

## INFORME FINAL DE PROYECTO

Proyecto: *139215 Desarrollo de marcadores para los ensayos de resistencia a enfermedades de la caña de azúcar*



## 1. Información básica del proyecto

**Número y título del proyecto:** INT/21/K16\_MARCADORES

**Organismo de implementación e institución donde se ubica el proyecto:** INICA, AZCUBA

**Otras partes responsables:** (si los hay):

### Fecha de inicio

**Prevista originalmente:** marzo 2021

**Real:** marzo 2021

### Fecha de término

**Prevista originalmente:** marzo 2023

**Prevista a la fecha:** marzo 2023

**Período del informe:** marzo 2021-marzo 2023

## 2. Implementación del proyecto

### **Riesgos del Proyecto:**

Describir los principales riesgos que estuvieron presentes en la vida del proyecto, así como las acciones adoptadas.

<u>Riesgo identificado</u>	<u>Acción</u>
1. <u>Regulaciones y procedimiento aprobatorios del PNUD – Fondos Pérez Guerrero pueden retardar la ejecución del Programa de trabajo previsto</u>	1. <u>Prever plan de acciones y comprobación de los procedimientos, normativas corporativas y regulaciones de PNUD.</u>
2. <u>Eventos meteorológicos que provoquen daños en los experimentos e infraestructuras</u>	2. <u>Anticipar la programación de actividades que coincidan con fechas de alta probabilidad de desastres naturales, con énfasis en ciclones, y fuertes lluvias.</u>
3. <u>Impacto de situaciones de desastre sanitario sobre el personal vinculado a las actividades del proyecto</u>	3. <u>Cumplir plan de acciones higiénico-sanitarias para el enfrentamiento a la covid-19 y otras enfermedades infecciosas.</u>

### Problemas de implementación:

Describir los principales obstáculos experimentados durante la implementación del proyecto. Incluir las estrategias o acciones ya ejecutadas para enfrentar estas dificultades.

<u>Obstáculo identificado</u>	<u>Acción</u>
1. <u>Regulaciones sanitarias impuestas por la pandemia de la covid-19</u>	1. <u>Prever comprobación de los procedimientos y regulaciones establecidas por los países participantes en el marco de la covid-19.</u>
2. _____	2. _____
_____	_____

### 3. Desempeño del Proyecto

#### Resultados esperados en el Plan Estratégico corporativo del PNUD (2018-2021)

Crecimiento y desarrollo sostenible e inclusivo

#### Indicador de resultado del Plan Estratégico corporativo del PNUD (2018-2021)

Aumento de las capacidades de las instituciones participantes para gestionar los riesgos de origen fitosanitario en las plantaciones de caña de azúcar por los patógenos *X. albilineans* y *Sugarcane Mosaic Virus*

#### Meta anual (año): Plan Estratégico corporativo del PNUD (2018-2021)

Mayor capacidad de los países participantes para gestionar unos sistemas alimentarios y nutricionales inclusivos, integrales y adaptables (Fomento de la resiliencia).

#### Cumplimiento de meta:

Metodología efectiva para la evaluación de resistencia a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar.

#### Grado de avance en la contribución al resultado corporativo:

- Cambio Positivo X
- Cambio Negativo
- Sin cambios

#### Resultados esperados en el Programa de País (CPD) 2020-2024

Crear resiliencia ante perturbaciones y crisis

#### Indicador de resultado del Programa de País (CPD) 2020-2024

Sector estratégico agro-azucarero que fortalece sus capacidades productivas y la formación técnica, para gestionar los riesgos de origen fitosanitario en las plantaciones de caña de azúcar.

<p><b>Meta anual (año): Programa de País (CPD) 2020-2024</b>          Metodologías y herramientas para la gestión sostenible de recursos naturales y los ecosistemas, y la mejora de la calidad ambiental</p> <p><b>Cumplimiento de meta:</b>          Elaborada una metodología efectiva para la evaluación de resistencia a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar</p> <p><b>Grado de avance en la contribución al resultado del Programa de País (CPD) 2020-2024</b></p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Cambio Positivo X  <input type="checkbox"/> Cambio Negativo  <input type="checkbox"/> Sin cambios</p>
--

<p><b>Resultado (Producto) Previsto en el Proyecto</b></p> <p>1. Determinada la resistencia de cultivares de caña de azúcar a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico</p>	<p><b>Descripción del Indicador:</b>          Número de cultivares caracterizados</p> <p><b>Meta pactada:</b>          Cuatro (4)</p> <p><b>Meta alcanzada:</b>          Ocho (8)</p> <p><b>Grado de avance a la fecha:</b></p> <p><input type="checkbox"/> No (no alcanzado)  <input type="checkbox"/> Parcialmente  <input checked="" type="checkbox"/> <u>Si (alcanzado completamente) X</u></p> <p><i>(Fundamentar la apreciación anterior incluyendo una síntesis descriptiva de los avances en la consecución del resultado, así como de las eventuales dificultades u obstáculos para alcanzarlos en el período de referencia y las acciones tomadas)</i></p> <p><u>No se observaron síntomas visibles de la infección por <i>X. albilineans</i> en los cultivares evaluados, sin embargo, se detectaron diferencias significativas en las variables longitud y diámetro del tallo con menores valores en los cultivares susceptibles, que pudiera indicar afectaciones por la bacteria.</u></p> <p><u>Los cultivares evaluados frente a <i>SCMV</i> se diferenciaron por su nivel de susceptibilidad esperada y, además, se detectaron diferencias significativas en las variables longitud y diámetro del tallo con menores valores en los cultivares susceptibles, como indicadores de la infección viral.</u></p> <p><b>Actividades desarrolladas:</b> <i>(Descripción en base del producto esperado, categoría de actividades y fecha de inicio y finalización)</i></p> <p>1.1 Montaje de ensayos de inoculación mecánica a escaldadura foliar y mosaico</p>
---	--

	<p>de la caña de azúcar en cultivares controles (marzo 2021-mayo 2021 y mayo 2021-julio 2021).</p> <p>1.2 <u>Evaluación de la resistencia a escaldadura foliar y mosaico (mayo 2021-septiembre 2021)</u></p> <p>1.3 <u>Análisis estadístico de los resultados y elaboración de informe (octubre 2021-diciembre 2021).</u></p>
	<p><b>Recomendaciones y acciones propuestas por el Oficial de Programa – PNUD:</b></p> <p>_____</p>

<p><b>Resultado (Producto) Previsto en el Proyecto</b></p> <p>2. Caracterizados histológica y molecularmente los patosistemas caña de azúcar-<i>Xanthomonas albilineans</i> y caña de azúcar-<i>Sugarcane Mosaic Virus</i>.</p>	<p><b>Descripción del Indicador:</b> Número de patosistemas caracterizados</p> <p><b>Meta pactada:</b> Dos (2)</p> <p><b>Meta alcanzada:</b> Dos (2)</p> <p><b>Grado de avance a la fecha:</b></p> <p><input type="checkbox"/> No (no alcanzado)  <input type="checkbox"/> Parcialmente  <input checked="" type="checkbox"/> Si (alcanzado completamente) X</p> <p><i>(Fundamentar la apreciación anterior incluyendo una síntesis descriptiva de los avances en la consecución del resultado, así como de las eventuales dificultades u obstáculos para alcanzarlos en el período de referencia y las acciones tomadas)</i></p> <p><u>La determinación histoquímica de radicales superóxido, mediante tinción con NBT, en ambos patosistemas, permitió diferenciar los cultivares resistentes y susceptibles por mayor acumulación de especies reactivas del oxígeno en los primeros que funcionan como alerta de la infección e inducción de respuesta de defensa temprana.</u></p> <p><u>El ensayo serológico, mediante SUMA, permitió verificar la efectividad del procedimiento de inoculación y la infección de los cultivares inoculados con <i>X. albilineans</i> durante todo el tiempo del ensayo, lo que indica que, a pesar de no detectar síntomas de la infección, el agente causal está presente en los tejidos ocasionando una infección latente.</u></p> <p><u>El ensayo molecular mediante RT-PCR permitió verificar la efectividad del procedimiento de inoculación con <i>SCMV</i> y la infección de los cultivares susceptibles a los 30 dpi.</u></p> <p><b>Actividades desarrolladas:</b> <i>(Descripción en base del producto esperado, categoría de actividades y fecha de inicio y finalización)</i></p> <p>2.1 Plantar un ensayo en condiciones controladas en áreas experimentales</p>
---	---

	<p>(marzo 2021-julio 2021)</p> <p>2.2 <u>Toma de muestras de tejidos foliares para estudios histológicos y moleculares (mayo 2021-julio 2021)</u></p> <p>2.3 <u>Evaluados los cambios histológicos y moleculares que se producen en las plantas (abril 2022-diciembre 2022)</u></p>
	<p><b>Recomendaciones y acciones propuestas por el Oficial de Programa – PNUD:</b></p> <p>_____</p>

