

Detección del virus del amarillamiento de la hoja en variedades comerciales y en la colección de progenitores del Subprograma de Mejoramiento Genético de la Caña de Azúcar de la EEAOC en Tucumán, Argentina *

Romina P. Bertani**, Constanza M. Joya***, Diego D. Henriquez**, Claudia Funes**, M. Francisca Perera***, Victoria González**, María I. Cuenya** y Atilio P. Castagnaro***

RESUMEN

El amarillamiento de la hoja, causado por el virus del amarillamiento de la caña de azúcar (SCYLV), está distribuido mundialmente en las regiones cañeras; sin embargo, se desconoce su incidencia y distribución en la Argentina. Por ello se plantearon dos grandes objetivos: i) analizar la distribución en el área cañera de Tucumán de SCYLV, caracterizar el virus y determinar la correlación entre la presencia del este y los síntomas de la enfermedad, y ii) evaluar el comportamiento de progenitores del Subprograma de Mejoramiento Genético de la Caña de Azúcar (SMGCA) de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) frente al virus, comparando metodologías de diagnóstico. Para cumplir el primer objetivo, se colectaron 146 muestras de hojas de caña de azúcar con y sin síntomas de amarillamiento, de variedades comerciales, clones avanzados en las etapas finales de selección y progenitores del SMGCA de la EEAOC, en la provincia de Tucumán, en 2011 y 2012. El SCYLV se detectó en 26 muestras mediante RT-PCR, todas correspondieron al genotipo BRA-PER del virus. El análisis filogenético del gen de la proteína de la cápside permitió la agrupación de razas y la distinción entre aislados. La correlación entre la presencia del virus y los síntomas de la enfermedad fue positiva, baja, pero estadísticamente significativa. Respecto al segundo objetivo, en 2013, 2015, 2016 y 2017 se tomaron muestras de los progenitores utilizados en el SMGCA y se diagnosticó la presencia de SCYLV mediante técnicas moleculares, empleando dos pares de cebadores, y serológicas. El 75% de los genotipos evaluados resultó libre del virus durante el período de evaluación considerado. Se detectó que la RT-PCR empleando los cebadores SCYLVf1/r1 sería más sensible que con el par YLS111/462 y que el diagnóstico molecular fue más sensible que el diagnóstico serológico.

Palabras clave: SCYLV, distribución, métodos de diagnóstico, fuentes de resistencia.

ABSTRACT

Detection of Sugarcane yellow leaf virus in commercial cultivars and the parental collection of the EEAOC breeding program in Tucumán, Argentina.

Yellow leaf disease, caused by *Sugarcane yellow leaf virus* (SCYLV), is worldwide spread in sugarcane regions, however; its incidence and distribution in Argentina it's unclear. The two main aims of this study were to: i) analyse SCYLV distribution in the sugarcane production area in Tucumán, characterize the virus and determine the correlation between virus presence and disease symptoms, and ii) evaluate the behavior of progenitor collection of the Sugarcane Breeding Program (SBP) of the Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) against the virus, using different diagnostic techniques. In 2011 and 2012, 146 sugarcane leaf samples with and without yellowing symptoms were collected in Tucumán Province from commercial varieties, advanced breeding clones at final testing stages of selection and progenitors of the SBP. SCYLV was detected by RT-PCR in 26 samples, all of them corresponding to BRA-PER genotype. Phylogenetic analysis of the SCYLV-CP gene allows clustering of strains as well as to distinguish among individual isolates. The correlation between virus detection and disease symptoms was positive and low but statistically significant. Regarding the second goal, samples from parents used in SBP were collected during 2013, 2015, 2016 and 2017 and diagnostic techniques, molecular (RT-PCR) and serological (TBIA) were compared. Seventy five percent of the genotypes remained disease-free throughout the experimental period. Respect to the diagnostic methods, it is concluded that RT-PCR using SCYLVf1/r1 primers would be more sensitive than YLS111/462 pair, and that molecular diagnosis was more sensitive than serologic one.

Key words: SCYLV, distribution, diagnostic methods, resistant sources.

