Pathology and IX Entomology Workshops. Enhancing innovative pest and disease management strategies in the sugarcane agrosystem. September, Guayaquil, Ecuador, p. 7, 2015.
- CHAPOLA, R., D. CURSI, A. FERNÁNDEZ y H. HOFFMANN. Reaction of sugarcane genotypes to orange rust and to brown rust. In: XI Pathology and IX Entomology Workshops. Enhancing innovative pest and disease management strategies in the sugarcane agrosystem. September, Guayaquil, Ecuador, p. 36, 2015.
- DURÁN, J.R. Informe de la República de Costa Rica a la Mesa Redonda Latinoamericana sobre enfermedades de la Caña de azúcar. FAO- ATAC- MINAZ, Ciudad de la Habana, Cuba. 1986.
- JORGE, H., R. GONZÁLEZ, M. CASAS, I. JORGE. Normas y Procedimientos del Programa de Mejoramiento Genético de la Caña de Azúcar en Cuba. PUBLINICA, La Habana, Cuba. 2011, 308 p.
- PURDY, L. H. y J. L. DEAN. A system for recording data on the sugarcane rust- host interactions. *Sugarcane Pathologist's Newsletter*, 27: 35-40, 1983.
- SORDI, R.A., H. ARIZONO, S. MATSUOKA. Indicadores de heredabilidade e avaliação de resistência de clones RB à ferrugem da cana-de-açúcar. *Brasil Açucareiro*, 106 (2): 18-23, 1988.
- TOKESHI, H. Informe de la República de Brasil a la Mesa Redonda Latinoamericana sobre enfermedades de la Caña de azúcar. FAO- ATAC- MINAZ, Ciudad de la Habana, Cuba. 1986.
- XAVIER, M.A., D. PERECIN, M.G.A. LANDELL, P. FIGUEIREDO, L.R. PINTO, S. CRESRE, [*et al.*]. Evaluation of brown rust resistance (*Puccinia melanocephala*) in sugarcane progenies. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.*, v. 27: 5 p., 2010.
- ZADOKS, J.C. and R.D. SCHEIN. Epidemiology and Plant Disease Management. Oxford Univ. Press, New York, EE.UU. 1979, 427 p.