<p><b>Resultado (Producto) Previsto en el Proyecto</b></p> <p><b>3.</b> Seleccionados los marcadores histológicos y moleculares que complementan la evaluación de la resistencia a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar.</p>	<p><b>Descripción del Indicador:</b> Número de marcadores utilizados.</p> <p><b>Meta pactada:</b> Dos (2)</p> <p><b>Meta alcanzada:</b> Dos (2)</p> <p><b>Grado de avance a la fecha:</b></p> <p><input type="checkbox"/> No (no alcanzado)</p> <p><input type="checkbox"/> Parcialmente</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> <u>Si (alcanzado completamente) X</u></p> <p><i>(Fundamentar la apreciación anterior incluyendo una síntesis descriptiva de los avances en la consecución del resultado, así como de las eventuales dificultades u obstáculos para alcanzarlos en el período de referencia y las acciones tomadas)</i></p> <p><u>En los estudios histoquímicos de los cultivares inoculados con X. albilineans se detectó un engrosamiento en las paredes de la epidermis de los cultivares resistentes y presencia de las bacterias en los cultivares susceptibles.</u></p> <p><u>En las secciones de hojas de los cultivares inoculados con SCMV pudo detectarse depósitos de almidón en los cultivares con síntomas de la enfermedad, lo que constituye un marcador de la infección.</u></p> <p><u>En los estudios moleculares de los cultivares inoculados con X. albilineans se diferenciaron los cultivares resistentes y susceptibles con el uso del marcador TRAP asociado al gen de la sacarosa sintasa (Susy) y los oligos Arb1 y Arb2, lo que indica su utilidad como marcador de resistencia a escaldadura foliar.</u></p> <p><u>En los cultivares inoculados con SCMV los cultivares resistentes y susceptibles se agruparon por expresión diferencial de los genes Sa2-23 y Sa2-17, que poder ser de utilidad para la caracterización de otros cultivares por su resistencia al virus.</u></p>
--	--

	<p><b>Actividades desarrolladas:</b> <i>(Descripción en base del producto esperado, categoría de actividades y fecha de inicio y finalización)</i></p> <p>3.1 <u>Asociación entre la respuesta de resistencia de cultivares controles a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar y marcadores histoquímicos y moleculares (abril 2022-diciembre 2022)</u></p> <p>3.2 <u>Análisis estadístico de los resultados (abril 2022-diciembre 2022)</u></p>
	<p><b>Recomendaciones y acciones propuestas por el Oficial de Programa – PNUD:</b></p> <p>_____</p>

<p><b>Resultado (Producto) Previsto en el Proyecto</b></p> <p>4. Capacitados especialistas y socializados los resultados del proyecto en diferentes sectores científicos y productivos</p>	<p><b>Descripción del Indicador:</b> Número de actores y productores capacitados</p> <p><b>Meta pactada:</b> 25</p> <p><b>Meta alcanzada:</b> 25</p> <p><b>Grado de avance a la fecha:</b></p> <p><input type="checkbox"/> No (no alcanzado)</p> <p><input type="checkbox"/> Parcialmente</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> <u>Si (alcanzado completamente) X</u></p> <p><i>(Fundamentar la apreciación anterior incluyendo una síntesis descriptiva de los avances en la consecución del resultado, así como de las eventuales dificultades u obstáculos para alcanzarlos en el período de referencia y las acciones tomadas)</i></p> <p><u>Se socializaron resultados parciales del proyecto en conferencia impartida en la Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina con 13 participantes.</u></p> <p><u>Se participó en dos eventos internacionales organizados en Cuba (XVI Congreso Diversificación 2022 y XXII Congreso Científico Internacional INCA)</u></p> <p><u>Se realizó un Taller Nacional con 12 participantes par la socialización de todos los resultados finales del proyecto, así como la participación en otros eventos y publicar los resultados.</u></p>
	<p><b>Actividades desarrolladas:</b> <i>(Descripción en base del producto esperado, categoría de actividades y fecha de inicio y finalización)</i></p> <p>4.1 <u>Talleres, charlas, plegables y días de campo con los actores involucrados y productores (abril 2022, octubre 2022)</u></p> <p>4.2 <u>Presentación de resultados en eventos y publicaciones científicos (junio 2022, noviembre 2022)</u></p>

	4.3 <u>Taller de Integración de resultados (marzo 2023)</u>
	<b>Recomendaciones y acciones propuestas por el Oficial de Programa – PNUD:</b> _____

*\* De ser necesario incorporar nuevas tablas según el número de resultados previstos en el proyecto*

#### 4. Información financiera preliminar

*(Esta información se considera preliminar hasta la emisión de los CDR final, que ofrecerá la información financiera oficial del cierre del proyecto)*

<b>Fuente de Fondos</b>	PGTF
<b>Presupuesto Total</b>	22,000
<b>Total ejecutado</b>	21636.39
<b>Presupuesto (año)</b>	3763.60
<b>Ejecución (año)</b>	3400.00

#### 5. Oportunidades para difundir información

*(Las oportunidades para difundir información se refieren a: materiales divulgativos en general, como (libros, artículos, plegables, afiches, almanaques, artículos de prensa, publicaciones, documentos de sistematización de experiencias, sitios web, programas de radio/TV, exposiciones, etc.*

Describir brevemente las principales acciones para la difusión de información realizadas durante la vida del proyecto:

1. XVI Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados, Diversificación 2022 (2022-06-20 - 2022-06-24). Mesa Redonda: Manejo Integrado de Plagas en Caña de Azúcar. Yaquelin Puchades, Mérida Rodríguez, Joaquín Montalván, Osmany Aday, Mercedes Delgado, Angel Solís, José Pérez-Milian, Eida Rodríguez.
2. Conferencia "Diagnóstico y evaluación de plagas en cultivos agrícolas". Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina
3. XXII Congreso Científico Internacional Instituto de Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). 15 al 18 de noviembre de 2022. Exposición: Revisión de los procedimientos para la clasificación de cultivares de caña de azúcar por su resistencia a enfermedades. Yaquelin Puchades, Mérida Rodríguez, Joaquín Montalván, Osmany Aday, Mercedes Delgado, Angel Solís, José Pérez-Milian, Eida Rodríguez.

## 6. Principales lecciones aprendidas durante la vida del proyecto.

*(Las lecciones aprendidas se refieren a aquellos aprendizajes, positivos y negativos, basados en la experiencia, relativos a formas de resolver problemas y/o maneras de llevar adelante actividades que puedan servir a otros actores en procesos similares. Las lecciones aprendidas del IFP podrán servir como insumo para las evaluaciones de proyecto, así como para compartir con los demás proyectos que se implementan en conjunto con el Gobierno.)*

Describir brevemente las principales lecciones aprendidas durante la vida del proyecto:

1. Los procedimientos de inoculación de *X. albilineans* y *SCMV*, por punción y frotación de la hoja +1 respectivamente son efectivos para los estudios de resistencia a estas enfermedades en caña de azúcar.
2. En los cultivares susceptibles, a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar, presentan una disminución de la longitud y diámetro del tallo, que está relacionada con la infección por los patógenos.
3. En los cultivares resistentes, a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar, presentan una rápida activación de las especies reactivas del oxígeno que aseguran la defensa temprana contra los agentes nocivos.
4. Los cultivares resistentes a la escaldadura foliar pueden caracterizarse utilizando el marcador TRAP asociado al gen de la sacarosa sintasa y los oligos Arb1 y Arb2.
5. Los cultivares resistentes al mosaico de la caña de azúcar pueden caracterizarse mediante la tinción histoquímica con lugol por la ausencia de depósitos de almidón en las células del clorénquima.
6. Se precisan acciones para la formación de capacidades en los actores involucrados en el proyecto para la implementación exitosa del uso de los marcadores identificados en la caracterización de nuevos cultivares de caña de azúcar.

## 7. Breve descripción de las alianzas establecidas durante la vida del proyecto.

*(Se refiere a Relaciones con socios externos, acciones de cooperación Sur Sur, inter-relación con actores nacionales, etc)*

Describir brevemente las principales alianzas establecidas durante la vida del proyecto:

1. Intensión de Colaboración Interinstitucional entre el Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar y la Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad de Concepción, Chile
2. Extensión del Convenio de Colaboración Interinstitucional entre el Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar y la Universidad Nacional de Tucumán, Argentina
3. Firma del Convenio de Colaboración Interinstitucional entre el Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar y la Universidad Nacional de Catamarca, Argentina

## 8. Líneas de trabajo para la sostenibilidad futura de los resultados

*(Describir las estrategias, acciones y soluciones previstas para facilitar la sostenibilidad de los resultados, utilizar las lecciones aprendidas, capitalizar los resultados obtenidos y optimizar las alianzas establecidas)*

1. Implementar en las Normas y Procedimientos del Programa de mejoramiento Genético de la Caña de Azúcar en Cuba las metodologías de inoculación para *X. albilineans* y *SCMV*.
2. Establecer el uso de los marcadores de resistencia TRAP Susy/Arb<sub>1</sub>/Arb<sub>2</sub> y detección de almidón para las enfermedades escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar en la red de laboratorios de diagnóstico del INICA
3. Fortalecer las capacidades de jóvenes profesionales del sector agroazucarero y estudiantes de carreras afines a la agricultura y la biología, en relación a las técnicas empleadas en el proyecto.

### Preparado por

Dra C Yaquelin Puchades Izaguirre  
Nombre



\_\_\_\_\_  
Firma

Directora del Proyecto INT/21/K16\_MARCADORES  
Cargo

20/03/2023

\_\_\_\_\_  
Fecha

INICA, AZCUBA  
Organización

## INFORME TÉCNICO DE PROYECTO

Proyecto: 139215 *Desarrollo de marcadores para los ensayos de resistencia a enfermedades de la caña de azúcar*



**Organismo Responsable:** Grupo Empresarial AZCUBA.  
(República de Cuba)

**Entidad Ejecutora:** Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar

**Contraparte Técnica:**

**Contraparte Extranjera:**

Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo: FCN que integran la Universidad Nacional de Tucumán, Argentina

Universidad Católica del Maule y Universidad de Concepción, Chile

## **INDICE**

<b>I – CARACTERIZACIÓN DEL PROYECTO</b>	<b>1</b>
<b>II – INFORME TÉCNICO</b>	<b>2</b>
<b>III – INFORME ADMINISTRATIVO CONTABLE</b>	<b>20</b>

## I – CARACTERIZACIÓN DEL PROYECTO.

### Líneas de Acción.

Desarrollo humano sostenible con el apoyo a procesos dinamizadores e innovadores de la economía potenciando el desarrollo de sectores clave y el estímulo al comercio exterior. Los cambios fundamentales que ejercerán los resultados de este proyecto están dados en:

- ✓ Se dispondrá de metodologías estandarizadas y recursos humanos capacitados para la aplicación de marcadores moleculares e histoquímicos durante la evaluación de la resistencia a enfermedades de la caña de azúcar
- ✓ Se caracterizarán histológica y molecularmente los patosistemas caña de azúcar-*Xanthomonas albilineans* y caña de azúcar-*Sugarcane Mosaic Virus*
- ✓ Se dispondrá de cultivares controles de resistencia caracterizados para complementar la evaluación de la resistencia a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar.