Fecha de recepción: 19/06/2019 - Fecha de aceptación: 06/10/2020

* Trabajo financiado por Estación Experimental Agroindustrial O. Colombres (EEAOC) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). ** EEAOC. ***Instituto de Tecnología Agroindustrial del Noroeste Argentino (ITANOA), EEAOC - CONICET. bertaniromina@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La enfermedad del amarillamiento de la hoja está ampliamente distribuida en las áreas cañeras del mundo y puede producir pérdidas de rendimiento entre el 20 y 40% en variedades susceptibles (Lockhart and Cronjé, 2000; Rassaby *et al.*, 2003).

El agente causal de la enfermedad es el virus del amarillamiento de la hoja de la caña de azúcar (SCYLV) (Rott *et al.*, 2008), que se transmite a través de la propagación vegetativa de la caña de azúcar y por medio de áfidos vectores (Abu Ahmad *et al.*, 2006; Scagliusi and Lockhart, 2000).

El síntoma típico de la enfermedad es el amarillamiento de la nervadura central del lado abaxial de hojas maduras, que puede extenderse a lo largo de la lámina foliar. El mismo puede ser causado también por otros factores bióticos o abióticos, como daño por insectos, deficiencia nutricional o hídrica e inviernos fríos, lo que dificulta el diagnóstico visual del SCYLV (Lockhart and Cronjé, 2000). El virus puede detectarse también en plantas asintomáticas, lo que destaca la necesidad de contar con métodos de diagnóstico precisos. Entre los métodos disponibles para confirmar la presencia del virus se encuentran los serológicos (Schenck *et al.*, 1997) y los moleculares, basados en la retrotranscripción del ARN previa a la PCR (RT-PCR) (Comstock *et al.*, 1998).

Hasta el momento se han citado diez genotipos del SCYLV, cuya denominación responde al lugar donde se los detectó por primera vez: BRA (Brasil), CUB (Cuba), PER (Perú), REU (Isla Reunión), IND (India), CHN, CHN2 y CHN3 (China), HAW (Hawaii), COL (Colombia) y MU (Mauricio) (Moonan and Mirkov, 2002; Abu Ahmad *et al.*, 2006; Wang and Zhou, 2010; ElSayed *et al.*, 2011; Gao *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2012; Chinnaraja *et al.*, 2013; Lin *et al.*, 2014; Joomun and Dookun-Saumtally, 2019).

En Argentina, los síntomas de amarillamiento de la hoja se observaron por primera vez en 1998 en campos de caña de azúcar en Tucumán (26°49'00"S 65°13'00"O) (Ramallo and Ploper, 1998); sin embargo, la presencia de SCYLV no fue confirmada por métodos de diagnóstico. En el año 2002, Moonan y Mirkov detectaron el virus en una variedad de caña de azúcar no comercial en el norte del país y posteriormente, Cafrune *et al.* (2012) identificaron el genotipo BRA-PER. Sin embargo, aún se desconoce la incidencia y distribución de la enfermedad en la Argentina y específicamente en Tucumán, el mayor productor de caña de azúcar del país.

En general, la estrategia más efectiva para el control de enfermedades en caña de azúcar es el uso de variedades resistentes; pero el desconocimiento de las bases genéticas de la resistencia a SCYLV limita el progreso de los programas de mejoramiento respecto a la enfermedad (Debibakas *et al.*, 2014).

Considerando lo expuesto, se plantearon dos objetivos para esclarecer diferentes aspectos relacionados con la enfermedad del amarillamiento en la provincia de Tucumán. El primero consistió en determinar la presencia y analizar la distribución del SCYLV en el área cañera de la provincia, caracterizar el virus y establecer si existe correlación entre la presencia de este y los síntomas de la enfermedad. El segundo fue evaluar potenciales fuentes de resistencia al virus en la colección de progenitores del SMGCA de la EEAOC, empleando diferentes técnicas de diagnóstico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de material vegetal para el estudio de SCYLV en Tucumán

En 2011 se colectaron 56 muestras de hojas +1 (primera lígula visible) con y sin síntomas de amarillamiento, correspondientes a variedades comerciales, clones avanzados en etapas finales del proceso de selección y progenitores del SMGCA de la EEAOC, en 28 localidades de Tucumán. En 2012 se colectaron 90 muestras asintomáticas, que correspondían a 10 clones avanzados y cinco variedades comerciales, los cuales estaban repetidos en seis regiones agroecológicas diferentes de la provincia. De las 146 muestras totales, solo seis presentaban síntomas de amarillamiento (Tabla 1).