### Entidad local cubana responsable.

**Nombre y Dirección:** Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA), Carretera CUJAE Km. 1½, Boyeros, La Habana, Cuba, Teléfonos: (537) 260 2571, (537) 262 4436-37, E-mail: inica@inica.azcuba.cu, www.inica.azcuba.cu

**Nombre del responsable y sus funciones:** Dra. Yaquelin Puchades Izaguirre

### Objetivo General.

Desarrollar marcadores moleculares e histoquímicos para los ensayos de resistencia a enfermedades de la caña de azúcar

### Objetivo Específico

Caracterizar histológica y molecularmente los patosistemas caña de azúcar-*Xanthomonas albilineans* y caña de azúcar-*Sugarcane Mosaic Virus*

Disponer de cultivares controles de resistencia caracterizados para complementar la evaluación de la resistencia a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar

### Presupuesto inicial

22 000.00 USD

**Moneda Nacional:** 1 147 118.0 CUP que serán aportados por \_el INICA\_

### Temporalización.

**Fecha de inicio de proyecto:** 2021

**Fecha de finalización de proyecto:** 2023

## II – INFORME TÉCNICO

### Estado de avance del proyecto (parte cualitativa)

#### Principales acciones realizadas durante el desarrollo del proyecto

**Resultado 1** Determinada la resistencia de cultivares de caña de azúcar a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico.

#### Actividades:

1.1 Montaje de ensayos de inoculación mecánica a escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar en cultivares controles (marzo 2021-mayo 2021 y mayo 2021-julio 2021).

✓ Escaldadura foliar

El ensayo para la inoculación y evaluación de escaldadura foliar se estableció en la estación experimental INICA Santiago de Cuba, entre los meses febrero a abril 2021, en condiciones de vivero con los cultivares controles de resistencia que se presentan en la tabla 1:

Tabla 1: Cultivares controles de resistencia a escaldadura foliar empleados en los estudios

Cultivares	Grado de resistencia
C1051-73	Resistente
Ty86-28	Susceptible
C86-12	Intermedia
L55-5	Altamente susceptible

La plantación del experimento se realizó con un diseño completamente al azar, con 20 propágulos de una yema a una distancia de 5 cm entre estos y se realizaron tres repeticiones (figura 1).



Figura 1: Establecimiento del ensayo para evaluar resistencia a escaldadura foliar en condiciones controladas

Las plantas se inocularon a los 21 días posteriores a la brotación, cuando tenían bien definidas sus primeras tres hojas. Se utilizará un grupo control sin inocular bajo las mismas condiciones.

Para la inoculación se empleó una cepa bacteriana de *X.albilineans* fresca, la cual se certificó por PCR en la Sede INICA La Habana, previo a la preparación del inóculo.

La concentración de la suspensión bacteriana se ajustó a  $10^6$  ufc/ml, según escala Mac Farland. Se verificó por cultivo en placas Petri de las correspondientes diluciones seriadas.

Las plántulas fueron inoculadas, a los 21 días posteriores a la brotación, por punción (inyección) por debajo de la hoja +1 (según nomenclatura de Kuijper). Se realizaron tomas de muestras de hojas a diferentes tiempos posteriores a la inoculación (24h, 72h, 7d, 15d y 30d). en paralelo se realizaron chequeos fitopatológicos y registro de datos sobre aparición de síntomas.

✓ Mosaico de la caña de azúcar

El ensayo para la inoculación y evaluación de mosaico de la caña de azúcar se estableció en la estación experimental INICA Santiago de Cuba, entre los meses mayo a julio 2021, en condiciones de vivero con los cultivares controles de resistencia que se presentan en la tabla 2:

Tabla 2: Cultivares controles de resistencia a escaldadura foliar empleados en los estudios

Cultivares	Grado de resistencia
C1051-73	Resistente
39MQ832	Intermedia
CP31-294	Susceptible
C236-51	Altamente susceptible

Se tuvieron en cuenta las condiciones descritas para el experimento de escaldadura foliar, con la diferencia en el método de inoculación que fue por frotación en la hoja +1 de un algodón embebido en la savia del cultivar B34104 infectado con el virus, a los 21 días posteriores a la brotación. Se utilizó un grupo control sin inocular bajo las mismas condiciones (figura 2).



Figura 1: Establecimiento del ensayo para evaluar resistencia a mosaico de la caña de azúcar en condiciones controladas

Se realizaron tomas de muestras de hojas a diferentes tiempos posteriores a la inoculación (24h, 72h, 7d, 15d y 30d). en paralelo se realizaron chequeos fitopatológicos y registro de datos sobre aparición de síntomas.

### 1.2 Evaluación de la resistencia a escaldadura foliar y mosaico (mayo 2021-septiembre 2021)

#### ✓ Escaldadura foliar

Se realizaron chequeos fitopatológicos y registro de datos sobre aparición de síntomas a diferentes tiempos posteriores a la inoculación (24h, 72h, 7d, 15d y 30d). Se registraron los datos de la longitud y diámetro de las plantas. Para la evaluación de síntomas se empleó la escala que se presenta en la Tabla 3

Tabla 3. Escala de evaluación de la escaldadura foliar

GRADO	SÍNTOMAS
1	Tallos con pocas líneas blancas en las hojas (1 o 2 por hoja)
2	Tallos con líneas blancas en las hojas (más de 2 por hoja)
3	Tallos con hojas cloróticas o blanquecinas
4	Tallos con hojas necrosadas
5	Tallos muertos o tallos con brotes laterales (escobas de bruja), que culmina con la muerte de la planta

Los datos obtenidos se emplearon para determinar la severidad de la enfermedad (S) en cada evaluación, según la fórmula:

$$S = [(1(n_1) + 2(n_2) + 3(n_3) + 4(n_4) + 5(n_5)) / 5N] \times 100$$

donde:

S = Severidad de ataque, expresada en porcentaje

n = Número de tallos en el correspondiente grado de la escala

N = Número total de plantas evaluadas

#### ✓ Mosaico de la caña de azúcar

Se procedió de manera similar al descrito para el ensayo de escaldadura foliar. Se registraron los datos de la longitud y diámetro de las plantas. A los 30 días posteriores a la inoculación se utilizó una escala de tres categorías: 0 = sin síntomas, 1 = síntomas leves, 2 = síntomas severos (reducción del crecimiento), para determinar el porcentaje de severidad.

### 1.3 Análisis estadístico de los resultados y elaboración de informe (octubre 2021-diciembre 2021).

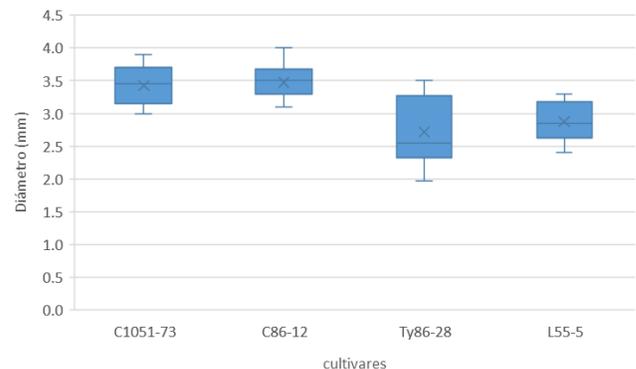
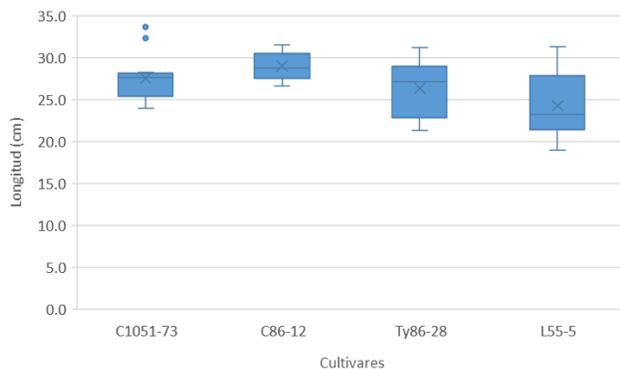
#### ✓ Escaldadura foliar

No se observaron síntomas visibles en el estudio de inoculación mecánica con *X. albilineans* en ninguno de los cultivares evaluados. Sin embargo, a los 30 dpi se detectaron diferencias significativas en las variables longitud y diámetro de los tallos entre cultivares (tabla 4). Los categorizados como susceptibles mostraron los menores valores en ambas variables, lo que puede indicar posible afectación por la bacteria. También se observó mayor variabilidad en los datos provenientes de las variables susceptibles (Figura3).

Tabla 4: Resumen del análisis de varianza para las variables estudiadas en la evaluación de la infección por *X. albilineans* en cuatro cultivares de caña de azúcar.

Fuentes de Variación	Longitud		Diámetro	
	CM	sig	CM	sig
Cultivar	48.23	**	1.767	**
Réplica	7.95	ns	0.342	ns
Error	9.62		0.112	
CV %	3.47		0.48	

CM= cuadrado medio, sig= significación estadística para  $p < 0.05$



A) Estadígrafos de la variable longitud del tallo

A) Estadígrafos de la variable diámetro del tallo

Figura 3: Evaluación de las variables longitud y diámetro del tallo en cuatro cultivares de caña de azúcar inoculados con *X. albilineans*

✓ Mosaico de la caña de azúcar

En los experimentos de inoculación con mosaico se detectaron síntomas en todos los cultivares evaluados, no así en los cultivares sanos. La evaluación de la severidad mostró diferencias significativas entre cultivares (Tabla 5)

Tabla 5: Resultados del análisis de varianza para la severidad de la infección por *SCMV* en cuatro cultivares de caña de azúcar.

Factor de Variación	Suma Cuadrados	Grados Libertad	Cuadrado Medio	F	p
Cultivar	2402.778	3	800.926	66.5385	0.000054
Réplica	16.667	2	8.333	0.6923	0.536377
Error	72.222	6	12.037		

Los cultivares evaluados quedaron bien diferenciados según su respuesta a la infección con *SCMV* (Figura 4). Además, se detectaron diferencias significativas en las variables longitud y diámetro del tallo entre cultivares (Tabla 6). Similar al ensayo de escaldadura foliar, los cultivares susceptibles mostraron los menores valores como reflejo de la infección por el virus (Figura 5)).

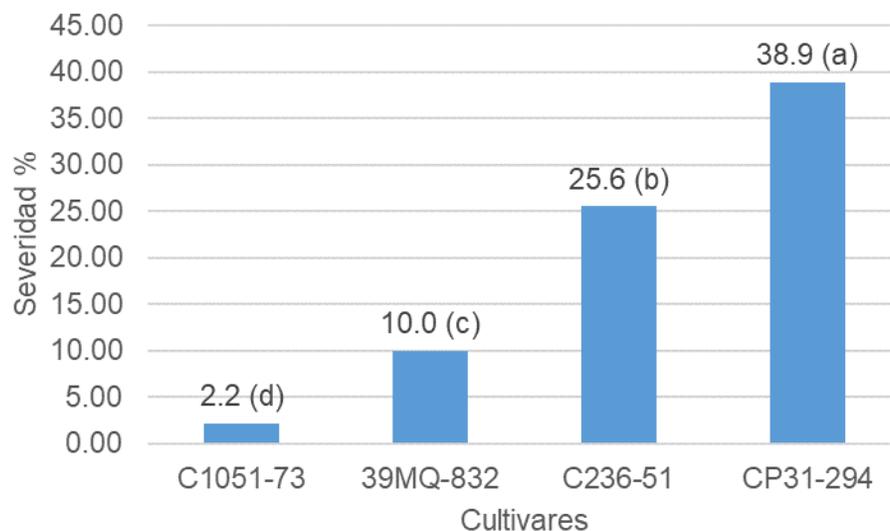
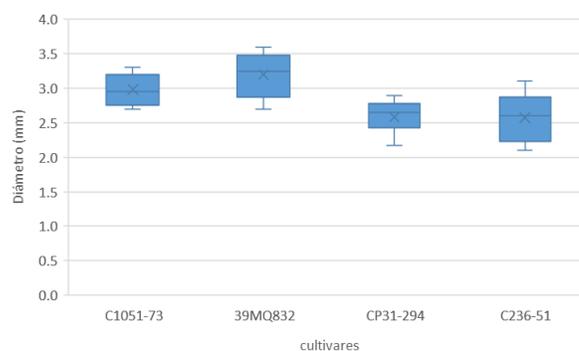
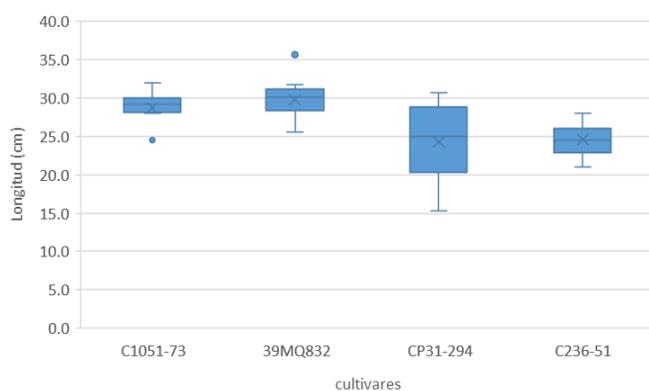


Figura 4: Evaluación de la severidad de la infección por *SCMV* en cuatro cultivares de caña de azúcar

Tabla 6: Resumen del análisis de varianza para las variables estudiadas en la evaluación de la infección por *SCMV* en cuatro cultivares de caña de azúcar.

Fuentes de Variación	Longitud		Diámetro	
	CM	sig	CM	sig
Cultivar	74.93	**	1.1561	**
Réplica	0.94	ns	0.0095	ns
Error	5.53		0.0845	
<b>CV %</b>	<b>3.47</b>		<b>0.48</b>	

CM= cuadrado medio, sig= significación estadística para  $p < 0.05$



A) Estadígrafos de la variable longitud del tallo

A) Estadígrafos de la variable diámetro del tallo

Figura 5: Evaluación de las variables longitud y diámetro del tallo en cuatro cultivares de caña de azúcar inoculados con *SCMV*

**Resultado 2** Caracterizados histológica y molecularmente los patosistemas caña de azúcar-*Xanthomonas albilineans* y caña de azúcar-*Sugarcane Mosaic Virus*.

**Actividades:**

2.1 Plantar un ensayo en condiciones controladas en áreas en áreas experimentales

Los ensayos para la inoculación y evaluación de resistencia a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar se establecieron en la estación experimental INICA Santiago de Cuba según se describió en el Resultado 1 en el período comprendido entre marzo y mayo 2021.

2.2 Toma de muestras de tejidos foliares para estudios histológicos y moleculares

En ambos experimentos las muestras se procesaron de igual forma: Se consideró como muestra única las porciones de 10 plantas de cada tratamiento. De cada planta se tomó una hoja completamente expandida (hoja +3). Se marcó cada planta muestreada para evitar repetir el muestreo sobre ella.

Durante el muestreo de las 24h post inoculación se realizó la detección de respuestas defensivas tempranas mediante la detección histoquímica de radicales superóxido.

Se realizó la tinción histoquímica con nitroazul de tetrazolio (NBT, del inglés, Nitro Blue Tetrazolium). Para analizar la producción *in situ* de radicales superóxidos, las muestras foliares se sumergieron en un buffer fosfato de potasio 50 mmol/L, pH 8 que contiene 0.1 % de NBT y azida sódica 10 mmol/L. Para asegurar la infiltración del NBT, se dieron dos golpes de vacío de 1 min cada uno. Seguidamente las muestras se incubaron en oscuridad durante dos horas; y luego se sumergieron en hipoclorito de sodio 5 % hasta eliminar completamente la clorofila.

La acumulación de superóxido se estimó por observación en el estereoscopio de los depósitos negro - azulados de formazán (compuesto resultante de la interacción entre la solución NBT y los radicales superóxidos) en los tejidos foliares. Se utilizó una escala de tres niveles: Alto = acumulación de gran cantidad de manchas en el tejido foliar, Medio = acumulación de manchas dispersas y/o formación de líneas, Bajo = acumulación de pocas manchas o ninguna. Se realizaron cortes transversales para observar las acumulaciones intra-tisulares de radicales en el microscopio óptico. Las imágenes se procesaron en el software ImageJ® para mejor visualización de los resultados.

Para la detección del agente causal de la escaldadura foliar se realizaron ensayos serológicos tipo sistemas ultra-micro-analítico (SUMA). Para ello se tomaron fracciones de 1 cm de lámina foliar, las que se colocaron en un nylon etiquetado y conservado a entre 4-8 °C. Se utilizó un juego comercial (AGDIA) específico para *X. albilineans*. Las muestras previamente diagnosticadas por los métodos de Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP) y microbiológicos, fueron utilizadas como controles positivos. Los controles negativos son provistos por el fabricante. Cada prueba fue evaluada por triplicado.

Para Histología se dividió una porción del tercio medio de 1 cm, se colocó en un tubo de 2 mL con solución fijadora FAA de modo que quede completamente sumergido y se conserva a temperatura ambiente.

Para extracción de ácidos nucleicos, el resto de la hoja se colocó en un nylon etiquetado y se conservó rápidamente en nitrógeno líquido.

Para el diagnóstico de virus se sintetizó el ADNc con la enzima reverso-transcriptasa M-MLV (Promega) según las especificaciones del proveedor con el empleo de un oligo-dT como cebador. Los fragmentos de interés se amplificaron a partir de 25 ng de ADNc a los 30 días posteriores a la inoculación con el patógeno. La mezcla de PCR se realizó con 2µl ADNc, 25 pmol de cada cebador [oligo-1n (5'-ATGGTHTGGTGYATHGAR-3') y oligo-2n (5'-TGCTGCKGCYTTTCATYTG-3')], 2.5 µl de solución amortiguadora para PCR 1X (Promega), 1,25 µl MgCl<sub>2</sub> (Promega), 50 µM dNTPs (Promega), 0,5 unidades de ADN-polimerasa (Promega) y agua tratada con DEPC, hasta un volumen final de 40 µl. La reacción se realizó con el siguiente programa: un ciclo a 94 °C (5 min), 50 °C (2 min) y 72 °C (50 s); 30 ciclos a 94 °C (45 s), 50 °C (2 min) y 72 °C (50 s) y un ciclo final a 72 °C durante 10 min. La talla esperada del fragmento

amplificado es de 321 pb. Los resultados de la amplificación (5 µl) se visualizaron en gel de agarosa 1,5 % teñido con GelRedTM 0.001 % (Biotium, EE. UU.).