Todas las muestras se almacenaron a -70°C hasta el momento de ser procesadas.

Extracción de ácidos nucleicos totales y detección de SCYLV por RT-PCR

Se extrajeron los ácidos nucleicos totales empleando el protocolo descripto por Aljanabi *et al.* (1999) a partir de material molido con nitrógeno líquido de todas las muestras colectadas. La integridad y la cantidad de los ácidos nucleicos obtenidos fue evaluada mediante electroforesis en geles de agarosa y visualizados con bromuro de etidio.

Para la detección de SCYLV se utilizaron los cebadores YLS462/111 (Comstock *et al.*, 1998), que amplifican un fragmento específico del genoma de SCYLV correspondiente a la región que codifica para la proteína de la cápside (PC). Se empleó el protocolo sugerido por Bertani *et al.* (2014). El producto de RT-PCR se analizó por electroforesis en gel de agarosa al 1,5%, teñido con bromuro de etidio y visualizado bajo luz UV. El tamaño del fragmento amplificado esperado fue de 350 pares de bases (pb).

Identificación del genotipo de SCYLV

Para identificar los genotipos del virus presentes en las muestras que resultaron PCR positivas se realizó una RT-PCR con cebadores específicos para cada genotipo viral (BRA-PER, CUB y REU), de acuerdo a lo descripto por Abu Ahmad *et al.* (2006), con modificaciones (Bertani *et al.*, 2014). Los productos de amplificación se analizaron como se describió anteriormente y los tamaños esperados de los mismos para los genotipos BRA-PER, CUB y REU fueron 362, 450 y 905 pb, respectivamente.

Clonado y secuenciación de los productos de RT-PCR para los aislados de SCYLV

Se seleccionaron dos productos de RT-PCR correspondientes al gen PC del virus de muestras sintomáticas; estos fueron purificados del gel de agarosa, clonados en el vector pGEM-T Easy (Promega Corp.) de acuerdo a las instrucciones del fabricante, y transformados en células de *Escherichia coli* DH5 α . Se seleccionaron tres clones recombinantes a partir del análisis de restricción con la enzima EcoRI de cada fragmento amplificado y se secuenciaron empleando los cebadores SP6 (5'-CATAC-GATTTAGGTGACACTATAG-3') y T7 (5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3').

Para generar la secuencia parcial consenso del gen PC del SCYLV, se utilizaron las secuencias de nucleótidos obtenidas en ambas direcciones, empleando el

Tabla 1. Muestras colectadas en la provincia de Tucumán para la detección de SCYLV.

Año de colecta	Presencia/ ausencia de síntomas	Localidad	Genotipo	N° de muestras
2011	Sin síntomas	Louisiana; Ranchillos	CP 65-357 (c)	2
		El Naranjo; Louisiana; Simoca	TUCCP 77-42 (c)	3
		Los Córdoba; Santa Ana; Cruz Alta (3); Delfín Gallo (2); El Timbó; Los Ralos; Louisiana; Acherál, Alberdi, La Florida, Leales, León Rougés, Los Sarmiento; Padilla; Santa Lucía; Sargento Moyano; Taruca Pampa; Cevil Pozo; La Banda; Lules; Mercedes; San Pablo; Las Talitas; Louisiana; Bella Vista; Cevil Pozo; Fronterita (2)	LCP 85-384 (c)	31
		Santa Ana; Cevil Pozo	TUC 03-66 (cl)	2
		Santa Ana	TUC 04-33 (cl)	1
		Cevil Pozo	TUC 03-55 (cl)	4
			TUC 04-68 (cl)	
			TUC 95-37 (c)	
			TUC 97-8 (c)	
		Las Talitas	HOCP 02-625 (p)	5
	TUC 95-30 (p)			
	TUC 96-24 (p)			
TUC 99-125 (p)				
Las Talitas	TUC 99-132(p)			
Las Talitas	TUC 97-4 (p)	1		
Santa Ana	TUC 97-8 (c)	1		
Con síntomas	Las Talitas	TUC 95-30 (p)	6	
		TUC 96-24 (p)		
		TUC 99-125 (p)		
		TUC 99-132 (p)		
		TUC 95-24 (p)		
		TUC 97-4 (p)		
2012	Sin síntomas	Fronterita (15); Ingas (15); La Banda (15); Mercedes (15); Palá-Palá (15); Los Córdoba (15)	CP 65-357 (c)	90
			RA 87-3 (c)	
			TUC 95-10(c)	
			TUCCP 77-42(c)	
			LCP 85-384 (c)	
			TUC 00-28 (cl)	
			TUC 00-58 (cl)	
			TUC 02-19 (cl)	
			TUC 03-33 (cl)	
			TUC 02-35 (cl)	
			TUC 02-58 (cl)	
			TUC 02-64 (cl)	
			TUC 02-71 (cl)	
			TUC 03-1 (cl)	
TUC 03-22(cl)				

c: variedad comercial, cl: clon en las últimas etapas y p: progenitor del SMGCA de la EEAOC.

programa DNAMAN versión 5.2.2. Las secuencias fueron depositadas en la base de datos GenBank.

Las secuencias de 350 pb correspondientes a la región que codifica para la PC se alinearon y se construyó un árbol filogenético empleando el programa ClustalX, utilizando el método del vecino próximo (neighbor-joining) con 1000 réplicas. Se incluyeron ocho secuencias del gen PC disponibles en el GenBank, correspondientes a los genotipos CHN1, REU, PER, CUB, BRA e IND (Tabla 2).

Correlación entre la presencia del virus vs. síntomas

Se calculó el coeficiente phi para correlacionar la presencia o ausencia de síntomas con muestras positivas

y negativas para SCYLV detectadas por RT-PCR.

Caracterización de la Colección de Progenitores del PMGCA

Los genotipos de caña de azúcar de la colección de progenitores del PMGCA de la EEAOC se plantaron en el 2011 en la localidad de Cevil Pozo, Cruz Alta, Tucumán. La colección cuenta con 155 clones, cada uno representado en un surco de 3 m. Para intensificar el muestreo de cada clon, se colectó una hoja +1 por cada planta ubicada dentro de los 3 m correspondientes a cada genotipo, por lo que cada muestra quedó constituida por seis hojas.

El muestreo se realizó a partir del año 2013 y la

Tabla 2. Secuencias parciales del gen que codifica para la proteína de la cápside del Sugarcane yellow leaf virus, empleadas en el análisis filogenético.

Aislado	Origen del cultivar	Varietal	Nº acceso del GenBank	Grupo genotípico del SCYLV
A	EEUU	CP65-357	AF157029	BRA
PER-YL1	Perú	H50-7209	AM072752	PER
SCYLV-N6	Argentina	Q136	AF369926	-
REU-YL1a	Isla Reunión	R570	AM072754	REU
REU-YL2	Isla Reunión	R490	AM072756	REU
Chn1	China	CP93-1309	GU327735	CHN1
TN-IND-1	India	Co86010	FJ430663	IND
CB86010	India	Co86010	EF635941	CUB

cantidad de muestras colectadas fue diferente en los años evaluados debido a la ocurrencia de fallas en campo: 154 muestras en 2013; 137 muestras en 2015; 142 muestras en 2016 y 157 muestras en 2017.

Para la detección del SCYLV se emplearon técnicas moleculares y serológicas.

A las muestras colectadas en 2013 se les realizó el diagnóstico molecular con el par de cebadores SCYLVf1/r1, según se describe en Girard *et al.* (2012), con algunas modificaciones. Se consideró como una muestra el pool de hojas correspondiente a cada clon.

Para comparar la sensibilidad de RT-PCR entre los pares de cebadores SCYLVf1/r1 e YLV111/462, las muestras de 2013 que resultaron positivas y 20 muestras negativas seleccionadas al azar fueron analizadas con el par YLV111/462. Los productos de amplificación se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1,5%. El tamaño de banda esperado fue de 219 pb y 350 pb para los cebadores SCYLVf1/r1 y YLS111/462, respectivamente.