2.3 Evaluados los cambios histológicos y moleculares que se producen en las plantas  
 ✓ Escaldadura foliar

En los experimentos de inoculación con escaldadura foliar se apreciaron cambios en la detección de radicales superóxido (Figura 6). Se pudo apreciar un mayor nivel de estas especies reactivas del oxígeno en los cultivares resistentes lo que indica que estos reconocen un nivel de daño que alerta de manera temprana para la inducción de respuestas defensivas (Figura 7).

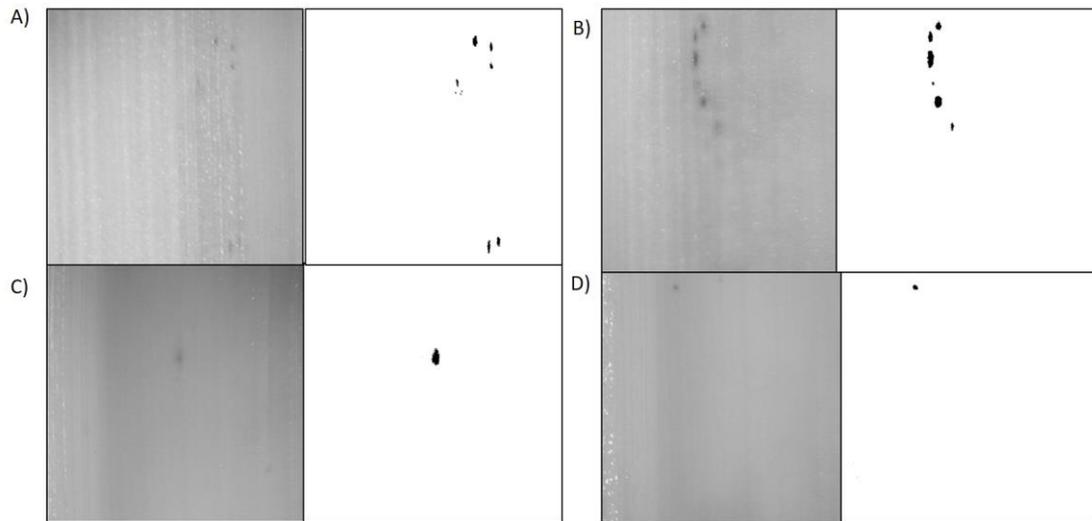


Figura 6: Tinción con NBT y procesamiento de imágenes de hojas de caña de azúcar de cultivares inoculados con *X albilineans*. A: C1051-73; B: C86-12; C: L55-5 y D: Ty86-28.

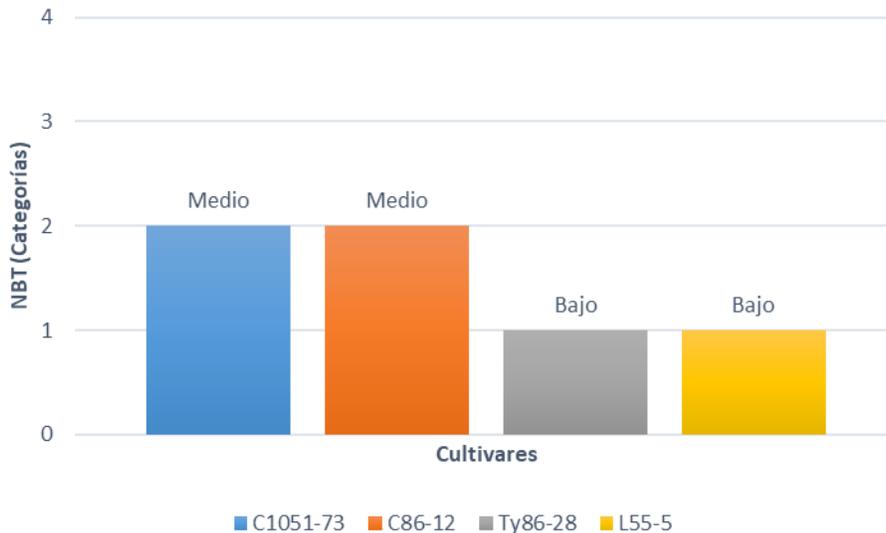


Figura 7: Niveles de acumulación de radicales superóxido en hojas de caña de azúcar de cultivares inoculados con *X albilineans*.

Los resultados del ELISA demostraron la presencia de la bacteria en todos los cultivares inoculados hasta los 30 días posteriores a la inoculación (Tabla 7). Los cultivares C1051-73 y Ty86-28 sanos se mantuvieron

libres del patógenos hasta el final de estudio. El cultivar L55-5 no inoculado manifestó presencia de la bacteria desde comienzos de estudio lo que indica poca efectividad del tratamiento hidrotérmico realizado o elevadas concentraciones de *X. albilineans* en el material de partida que no desaparece con el tratamiento hidrotérmico. El cultivar C86-12 sano manifestó presencia de la bacteria en los días 15 y 30 posteriores a la inoculación.

Tabla 7: Resumen de los resultados del diagnóstico serológicos en cultivares sanos e inoculados con la bacteria *X. albilineans*

No. Muestra	Cultivar	Tiempo Post-inoculación				
		24 h	72 h	7 d	15d	30 d
Control	C-	-	-	-	-	-
control	C+	+	+	+	+	+
1	C86-12 (i)	+	+	+	+	+
2	C86-12 (s)	-	-	-	+	+
3	L55-5 (i)	+	+	+	+	+
4	L55-5 (s)	+	+	+	+	+
5	C1051-73 (i)	+	+	+	+	+
6	C1051-73 (s)	-	-	-	-	-
7	Ty86-28 (i)	+	+	+	+	+
8	Ty86-28 (s)	-	-	-	-	-

Leyenda: s: sano; i: inoculado; -Negativo ; + Positivo

✓ Mosaico de la caña de azúcar

En los experimentos de inoculación con mosaico de la caña de azúcar se apreciaron cambios en la detección de radicales superóxido (Figura 8). Similar al ensayo vs *X. albilineans*, se pudo apreciar un mayor nivel de estas especies reactivas del oxígeno en los cultivares resistentes lo que indica que estos reconocen un nivel de daño que alerta de manera temprana para la inducción de respuestas defensivas (Figura 9), lo que corrobora los resultados obtenidos en la evaluación de la severidad de la infección (Resultado 1).

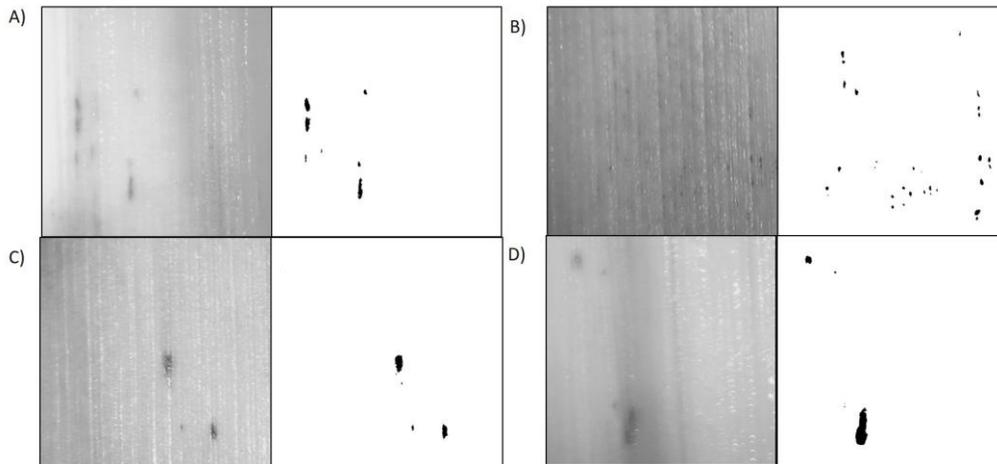


Figura 8: Tinción con NBT y procesamiento de imágenes de hojas de caña de azúcar de cultivares inoculados con SCMV. A: C1051-73; B: 39MQ832; C: CP31-294 y D: C236-51.

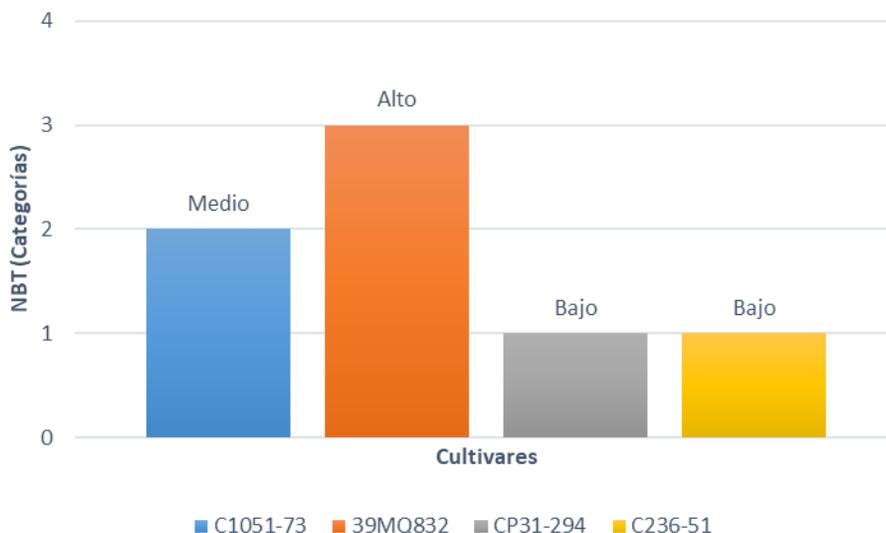


Figura 9: Niveles de acumulación de radicales superóxido en hojas de caña de azúcar de cultivares inoculados con *SCMV*.