Debido a que el diagnóstico molecular es más costoso e insueme mayor tiempo que el serológico para analizar un elevado número de muestras, las muestras colectadas en 2015, 2016 y 2017 fueron evaluadas mediante Tissue Blot Immunoassay (TBIA), empleando un protocolo previamente optimizado por Bertani (2016). En este caso, la nervadura de cada hoja fue impresa en una membrana de nitrocelulosa de 0,2 µm; luego de revelar las membranas, los resultados para cada muestra se expresaron como porcentaje de incidencia (número de nervaduras positivas / número total de nervaduras de la muestra * 100).

Además, para comparar la sensibilidad de las técnicas serológica y molecular, se seleccionaron cinco clones del 2015 que resultaron positivos y cinco negativos por TBIA y se realizó el diagnóstico por RT-PCR con el par SCYLVf1/r1, según se mencionó anteriormente.

RESULTADOS y DISCUSIÓN

Detección y distribución de SCYLV en Tucumán

Se detectó el SCYLV mediante RT-PCR en 26 de las 146 muestras colectadas entre 2011 y 2012, lo que representa casi el 18%. En relación a la distribución, el virus fue detectado en cinco de las seis localidades donde el

SMGCA tiene sus ensayos en la provincia de Tucumán. El 66% de las muestras positivas para SCYLV correspondieron a variedades comerciales. Estos resultados ponen de manifiesto que el virus se encuentra más disperso de lo esperado de acuerdo a los síntomas observados en campo, donde las plantas sintomáticas representaron solo un 6,16% del total de las muestras colectadas.

Caracterización del SCYLV en Tucumán

El único genotipo viral detectado en las 26 muestras PCR positivas fue BRA-PER, indicando su prevalencia en los materiales evaluados. Este resultado concuerda con lo que sucede en otras partes del mundo, ya que el genotipo BRA-PER se encuentra ampliamente distribuido en diferentes localidades de África, Asia y América (Abu Ahmad *et al.*, 2006). Probablemente el intercambio de material con los programas de mejoramiento de USA, donde también predomina el genotipo BRA-PER, permitió la dispersión del mismo en nuestro cañaveral, considerando que la incorporación del diagnóstico molecular de este virus en materiales en cuarentena es relativamente reciente (Bertani *et al.*, 2014).

Para determinar la diversidad genética entre los aislados del virus, dos fragmentos correspondientes al gen PC se purificaron, clonaron y secuenciaron (Tabla 3). El análisis filogenético mostró que las dos secuencias agruparon juntas con los genotipos BRA y PER, según lo esperado (Figura 1). Ambas secuencias se depositaron en el GenBank. El aislado KC618404 de la localidad de Fronterita, Tucumán, mostró un 100% de identidad con la secuencia AF157029 de Florida, EE.UU. A pesar de que la secuencia del gen PC es considerada inapropiada para realizar estudios de diversidad, ya que se encuentra muy conservada (Chinnaraja *et al.*, 2013), las diferencias encontradas en este trabajo en las secuencias de este gen permitieron agrupar y distinguir los aislados.

Tabla 3. Muestras de hojas sintomáticas, positivas para el Sugarcane yellow leaf virus por RT-PCR y las secuencias caracterizadas en este estudio.

Genotipo de caña de azúcar	Localidad de la provincia de Tucumán	Nº acceso del GenBank	Síntoma
LCP 85-384	Las Talitas	KC618406	Amarillamiento de la nervadura central
TUC 89-28	Fronterita	KC618404	

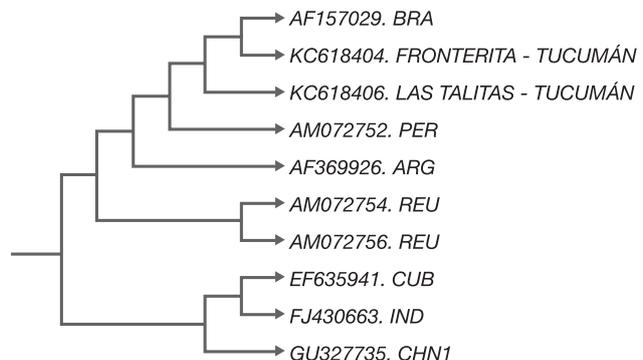


Figura 1. Árbol filogenético del Sugarcane yellow leaf virus basado en la secuencia de nucleótidos del gen de la proteína de la cápside.