Los resultados del RT-PCR a los 30 dpi mostraron presencia del virus en los cultivares susceptibles CP31-294 y C236-51, lo que permitió verificar el procedimiento de inoculación e infección viral (Figura 10).

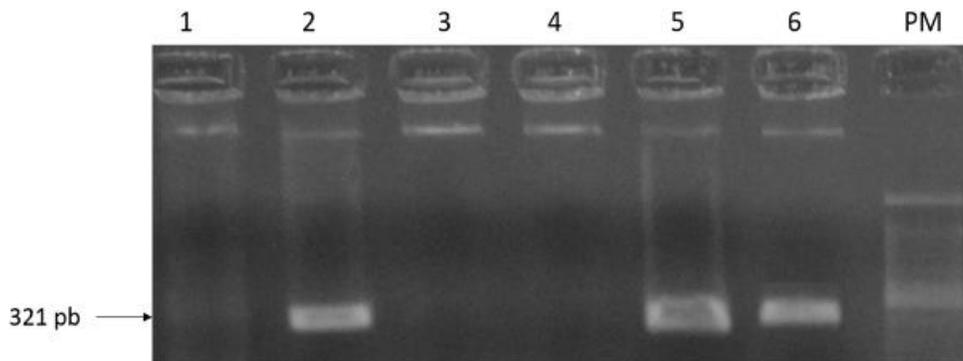


Figura 10. Detección de *SCMV* en muestras de caña de azúcar mediante RT-PCR con los cebadores específicos oligo1n/2n. Carril 1: control sano, 2: control de infección, 3: C1051-73; 4: 39MQ832; 5: CP31-294 y 6: C236-51; 3 PM: patrón de peso molecular 100bp DNA Ladder (Promega).

**Resultado 3** Caracterizados histológica y molecularmente los patosistemas caña de azúcar-*Xanthomonas albilineans* y caña de azúcar-*Sugarcane Mosaic Virus*.

**Actividades:**

- .1 Asociación entre la respuesta de resistencia de cultivares controles a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar y marcadores histoquímicos y moleculares

- ✓ Estudios histoquímicos

De las muestras conservadas en FAA se realizaron secciones transversales a mano alzada. Las secciones se blanquearon con hipoclorito de sodio comercial: agua 1:1, se enjuagaron con agua destilada y se tñieron con Safranina-Astra azul. También se realizaron estudios histoquímicos, se utilizó una solución de yoduro de potasio (IKI o yodo de Lugol) para teñir el contenido de almidón. Estos estudios se realizaron

durante misión de intercambio en la Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo de la Universidad Nacional de Tucumán, Argentina.

✓ Estudios moleculares

Las muestras conservadas en nitrógeno líquido se emplearon para extracción de ácidos nucleicos totales mediante el método de bromuro de cetil trimetil amonio (CTAB). Se pesaron 0,2 g de la muestra colectada. Esta se maceró en mortero con nitrógeno líquido y en campana de extracción de gases, se añadieron 0,5 mL de solución de extracción (0,1 mol/L Tris HCl pH 8,0; 1,4 mol/L NaCl, 0,02 mol/L EDTA, 0,1 % β-mercaptoetanol, 2 % CTAB), previamente calentada a 60 °C.

Las muestras se homogeneizaron y se incubaron 30 min a 60 °C. Posteriormente, se agregaron 0,375 mL de cloroformo: alcohol isoamílico en proporción 24:1. Se mezcló por inversión y se incubó a temperatura ambiente por 5 min. Las muestras se centrifugaron 10 min a 4 °C y 8 000 rpm. Se transfirieron 0,7 mL de sobrenadante a un tubo nuevo y se adicionaron 0,5 mL de isopropanol frío.

La mezcla se agitó por inversión y se incubó a -20 °C durante 1 h. Luego, se centrifugó 10 min a 4 °C y 10 000 rpm. Se eliminó el sobrenadante y el precipitado se lavó con 0,2 mL de etanol 70 %. Se repitieron los pasos de centrifugación y lavado. Después de una centrifugación a 10 000 rpm durante 10 min a 4 °C, el precipitado se secó durante 5 min en liofilizadora y se resuspendió en 25 µL de agua con 0.01 % pirocarbonato de dietilo (DEPC).

✓ Escaldadura foliar

Para detectar diferencias en la expresión génica entre los cultivares se utilizaron los marcadores TRAP con la combinación de cebadores PODK F- CGTAAAGATTGCTGTGGA y Arbi 2 R- GACTGCGTACGAATTGAC, SAI F- AGGACGAGACCACACTCT y Arbi 1 R- GACTGCGTACGAATTAAT. La mezcla de reacción contenía 2.5ng de ácidos nucleicos totales, 2,5 µl solución amortiguadora para PCR 1X (Promega), 1,25 µl MgCl<sub>2</sub> (Promega), 50 µM dNTPs (Promega), 0,5 unidades de ADN-polimerasa (Promega) y agua MiliQ, hasta un volumen final de 25 µl. El programa de PCR fue el siguiente 94 °C (5 min) y 35 ciclos a 94 °C (30 s), 53 °C (30s) y 72 °C (45 s) y un ciclo final a 72 °C durante 5 min. Los productos se visualizaron en gel de acrilamida al 8% teñido con GelRedTM 0.001 % (Biotium, EE. UU.). Estos estudios se realizaron durante misión de intercambio en la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile.

✓ Mosaico de la caña de azúcar

Para detectar diferencias en la expresión génica de los cultivares fueron utilizados siete pares de cebadores para genes R diseñados por el INICA (Tabla 8), basados en el análisis de 243 secuencias previamente informadas sobre la interacción caña de azúcar - *Sporisorium scitamineum*. Estos estudios se realizaron durante misión de intercambio en la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Chile.

Tabla 8: Secuencia de cebadores, temperatura de alineamiento (Tm) y tamaño esperado.

Nombre	Descripción	Secuencia (5' -3')	Tm °C	Talla bp
Cu-29	Proteína de unión a ácidos nucleicos	GCAACAACCTATGGCGCAAAC CGTGAGGATGGGATGCAGAG	54	286
Cu-33	Promotor de crecimiento independiente de auxina	GGTCCATTGGTCCCCTTGATC CGAGTTGTTGCTTGTATCTCAGG	54	202
Sa1-17	Endopetidasa, superfamilia nucleótido N-terminal	CCTTCAATGTGCTCGGTGGG GCGAACACATCCTTAAGTAGATCG	54	236
Sa1-31	Poliubiquitina	GCCATCCTCGAGCTGCTTG CCCAATCCCAGCCCATCG	56	350
Sa2-18	Proteína de unión a Zinc con dominio A20 y AN1	CTCGGATAAACATGACTGCCAG CGACCGAAACCACCATGAATAAC	54	338

Nombre	Descripción	Secuencia (5´-3´)	Tm °C	Talla bp
Sa2-23	Fosfoglucomutasa citoplasmática tipo II	CGTCAGCTGCAACTACTTCAG GGGTGCTTGCATGGCTTTC	54	267
Sa-30	Ciclina L1-1	CATTGGTGGTTGCATTGGC GCCAGGAGAAGGATTCAGTGAC	52	511
Sa2-31	Endoglucanasa, glicosil hidrolasa familia 9	GGAAGGCCAACATGGTTCAG CACTGCACTGCTGCTGTCC	56	311

#### - Amplificación de genes R

El ADNc se sintetizó con la enzima reverso-transcriptasa M-MLV (Promega), según las especificaciones del proveedor y el empleo de un oligo-dT como cebador. La mezcla de PCR se realizó con 2 µL ADNc, 25 pmol de cada cebador, 2.5 µL de solución amortiguadora para PCR 1X (HeberBiotec), 2.5 µL MgCl<sub>2</sub> (HeberBiotec), 0.5 µL dNTPs 10 µmol/L (HeberBiotec), 0.4 unidades de ADN-polimerasa (HeberBiotec) y agua tratada con DEPC, hasta un volumen final de 25 µL. Las reacciones se realizaron con el siguiente programa: un ciclo de 94 °C (3 min); 30 ciclos de 94 °C (30 s) / 52, 54, 56 °C (30 s) / 72 °C (1 min); un ciclo de 72 °C (10 min); y un ciclo final a 4 °C durante 10 min. Los resultados de la amplificación (5 µL) se visualizaron en gel de agarosa 0.8 % teñido con GelRed™ 0.001 % (Biotium, EE. UU.).

#### ✓ Procesamiento de datos

Para cada combinación de cultivar - gen, los datos se puntuaron como "1" para "presencia" y "0" para "ausencia". Con el empleo del software MEGA5 se realizó un análisis de agrupamiento jerárquico basado en la matriz de covarianza genética estimada, mediante el método de la media aritmética de grupos pareados desbalanceados (UPGMA) y coeficiente de disimilitud como medida de la diferencia entre grupos. Se tuvo en cuenta no fusionar conjuntos demasiado lejanos, como criterio de parada del agrupamiento.

#### .2 Análisis estadístico de los resultados

#### ✓ Estudio Histológicos

#### ✓ Escaldadura foliar

En las secciones transversales de las muestras foliares de los cultivares inoculados con *X. albilineans* se detectó un engrosamiento de las paredes en los cultivares resistentes C1051-73 y C86-12. Mientras que en los cultivares susceptibles pudo observarse daño a nivel de tejidos vasculares con presencia de la bacteria (Figura 11). El engrosamiento de las paredes es un marcador inespecífico de resistencia a las enfermedades de caña de azúcar, pero la detección de la bacteria y daños asociados a su presencia sí resultan útiles para el diagnóstico y la confirmación de la resistencia/susceptibilidad de los cultivares en estudio.

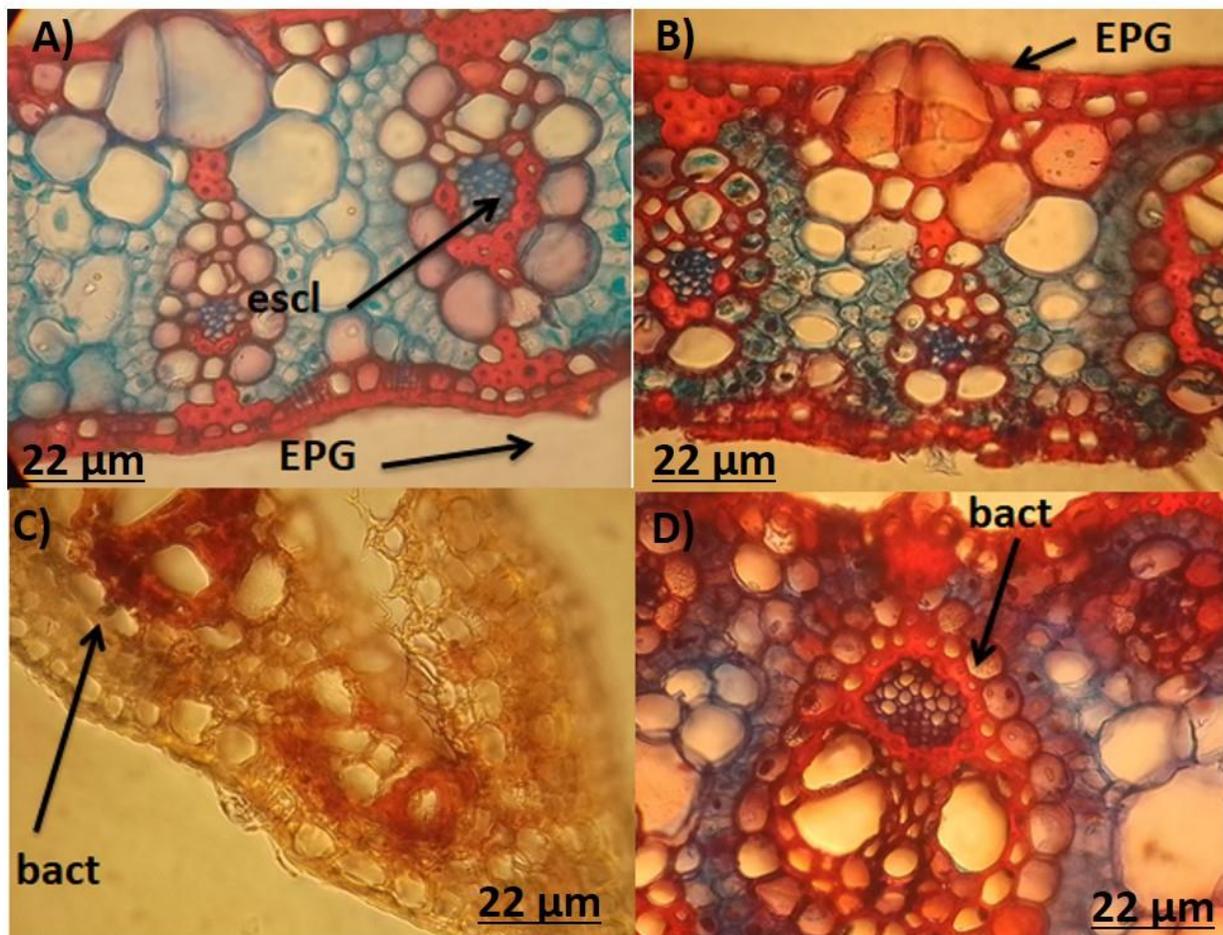


Figura 11: Secciones transversales de muestras de hojas de caña de azúcar inoculadas con *X. albilineans*. A: C1051-73, B: C86-12; C: Ty86-28; D: L55-2; escl: esclerenquima; EPG: epidermis con paredes engrosadas; bact: presencia de la bacteria..

✓ Mosaico de la caña de azúcar

En las tinciones histoquímicas con solución de lugol se puso determinar la presencia de almidón en los cultivares 39MQ832, CP31-294 y C236-51 en correspondencia con los niveles de severidad y síntomas observados en el Resultado 1 (Figura 12). Esto indica que la presencia de este compuesto químico constituye un marcador de la infección viral.

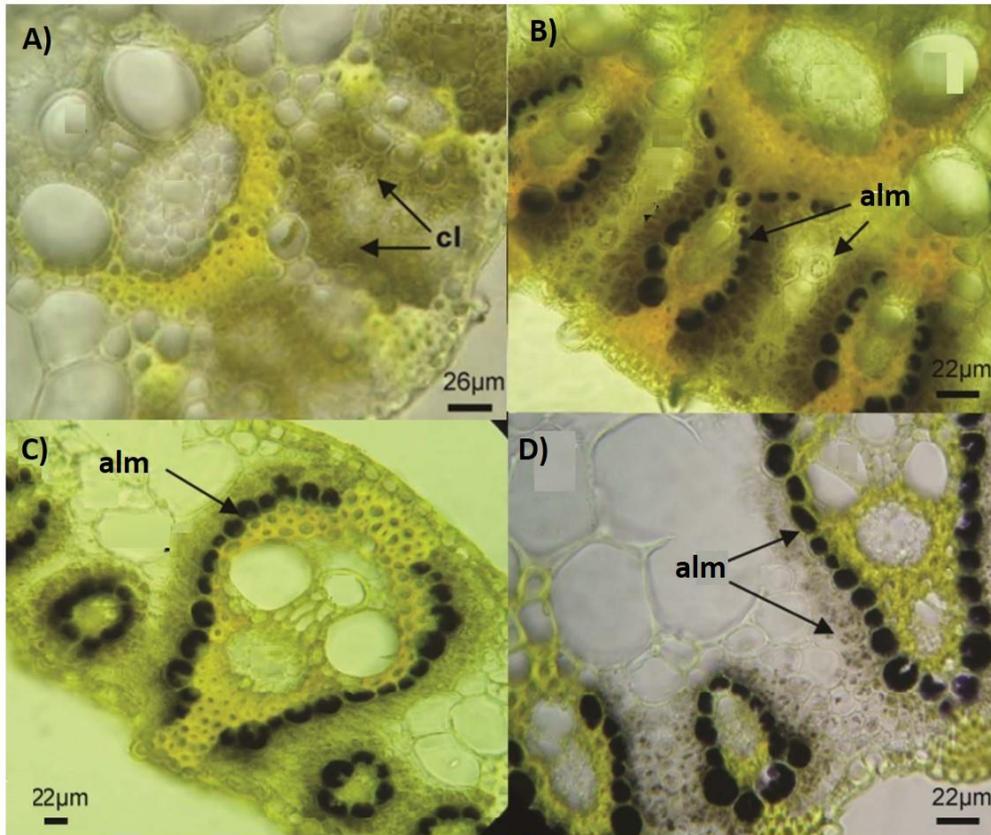


Figura 12: Localización in situ de depósitos de almidón en muestras de hojas de caña de azúcar inoculadas con SCMV. A: C1051-73, B:39MQ832; C; CP31-294; D: C236-51; alm: almidón; cl: clorénquima.

- ✓ Estudio Moleculares
- ✓ Escaldadura foliar

De los cuatro marcadores TRAP basados en secuencias blanco de genes relacionados con el metabolismo de la sacarosa, solo la combinación del gen Sacarosa sintasa (SuSy) y los oligos arbitrarios 1 y 2 lograron diferenciar los cultivares resistentes de los susceptibles (Figuras 13 y 14). Se determinó mayor polimorfismo con el oligo Arb2. Los cultivares resistentes presentaron la menor expresión de estos genes, lo que indica que los mecanismos de resistencia inhiben esta enzima que cataliza la conversión reversible de sacarosa y uridin di-fosfato (UDP) a UDP-Glucosa y fructosa, que pueden ser más asimilables por los patógenos.

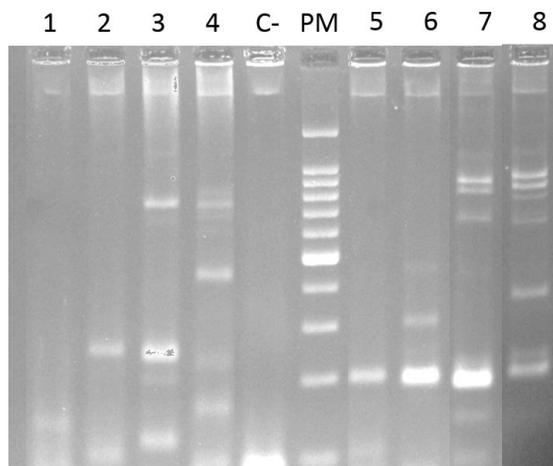


Figura 13. Expresión diferencial de los marcadores TRAP con las combinaciones de cebadores SuSy / Arb-1 (carril 1- 4) y SuSy / Arb 2 (carril 5-8) en acrilamida 8% teñido con GelRed™ 0.001 % (Biotium, EE. UU.): PM: patrón de peso molecular 100bp DNA Ladder (Promega), C- (control negativo: mezcla de reacción), carriles 1 y 5: C1051-73; 2 y 6: C86-12; 3 y 7: Ty86-28; 4 y 8: L55-5.