Correlación entre síntomas de amarillamiento vs presencia del virus

Respecto a la correlación de la presencia del virus con la sintomatología observada, el SCYLV se detectó en dos de seis muestras (33,3%), que presentaron un amarillamiento intenso de la nervadura central de la hoja y en 24 de las 140 plantas asintomáticas evaluadas (17,14%). Por otro lado, considerando que el virus fue detectado en 26 muestras, de las 120 muestras PCR negativas, cuatro (3,33%) presentaban síntomas de amarillamiento en la nervadura central de las hojas. Se encontró una correlación significativa, directamente proporcional, aunque baja ($r(\phi) = 0,08$; $P \leq 0,05$), entre la presencia de SCYLV y el síntoma característico de la enfermedad.

Algunos estudios demostraron una relación clara en campos comerciales en Hawaii (Lehrer and Komor, 2008), mientras que otros estudios obtuvieron un coeficiente de correlación no significativo (Aljanabi *et al.*, 2001; Smith *et al.*, 2001).

Caracterización del comportamiento de progenitores de caña de azúcar

En la Tabla 4 se resumen los resultados del comportamiento de los progenitores de caña de azúcar. El SCYLV se detectó mediante RT-PCR con el par SCYLVf1/r1 en el 37% de las 154 muestras colectadas en 2013. El 36% de las muestras asintomáticas resultaron positivas para el virus por RT-PCR. En cambio, el 54% de las muestras sintomáticas mostraron la presencia del SCYLV.

Para comparar la sensibilidad de RT-PCR entre los pares de cebadores SCYLVf1/r1 e YLV111/462, las muestras que resultaron positivas y 20 muestras negativas seleccionadas al azar del 2013 fueron analizadas con el par YLV111/462. De las muestras positivas, solo el 60% amplificó también con el par YLS462/111. Las 20 muestras negativas seleccionadas no amplificaron con ninguno de los pares de cebadores. A partir de los resultados podría sugerirse que el par SCYLVf1/r1 tiene una mayor sensibilidad respecto al par YLS111/462.

En relación a las evaluaciones de las muestras del 2015, el análisis con TBIA mostró que el 25% de las muestras colectadas resultaron positivas para el virus, con valores de incidencia por muestra entre el 20% y el 100%. El 33% de las muestras sintomáticas fueron negativas para

el virus; además, el 23% de las muestras asintomáticas mostró la presencia del virus.

En cuanto a las muestras de 2016, solo el 1,4% de los genotipos evaluados por TBIA fue positivo para el virus, con valores de incidencia por muestra entre el 33% y el 40%. Por otro lado, en 2017 se detectó el SCYLV en el 5% de los genotipos ensayados, con valores de incidencia por muestra entre un 20% y 80%.

Finalmente, considerando todos los años de evaluación, el 75% de los genotipos evaluados resultó del virus durante 2013, 2015, 2016 y 2017, lo que podría indicar la existencia de potenciales fuentes de resistencia en la colección de progenitores del SMGCA de la EEAOC.

Por otro lado, a fin de comparar la sensibilidad de las técnicas serológica y molecular, se seleccionaron cinco muestras del 2015 que resultaron positivas y cinco negativas por TBIA y se realizó el diagnóstico por RT-PCR con el par SCYLVf1/r1. Las 10 muestras resultaron positivas, lo que indicaría que el diagnóstico molecular fue más sensible que TBIA.

CONCLUSIONES

El SCYLV está distribuido en la provincia de Tucumán y presente en variedades comerciales; a pesar de que existe una correlación baja entre la presencia de síntomas y del virus, esta es positiva y significativa.

El único genotipo viral detectado fue BRA-PER, el de mayor distribución en el mundo.

La técnica de diagnóstico molecular (RT-PCR) resultaría más sensible cuando se emplea el par de cebadores SCYLVf1/r1 que los cebadores YLS111/462 y, a la vez, la RT-PCR sería más sensible que la metodología serológica TBIA. Aunque el primero es más costoso e insume mayor tiempo para analizar un elevado número de muestras, la elección de la técnica de diagnóstico más apropiada depende de diversos factores, entre ellos el número de muestras, la sensibilidad, el costo y el tiempo.

Los resultados preliminares indicarían la existencia de fuentes potenciales de resistencia al SCYLV en la colección de progenitores de la EEAOC. A pesar de que se requieren estudios adicionales, los resultados serán de utilidad para el manejo de la enfermedad del amarillamiento de la hoja mediante el empleo de variedades resistentes.

Tabla 4. Detección del Sugarcane yellow leaf virus (SCYLV) en la Colección de progenitores del SMGCA de la EEAOC.

Año	N° total de muestras	Método de detección	N° de muestras	SCYLV (+)*
2013	154	RT-PCR (SCYLVf1/r1)	11 sintomáticas	6
			143 asintomáticas	51
	57 positivas y 20 negativas con SCYLVf1/r1	RT-PCR (YLS462/111)	6 sintomáticas ^(a)	5
			51 asintomáticas ^(a)	29
			5 sintomáticas ^(b)	5
2015	137	TBIA	3 sintomáticas	2
			134 asintomáticas	32
	5 muestras positivas y 5 muestras negativas por TBIA	RT-PCR (SCYLVf1/r1)	10 asintomáticas	10
2016	142	TBIA	142 asintomáticas	2
2017	157	TBIA	157 asintomáticas	8

Muestras positivas ^(a) o negativas ^(b) para SCYLV mediante RT-PCR con los cebadores SCYLVf1/r1; *: muestras positivas para SCYLV.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Abu Ahmad, Y.; L. Rassaby; M. Royer; Z. Borg; K. S. Braithwaite; T. E. Mirkov; M. S. Irej; X. Perrier; G. R. Smith and P. Rott. 2006.** Yellow leaf of sugarcane is caused by at least three different genotypes of *Sugarcane yellow leaf virus*, one of which predominates on the Island of Réunion. Arch. Virol. 151: 1355-1371.
- Aljanabi, S. M.; L. Forget and A. Dookun. 1999.** An improved and rapid protocol for the isolation of polysaccharide and polyphenol-free sugarcane DNA. Plant Mol. Biol. Rep. 17:1-8.
- Aljanabi, S. M.; Y. Parmessur; Y. Moutia; S. Saumtally and A. Dookun. 2001.** Further evidence of the association of a phytoplasma and a virus with yellow leaf syndrome in sugarcane. Plant Pathol. 50: 628-636.
- Bertani, R. P. 2016.** Biotecnología orientada a mejorar la sostenibilidad del manejo fitosanitario de tres enfermedades del cultivo de la caña de azúcar en Tucumán, Argentina. Tesis doctoral inédita. Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina.
- Bertani, R. P.; M. F. Perera; M. E. Arias; C. Luque; C. Funes; V. González; M. I. Cuenya; L. D. Ploper; B. Welin and A. P. Castagnaro. 2014.** A study of the sugarcane yellow leaf disease in Argentina. Plant Dis. 98: 1036-1042.
- Cafrune, E. E.; S. Pérez Gómez; V. C. Conci y A. Rago. 2012.** Identificación de Sugarcane yellow leaf virus afectando caña de azúcar en Argentina. Libro de resumen Reu. Téc. Nac. de la Caña de azúcar, 18, Tucumán, pp. 69-72.
- Chinnaraja, C.; R. Viswanathan; R. Karuppaiah; K. Bagyalakshmi; P. Malathi and B. Parameswari. 2013.** Complete genome characterization of Sugarcane yellow leaf virus from India: evidence for RNA recombination. Eur. J. Plant Pathol. 135: 335-349.
- Comstock, J. C.; M. S. Irej; B. E. L. Lockhart and Z. K. Wang. 1998.** Incidence of yellow leaf syndrome in CP cultivars based on polymerase chain reaction and serological techniques. Sugar Cane 4:21-24.
- Debibakas, S., S. Rocher; O. Garsmeur; L. Toubi; D. Roques; A. D'Hont; J. Y. Hoarau and J. H. Daugrois. 2014.** Prospecting sugarcane resistance to *Sugarcane yellow leaf virus* by genome wide association. Theoretical and Applied Genetics 127:1719-1732.