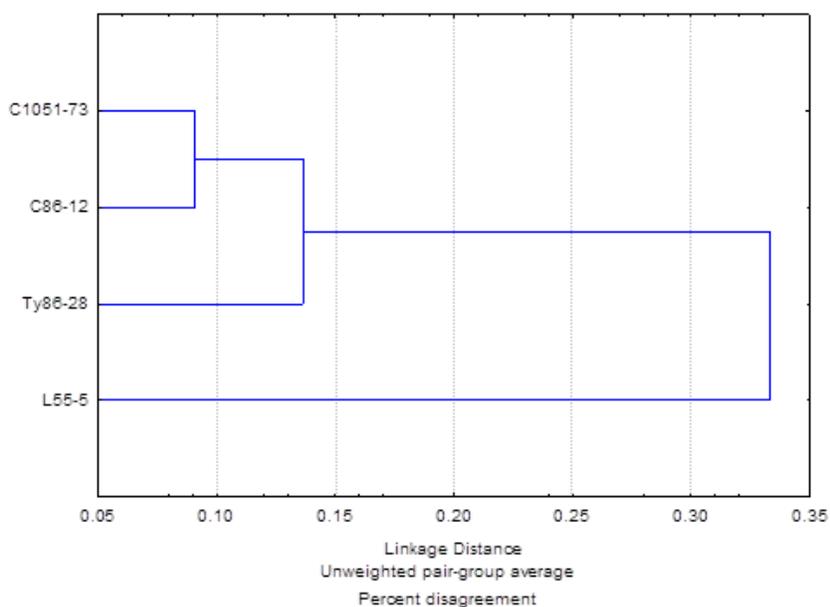


Figura 14. Árbol filogenético obtenido por el análisis de agrupamiento UPGMA de acuerdo a la relación entre los marcadores y la resistencia de los cultivares de caña de azúcar a escaldadura foliar.

✓ Mosaico de la caña de azúcar

De un total de siete genes R probados solo dos mostraron una expresión diferencial a los 30 días post inoculación en los diferentes cultivares evaluados, estos fueron: Sa2-23 y Sa2-31, ambos genes relacionados con el metabolismo de los azúcares, lo que indica transformaciones en las plantas ante la infección viral (Figura 15). El dendrograma permitió diferenciar los cultivares resistentes de los susceptibles con los resultados de expresión de los siete genes evaluados (Figura 16)

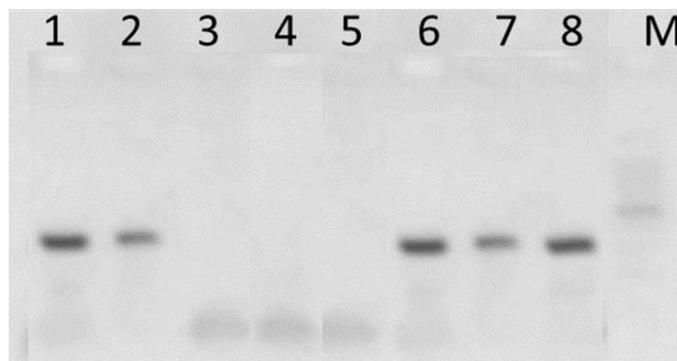


Figura 15. Expresión diferencial de los genes de resistencia Sa2-23 (carriles 1-4) y Sa2-31 (carriles 5-8) en gel de agrosa 1% teñido con GelRed™ 0.001 % (Biotium, EE. UU.): carriles 1 y 5: C1051-73; 2 y 6: 39MQ832; 3 y 7: CP31-294; 4 y 8: C236-51. M: patrón de peso molecular 100bp DNA Ladder (Promega).

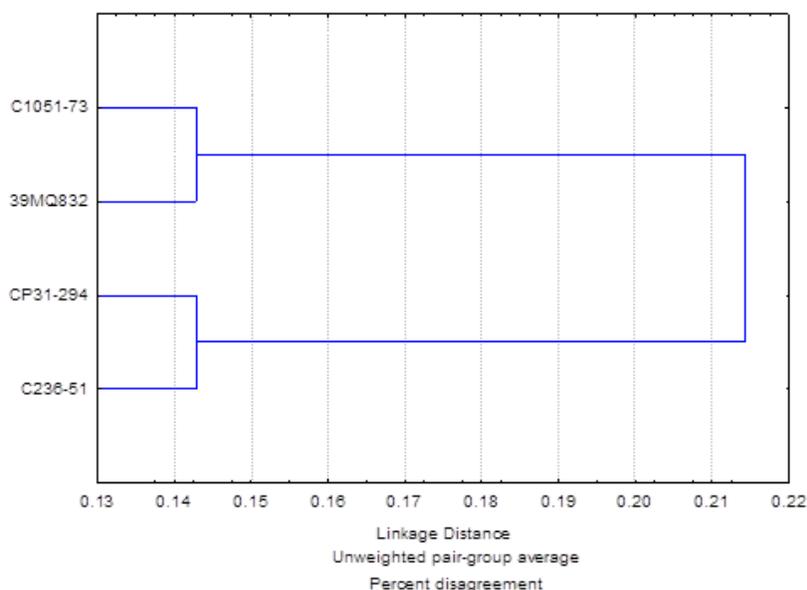


Figura 16. Árbol filogenético obtenido por el análisis de agrupamiento UPGMA de acuerdo a la relación entre los marcadores y la resistencia de los cultivares de caña de azúcar a mosaico de la caña de azúcar.

**Resultado 4** Capacitados especialistas y socializados los resultados del proyecto en diferentes sectores científicos y productivos

**Actividades:**

4.1 Talleres, charlas, plegables y días de campo con los actores involucrados y productores. Dentro del marco del proyecto se programaron Talleres y charla. Aún se contempla la realización de un Taller Nacional para alcanzar la meta de actores capacitados.

1 Conferencia “Diagnóstico y evaluación de plagas en cultivos agrícolas”. Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina (Figura 17). Participantes: 13



Figura 17: Participantes en la conferencia impartida en la Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán, Argentina

#### 4.2 Presentación de resultados en eventos y publicaciones científicos

Los resultados del proyecto se han presentado en dos eventos y se pretende incrementar la participación en otros congresos programados para el 2023, así como la publicación de los resultados obtenidos.

1. XVI Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados, Diversificación 2022 (2022-06-20 - 2022-06-24). Mesa Redonda: Manejo Integrado de Plagas en Caña de Azúcar. Yaquelin Puchades, Mérida Rodríguez, Joaquín Montalván, Osmany Aday, Mercedes Delgado, Angel Solís, José Pérez-Milian, Eida Rodríguez. (Figura 18)



Figura 18: Certificado de participación en el XVI Congreso Internacional sobre Azúcar y Derivados, Diversificación 2022

2. XXII Congreso Científico Internacional Instituto de Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). 15 al 18 de noviembre de 2022. Exposición: Revisión de los procedimientos para la clasificación de cultivares de caña de azúcar por su resistencia a enfermedades. Yaquelin Puchades, Mérida Rodríguez, Joaquín Montalván, Osmany Aday, Mercedes Delgado, Angel Solís, José Pérez-Milian, Eida Rodríguez. (Figura 19)



Figura 19: Certificado de participación en el XXII Congreso Científico Internacional Instituto de Nacional de Ciencias Agrícolas

3. Taller Nacional para la presentación de los resultados finales del proyecto, elaboración de Informe final y desarrollo de nuevas líneas de investigación, desarrollo y colaboración. Se desarrolló entre los días 14 y 17 de marzo de 2023, en el Hotel Be Live Experience Varadero, Matanzas, con la participación de 12 especialistas de 7 provincias de Cuba (Figura 20)



Figura 20: Taller Final de proyecto INT/21/K16\_MARCADORES. Sesiones de Trabajo desarrolladas en el Hotel Be Live Experience, Varadero. Matanzas.

### Conclusiones

1. Los procedimientos de inoculación de *X. albilineans* y *SCMV*, por punción y frotación de la hoja +1 respectivamente son efectivos para los estudios de resistencia a estas enfermedades en caña de azúcar.
2. En los cultivares susceptibles, a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar, presentan una disminución de la longitud y diámetro del tallo, que está relacionada con la infección por los patógenos.
3. En los cultivares resistentes, a las enfermedades escaldadura foliar y mosaico de la caña de azúcar, presentan una rápida activación de las especies reactivas del oxígeno que aseguran la defensa temprana contra los agentes nocivos.
4. Los cultivares resistentes a la escaldadura foliar pueden caracterizarse utilizando el marcador TRAP asociado al gen de la sacarosa sintasa y los oligos Arb1 y Arb2.
5. Los cultivares resistentes al mosaico de la caña de azúcar pueden caracterizarse mediante la tinción histoquímica con lugol por la ausencia de depósitos de almidón en las células del clorénquima.
6. Se precisan acciones para la formación de capacidades en los actores involucrados en el proyecto para la implementación exitosa del uso de los marcadores identificados en la caracterización de nuevos cultivares de caña de azúcar.

**Limitantes encontradas:** Regulaciones sanitarias impuestas por la pandemia de la covid-19.

### **III – INFORME ADMINISTRATIVO CONTABLE**

#### **Resumen de la situación financiera.**

Del desembolso recibido a la cuenta de la institución equivalente a 22,000 USD, se han ejecutado 21,636.39 USD (82.9 %) quedando en cuenta bancaria 363.61 USD

**(de existir dos entidades beneficiarias, se hace el resumen de ambas)**



**Firma Director proyecto**

**Nombre: Yaquelin Puchades Izaguirre**

**Fecha: 20 de marzo de 2023**