- ElSayed, A. I.; A. R. Weig and E. Komor. 2011.** Molecular characterization of *Hawaiian Sugarcane yellow virus* leaf genotypes and their phylogenetic relationship to strains from other sugarcane-growing countries. Eur. J. Plant Pathol. 129: 399-412.
- Gao, S. J.; Y. H. Lin; Y. B. Pan; M. B. Damaj; Q. N. Wang; T. E. Mirkov and R. K. Chen. 2012.** Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Sugarcane yellow leaf virus* isolates from China. Virus Genes 45: 340-349.
- Girard, J. C.; E. Fernandez; J. H. Daugrois; D. Roques; P. Roumagnac and P. Rott. 2012.** Genetic diversity of *Sugarcane yellow leaf virus* in a sugarcane selection plot in Guadeloupe (FWI). International Sugar Journal 114: 96-100.
- Joomun, N. and A. Dookun-Saumtally. 2019.** Molecular characterization of *Sugarcane yellow leaf virus* from Mauritius. Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists 30: 1364-1372.
- Lehrer, A. T. and E. Komor. 2008.** Symptom expression of yellow leaf disease in sugarcane cultivars with different degrees of infection by Sugarcane yellow leaf virus. Plant Pathol. 57: 178-189.
- Lin, Y.; S. Gao; M. B. Damaj; H. Fu; R. Chen and T. E. Mirkov. 2014.** Genome characterization of *sugarcane yellow leaf virus* from China reveals a novel recombinant genotype. Archives of Virology 159 (6): 1421-1429.
- Lockhart, B. E. L. and C. P. R. Cronjé. 2000.** Yellow leaf syndrome. En: Rott, P.; R. A. Bailey; J. C. Comstock; B. J. Croft and A. S. Saumtally (eds.), A guide to sugarcane diseases, La Librairie du Cirad, Montpellier, France, pp. 291-295.
- Moonan, F. and T. E. Mirkov. 2002.** Analyses of the genotypic diversity among North, South, and Central American isolates of *Sugarcane yellow leaf virus*: evidence for Colombian origins and for intraspecific spatial phylogenetic variation. J. Virol. 76: 1339-1348.
- Ramallo, J. and L. D. Ploper. 1998.** ¿Síntomas de amarillamiento en cañaverales de Tucumán? Avance Agroindustrial 72:16-18.
- Rassaby, L.; J. C. Girard; P. Letourmy; J. Chaume; M. S. Irej; B. E. L. Lockhart; H. Kodja and P. Rott. 2003.** Impact of *Sugarcane yellow leaf virus* on sugarcane yield and juice quality in Réunion Island. Eur. J. Plant Pathol. 109: 459-466.
- Rott, P.; T. E. Mirkov; S. Schenck and J. C. Girard. 2008.** Recent advances in research on *Sugarcane yellow leaf virus*, the causal agent of sugarcane yellow leaf. Sugar Cane International 26:18-27.
- Scagliusi, S. M. and B. E. L. Lockhart. 2000.** Transmission, characterization, and serology of a luteovirus associated with yellow leaf syndrome of sugarcane. Phytopathol. 90: 120-124.
- Schenck, S.; J. S. Hu and B. E. L. Lockhart. 1997.** Use of a tissue blot immunoassay to determine the distribution of Sugarcane yellow leaf virus in Hawaii. Sugar Cane 4: 5-8.

Smith, G. R.; K. S. Braithwaite and C. P. R. Cronjé. 2001. The viral and phytoplasma forms of yellow leaf syndrome of sugarcane. En: Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol. Congress, 24, Brisbane, Queensland, pp.614-617.

Wang, M. Q. and G. H. Zhou. 2010. A near complete genome sequence of a distinct isolate of Sugarcane

yellow leaf virus from China, representing a sixth new genotype. *Virus Genes* 41:268-272.

Wang, M. Q.; D. L. Xu; R. Li and G. H. Zhou. 2012. Genotype identification and genetic diversity of *Sugarcane yellow leaf virus* in China. *Plant Pathol.* 61: 986-993.